

ELISA SIALINO MÜLLER

**BALANÇOS ELETROLÍTICOS DA RAÇÃO SOBRE CARACTERÍSTICAS
ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

ELISA SIALINO MÜLLER

**BALANÇOS ELETROLÍTICOS DA RAÇÃO SOBRE CARACTERÍSTICAS
ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 17 de dezembro de 2010

Prof. Flávio Medeiros Vieites
(Co-Orientador)

Prof^a. Virgínia Ramos Pizziolo

Prof^a. Ana Cláudia Peres Rodrigues

Prof. Anderson de Almeida Barbosa

Prof. George Henrique Kling de Moraes
(Orientador)

**"Volta teu rosto sempre na direção do sol e então as
sombras ficarão para trás."**

(Sabedoria oriental)

BIOGRAFIA

Elisa Sialino Müller, filha de Antística Sialino Müller e Roberto Andrea Müller, nascida em 29 de maio de 1977 na cidade de São Paulo, SP.

Em fevereiro de 1998 iniciou o curso de Ciência e Tecnologia de Laticínios na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, colando grau em maio de 2002.

Em março de 2005 iniciou o curso de pós-graduação de Bioquímica Agrícola, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, concluindo em 2006.

Em outubro de 2006 iniciou o curso de pós-graduação de Bioquímica Agrícola, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se a defesa de tese no dia 17 de dezembro de 2010.

AGRADECIMENTOS

Foi um projeto de pesquisa acompanhado de um projeto de vida, pois, as amizades conquistadas nessa jornada são eternas. Mesmo que o tempo nos afaste geograficamente e que fiquemos longos tempos sem nos comunicar, a lembrança, a saudade e a vontade de reencontrar estarão sempre presentes em meu coração!

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular por terem me aceitado como estudante de pós-graduação. Também agradeço à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES por ter fornecido bolsa de estudos nesse período, permitindo que me dedicasse plenamente aos estudos. À Universidade Federal do Mato Grosso, em nome do Prof. Flávio Vieites, pela imensa colaboração. Aos Laboratórios de Celulose e Papel e de Enzimologia por permitirem realizações de análises.

Agradeço ao prof. George H.K. de Moraes por me orientar nesses quatro anos, estando sempre presente, inclusive nos finais de semana, feriados e férias. Obrigada professor!

Agradeço à minha família por me apoiar em quase todos os *perrengues* que tivemos que enfrentar!

Agradeço à minha filha, amor da minha vida, que em todos os momentos me mostra e me ensina qual é o principal objetivo da minha vida.

Agradeço ao Róger, meu companheiro, meu amigo, meu amor!

Agradeço à turma do Laboratório de Bioquímica Animal que na verdade tornou-se minha família, pois, a amizade inicial se transformou em amor fraternal. Obrigada pessoal!

Anderson - AAB!

Jefferson e Catarina Dias!

Patrícia, Breno e Sófis Vieira!

Rita e Marco Oliveira!

Solange Bigonha!

Ana E. Marques!

Gilson Paixão!

Igor Monteze!
Sônia Machado!
Virgínia Pizziolo!
Marilene Bevitori!
Edu Monteiro “Lobato”!
Priscila Ferreira!
Núbia Oliveira!
Cíntia Lírio!
Geraldo Dias!
Régis Cardoso!
Ritinha Cornélio!
Gilson “Tererê”!

Tenho medo de escrever nomes e de esquecer alguém, não por não ser importante, mas simplesmente porque (quem me conhece, sabe) minha memória às vezes falha. Mas estão todos em meu coração!

Na verdade tenho apenas que agradecer a Deus por ter permitido conviver com tantas pessoas maravilhosas.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Tecido ósseo	5
2.2. Minerais	8
2.2.1. Cálcio e fósforo	8
2.2.2. Magnésio, potássio, sódio e cloro	11
2.3. Desordens locomotoras	14
2.4. Discondroplasia tibial	16
2.5. Deformidade rotacional óssea e deformidade angular	17
2.6. Raquitismo	18
2.7. Propriedades físicas e biomecânicas do osso	18
2.8. Balanço eletrolítico	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1. Animais e rações	28
3.2. Aspectos mecânicos e geométricos	31
3.3. Aspectos químicos	35
3.4. Aspectos Bioquímicos	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. Aspectos físicos	37
4.2. Aspectos químicos	43
4.3. Proteínas colagenosas e não colagenosa	59
4.4. Parâmetros biomecânicos e geométricos	62
5. CONCLUSÕES	69
6. BIBLIOGRAFIAS	70

RESUMO

MÜLLER, Elisa Sialino, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2010.

Balanços eletrolíticos da ração sobre características ósseas de frangos de corte. Orientador: George Henrique Kling de Moraes. Coorientadores: Flávio Vieites Medeiros, José Humberto de Queiroz, Sebastião Tavares Rezende, Conrado de Souza Rodrigues.

Objetivou-se avaliar a qualidade óssea de fêmures frangos de corte submetidos a dietas com diferentes balanços eletrolíticos. O trabalho foi realizado em dois experimentos. No primeiro experimento foram utilizados 936 pintinhos da marca comercial Cobb, machos, alimentados com rações à base de milho e farelo de soja. Foi utilizado delineamento em blocos ao acaso, com seis tratamentos, seis repetições e 26 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram na suplementação da ração basal com NH_4Cl a fim de se obter os cinco níveis (-50; 0; 50; 100 e 150 mEq/kg) de balanço eletrolítico (BE). No segundo experimento foram utilizados 720 pintinhos da marca comercial Cobb, machos, alimentados com rações à base de milho e farelo de soja. Utilizou-se delineamento em blocos ao acaso, com cinco tratamentos seis repetições e 24 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram na suplementação da ração basal com K_2CO_3 e NaHCO_3 a fim de se obter cinco níveis (200; 250; 300; 350 e 400 mEq/kg) BE. Aos sete, 14, 21 e 42 dias de idade foi sacrificada uma ave de cada box e fêmures removidos. Foram determinados os teores de proteínas colagenosas, proteínas não colagenosas, elementos químicos (cálcio, fósforo, magnésio, potássio e sódio) e teor de cinzas e aspectos mecânicos e geométricos dos fêmures. A variação do BE de -50 a 200 mEq/kg interferiu ($P < 0,05$) nos parâmetros peso do osso seco e desengordurado e área da seção transversal aos sete dias, sendo que o BE de 200mEq/kg apresentou maior valor em relação aos tratamentos. Também aos sete dias, os tratamentos com variação aniônica para a %Ca e %P o nível de 150 mEq/kg não diferiu do tratamento de 200 mEq/kg sendo maior que os outros tratamentos ($P < 0,05$) e para o teor de Mg o BE 200 mEq/kg apresentou maior resultado ($P < 0,05$). Na relação Ca:P, os tratamentos de 0 e 50 mEq/kg apresentaram maiores valores em relação aos outros tratamentos ($P < 0,05$) e o tratamento de 200 mEq/kg apresentou o menor teor de cinzas ($P < 0,05$). Na

idade de 42 dias, na variação do BE de -50 a 200 mEq/kg o tratamento de 200 mEq/kg apresentou o menor teor de Ca ($P<0,05$) e, na relação Ca:P o tratamento de 150 mEq/kg foi igual ao tratamento de 200 mEq/kg apresentando menores valores em relação aos outros tratamentos ($P<0,05$). Para os teores de proteínas colagenosas com BE de -50 a 200 mEq/kg aos 21 dias os níveis de 150 e 200 mEq/kg foram iguais, sendo menores que os outros tratamentos ($P<0,05$). Para os parâmetros biomecânicos na idade de sete dias com BE de -50 a 200 mEq/kg, o tratamento de 200 mEq/kg apresentou o maior valor de força máxima na flexão em relação aos tratamentos ($P<0,05$). Na variação aniônica aos 21 dias, a tenacidade na flexão no BE de 50 mEq/kg apresentou valor maior ($P<0,05$). A idade de sete dias mostrou-se mais sensível às variações do balanço eletrolítico em níveis inferiores ao controle, devendo-se ter mais cautela ao estabelecer dietas aniônicas para fase inicial a fim de minimizar possíveis problemas de deformações ósseas nas aves. Os animais aos 14, 21 e 42 dias de idade no experimento um e de todas as idades no experimento dois foram menos afetados pelos níveis de BE testados. Isto permite inferir que os níveis ideais de BE compreendem uma faixa e não um valor específico para essas idades. No entanto, para animais aos sete dias é mais seguro utilizar o BE de 200 mEq/kg.

ABSTRACT

MÜLLER, Elisa Sialino, D.Sc., Federal University of Viçosa, December, 2010. **Dietary electrolite balance and broiler chicks bone characterisitics**. Adviser: George Henrique Kling de Moraes. Co-advisers: Flávio Vieites Medeiros, José Humberto de Queiroz, Sebastião Tavares Rezende and Conrado de Souza Rodrigues.

The aim of this study was to evaluate femur quality of broiler chicks fed different dietary electrolite balance (EB). Two experiments were conducted. In the first, 936 day old chicks, male, Cobb, were used and fed with corn and soybean meal rations. The experimental design was randomized blocks with six treatments, six replicates with 26 chicks per experimental unit. The dietary treatments were obtained by the addition of NH_4Cl to the basic ration in order to have five EB levels (-50; 0; 50; 100 and 150 mEq/kg). In the second experiment, 720 day old chicks, male, Cobb, were used and fed with basal ration with adition of K_2CO_3 and NaHCO_3 to obtain five EB levels (200; 250; 300; 350 e 400 mEq/kg). The experimental design was in randomized blocks with five dietary treatments, six replicates and 24 chicks per experimental unit. At seven, 14, 21 and 42 days of age one chick from each box was sacrificed and both femurs were removed. The levels of collagenous (CP) and non-collagenous proteins (NCP), ash and ash minerals (Ca, P, Mg, K and Na) were determined. Also some geometrical and mechanics aspects were studied. Chicks, at seven days of age fed 200 mEq/kg of EB had femurs with the highest weight of fat-free dried bone and transversal section area ($P < 0.05$). Also, in the same age, Ca and P contents were similar ($P > 0.05$) in femurs of chicks fed 150 mEq/kg and 200 mEq/kg of EB and they were higher than those from chicks fed the other EB levels ($P < 0.05$). Mg content were higher in chicks femur fed 200 mEq/kg of EB that the other levels ($P < 0.05$). The highest Ca:P ratios were observed in femur from chicks fed 0 and 50 mEq/kg and the lowest ash content was oberved in chicks femur fed 200 mEq/kg of EB ($P < 0.05$). Feeding the chicks with 200 mEq/kg of EB resulted in femurs with the lowest Ca content at 42 days of age ($P < 0.05$). Also in this age, femur Ca:P ratios were similar in chicks fed 150 mEq/kg and 200 mEq/kg of EB and these results were higher than those observed with chcikis fed the others EB levels ($P < 0.05$). Femur CP contents were similar ($P > 0.05$) in chicks with 21 days of age and fed 150 and

200 mEq/kg of EB and higher than the others treatments ($P<0.05$). Femur chicks fed 200 mEq/kg of EB with seven days of age had the highest bending strength value in the flexion ($P<0.05$). Femur chicks fed 50 mEq/kg of EB with 21 days of age had the highest modulus of elasticity ($P<0.05$). Chicks at seven days of age were more sensible by dietary EB variation than those older. The animals at 14, 21 and 42 days old in experiment 1 and in all ages of experiment 2 were less affected by EB levels tested. Then, its possible to infer that the optimal levels of EB include a range and not a specific value for these ages. However, for animals at seven days is safest to use 200 mEq/kg of EB.

1. INTRODUÇÃO

O setor avícola brasileiro tem se destacado cada vez mais no cenário nacional e internacional dentre as modalidades de produção animal. É caracterizado pela excelente eficiência produtiva, principalmente devido ao advento de novas tecnologias, incrementando os avanços nos aspectos genéticos, sanitários e nutricionais (Nunes, 2008). O Brasil é, hoje, o terceiro maior produtor e líder mundial nas exportações de carne de frango. Em 2010 prevê-se produção de 11,420 milhões de toneladas, ficando atrás dos Estados Unidos e China, que apresentaram produção de 16,222 e 12,500 milhões de toneladas, respectivamente (União Brasileira de Avicultura - UBA, 2009). De acordo com a UBA, a avicultura brasileira representa hoje 1,5% do PIB, gerando 4,8 milhões de empregos diretos e indiretos. Do total da carne de frango produzida, 70% são destinadas ao mercado doméstico e os 30% restantes são exportados para cerca de 150 países. O Brasil ficou, em 2009, como quarto maior consumidor do produto com 11% do total mundial, ficando atrás apenas dos USA, China e União Européia. Para se ter uma idéia do aumento da importância do segmento avícola, em 1989 o Brasil tinha um consumo de 12,4 kg carne de frango, 33,8 kg de carne bovina e 6,6 de carne suína. Em 2009 o consumo foi de 38,1 kg/habitante para frangos, 37,4 kg para bovinos e 13,4 kg para suínos, correspondendo a um aumento de 207,26%, 12,72% e 103,03%, respectivamente. (UBA, 2009).

A seleção genética para maximizar a eficiência produtiva dos frangos de corte, tem melhorado o desempenho zootécnico dessas aves a tal nível que não se compara a nenhuma outra fonte de proteína animal. Essa seleção tem atingido sucessivos aumentos anuais na produção desde a década de 30, resultando em crescente ganho de peso corporal e eficiência alimentar. Em 1930 o frango de corte tinha peso médio de 1,5 kg com conversão alimentar de 3,5 e levava 15 semanas para ser abatido. Em 2009 o peso médio de abate era de 2,440 kg, com conversão alimentar de 1,76 em apenas 41 dias (UBA 2010 - projeção). Contudo, na década de 80 ficou evidente que alguns dos sistemas de suporte como o cardiovascular e o esqueleto não acompanharam o aumento da massa muscular, aumentando a suscetibilidade ao comprometimento ou a falência desses sistemas (Dibner et al., 2007). Porém, a

locomoção é parte central das atividades vitais que levam saúde e bem estar às aves, e a rigor, não deveriam ser prejudicadas pelas disfunções estruturais com conseqüente desconforto e dor.

Normalmente em animais de crescimento lento ou linhagens não melhoradas para ganho de peso há um perfeito sincronismo de crescimento de cada sistema, priorizando-se o maior desenvolvimento de um ou outro tecido em uma determinada fase, de tal modo que o desenvolvimento do animal, como um todo, atinja a sua maturidade física. Entretanto, para as linhagens modernas de frangos de corte, e principalmente os machos, a taxa de crescimento do tecido muscular é extremamente elevada, iniciando-se em uma fase muito precoce pós-eclosão sobre um suporte esquelético muito imaturo (Gonzales & Mendonça Júnior, 2006). Esta sobrecarga de peso precoce em ossos imaturos tem aumentado a incidência de disfunções locomotoras, acarretando prejuízos para a indústria avícola. Talaty et al. (2009) relataram que 1,1% da mortalidade nas granjas foram devido aos problemas de pernas, e 2,1% dos frangos de corte que chegaram ao abate foram depreciados ou condenados por causa das desordens locomotoras.

Além da taxa de crescimento, alguns fatores como, idade (Yalçin et al., 2001), cruzamentos comerciais, nutrição (Edwards Jr., 2000; Borgatti et al., 2009) e temperatura ambiente (Bruno et al., 2007), têm sido associados às diferenças na qualidade do osso. Estes fatores podem estar associados a uma sobrecarga de peso sobre os ossos imaturos predispondo às deformidades ósseas. Estas deformidades ósseas de frangos de corte são divididas em duas categorias de problemas mais gerais: a discondroplasia tibial, que acomete os frangos na fase inicial do crescimento, e está associada a fatores genéticos, e os problemas estruturais, que levam as deformidades e distorções dos ossos longos, sobretudo na fase final de crescimento (Lilburn, 1994), estando associados a fatores nutricionais (Borgatti et al., 2009) e ambientais (BRUNO et al., 2007).

Alguns estudos têm comprovado que o balanço eletrolítico (BE) da dieta afeta o crescimento e a eficiência alimentar das aves (Karunajeewa et al., 1986; Simons et al., 1987; Karunajeewa & Barr, 1988). Os metabolismos protéico, energético e mineral e regulação ácido-base são processos interrelacionados que influenciam o desempenho das aves (Patience, 1990). A

manutenção do equilíbrio ácido-base é essencial para os processos fisiológicos e bioquímicos (Souza et al., 2002), pois pequenas alterações no pH sanguíneo podem afetar processos metabólicos relacionados ao crescimento, à resistência a doenças, à sobrevivência ao estresse pelo calor (Murakami, 2000; Monteiro et al., 2006). Mongin (1980) enfatizou a importância de ajustar o conteúdo de minerais da dieta para encontrar a exigência do animal e manter o balanço essencial para ótimo desempenho, porque, quando o balanço se altera para acidose ou alcalose, as vias metabólicas não funcionam apropriadamente. Dentro das formas de expressar este balanço eletrolítico, as proporções de sódio (Na^+), cloro (Cl^-) e potássio (K^+) na dieta têm sido consideradas as variáveis mais importantes (TEETER, 1997; OVIEDO-RONDÓN et al., 2000; MONGIN, 1981).

Halley et al. (1986), verificando a influência do balanço eletrolítico sobre o crescimento e a incidência de problemas de pernas em frangos de corte afirmaram que a manipulação de cátions e ânions da dieta pode aumentar ou diminuir a incidência de discondroplasia tibial (DT). Isto indica o efeito da manipulação no conteúdo de eletrólitos da dieta, sobre a capacidade tampão do sangue, o que pode afetar funções do organismo tais como a mineralização do osso.

Distúrbios ácido-básicos crônicos afetam o metabolismo ósseo (Litzow & Lennon, 1966, citado por PATIENCE, 1990). Existe evidência que a acidose metabólica produzida por altos níveis de cloro pode reduzir a formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que é essencial para normal mineralização óssea (Mongin & Sauveur, 1977). Condições ambientais, como altas temperaturas, podem afetar o BE. Frangos de corte criados em condições de alta temperatura, apresentaram reduzida excreção urinária de Cl^- e alta excreção de K^+ , Na^+ , P^{2-} , SO_4^{2-} , Mg^{+2} , Ca^{+2} e Mn^{+2} quando comparado com frangos criados a 24°C (TEETER & BELAY, 1995, citado por MURAKAMI, 2000).

A tíbia tem sido usada como modelo ósseo para avaliação das disfunções metabólicas, porém, a seqüência na maturação óssea está de acordo com a teoria clássica do crescimento centrípeto, o que sugere que existe um gradiente de crescimento distal para proximal nos membros. Os ossos que estão mais distais do corpo amadurecem primeiro (Kwakkel et al., 1998). Portanto, torna-se importante a avaliação também do fêmur, pois a velocidade

de mineralização e outros aspectos de desenvolvimento do fêmur ocorrem mais lentamente que na tíbia, pois este está mais próximo do corpo (Kwakkel et al., 1998). Assim, o fêmur pode ser o principal elo entre o rápido ganho de peso e os problemas de pernas em frangos (LILBURN, 1994; BARBOSA et al., 2010).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Tecido ósseo

O osso é um tecido multifuncional, metabolicamente muito ativo, constituído de uma população heterogênea de células, em diferentes estágios de diferenciação, que, através de coordenada seqüência de eventos, regula a mobilização e a deposição mineral durante a vida do animal (Pizauro Júnior, 2002). Está intimamente relacionado com o crescimento do animal, sofrendo adaptações constantes, podendo estar hipertrofiado quando é mais exigido, ou atrofiado quando em desuso (Biewener & Bertram, 1994). Desempenha importantes funções como suporte estrutural para o corpo, proteção mecânica de tecidos e órgãos, atuação como sistema de alavancas que através das contrações musculares gera movimentos úteis, e alojamento da medula óssea (Seifert & Wartkins, 1997). Serve de reservatório de cálcio (Ca) e fósforo (P) os quais podem ser mobilizados durante variações da homeostase. Além disso, o seu crescimento e desenvolvimento estão intimamente associados com o crescimento e desenvolvimento do resto do corpo (PIZAURO JÚNIOR, 2002).

O tecido ósseo, assim como também o tecido cartilaginoso, é um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e material extracelular calcificado com consistência mais rígida, denominado matriz óssea.

Baseado na organização estrutural, o osso pode ser classificado em lamelar e esponjoso. Na sua forma madura o osso é constituído de cortical e medular. O osso lamelar é bem estruturado com as fibras de colágeno agregadas de forma bastante ordenada, sendo depositado de forma lenta, enquanto que o osso esponjoso é depositado de forma rápida durante o processo de calcificação intramembranosa ou cicatrização de fraturas e distingui-se do osso lamelar por ser empacotado de forma mais frouxa, com as fibras colagenosas menos organizadas, baixa densidade mineral, e elevado conteúdo de água (Gorski, 1998). Ossos chatos, tais como ossos do cérebro, costelas e extremidades metafisárias dos ossos longos tem grande quantidade de ossos esponjosos. Quando comparado com o osso cortical, o osso esponjoso é menos calcificado, possui grande papel na atividade metabólica, e sofre contínuo remodelamento.

O colágeno é o maior constituinte da matriz orgânica, contribuindo para a força tensional do osso e fornecendo suporte e orientação para a matriz mineral. Aproximadamente 80 a 90% da matriz orgânica é composta pelo colágeno, o qual é uma fibra protéica de tripla hélice. Por constituir a maior parte orgânica do osso, também afeta a propriedade mecânica dos ossos. Fatores que alteram a sua síntese e deposição ou mesmo sua forma de deposição tende a afetar as propriedades mecânicas dos tecidos. Além da calcificação, a molécula do colágeno sofre o processo de fibrinogênese e várias modificações pós-traducionais, tais como hidroxilações e ligações cruzadas intermoleculares, que aumentam sua força tensional e ajudam a suportar o estresse físico. Além do colágeno, o restante 10 a 15% da matriz orgânica é formada por proteoglicanos, lipídios e proteínas não colagenosas tais como osteocalcina, osteopontina e osteonectina (Rath et al., 2000). Muitos destes atuam no controle da produção de colágeno, bem como na mineralização, sendo, portanto, importantes para o controle das propriedades biomecânicas dos ossos. Proteoglicanos como a decorina e biglicanos atuam na produção de tamanhos apropriados de fibras de colágeno e deficiência nestes elementos afeta profundamente as propriedades mecânicas dos ossos (CURREY, 2003).

A parte inorgânica é formada predominantemente por íons Ca e P, principalmente na forma de hidroxiapatita, os quais compreendem 60 a 70% do peso do osso e promove a dureza e resistência à compressão. O colágeno se arranja de forma a fornecer uma estrutura periódica de vazios aonde o cristal de hidroxiapatita é depositado, ocorrendo a calcificação (Rath et al., 2000). Outros elementos estão presentes na matriz inorgânica como bicarbonato, magnésio, potássio e sódio e citrato em pequenas quantidades (Junqueira & Carneiro, 2004). Devido ao fato da matriz mineral constituir a maior parte da matriz extracelular, a densidade mineral do osso representa o status da saúde óssea. O osso também possui em torno de 10 a 15% de água que é responsável pelas suas propriedades viscoelásticas (RATH et al., 2000).

Alguns fatores tais como sexo (Rath et al., 1999), taxa de crescimento (Leterrier et al., 1998), densidade populacional (Sorensen et al., 2000), diferentes cruzamentos comerciais e nutrição (Edwards Jr., 2000; Cook, 2000) têm sido associados às diferenças na qualidade óssea. A habilidade de caminhar tem sido usada como um parâmetro para avaliar a qualidade óssea.

Kestin et al. (1992) idealizaram um método em escores relacionado na habilidade de caminhar, tendo sido modificado por Garner et al. (2002), onde estabeleceram seis categorias de zero a cinco. O grupo zero representa o grupo normal com excelente habilidade de caminhar e o grupo cinco onde os frangos são incapazes de caminhar devido à severidade da manqueira. Existe uma forte correlação entre o escore e o peso corporal e idade dos animais, ambos os fatores prejudicam o escore (Brickett et al., 2007). No entanto, parece que o fator genético não é o fator determinante, pois quando Williams et al. (2003) submeteram animais de crescimento rápido a uma restrição alimentar para reduzir a taxa de crescimento, observou uma maior mineralização das tíbias, igualando-se à linhagem de crescimento lento. Talaty et al. (2010) encontraram forte correlação do peso corporal com escore, mas não encontraram para cruzamentos comerciais e para grau de mineralização de tíbias. Porém, quando Sorensen et al. (2000) excluíram a influência do peso corporal sobre a habilidade de caminhar tomada através do escore, observou que a densidade populacional dos frangos teve maior influência sobre a habilidade de locomoção. Não tendo observado efeito da densidade populacional sobre a prevalência de torções dos membros ou de discondroplasia tibial.

O papel dos fatores nutricionais é provavelmente o mais importante com relação à qualidade óssea. A divisão entre elementos orgânicos e inorgânicos é usada. Ca e P são nutrientes inorgânicos primários, pois constituem 95% da matriz mineral dos ossos. No entanto, não menos importantes para a saúde óssea, porém, em menor quantidade, estão presentes outros elementos inorgânicos (RATH et al., 2000).

Os ossos aparentemente agem como um reservatório para o magnésio (Mg), mas a mobilização a partir do osso é relativamente lenta. Aproximadamente 70% do Mg do corpo do animal estão nos ossos. O sódio (Na) possui um papel primário na regulação do balanço de água e, em particular, no volume dos fluidos extracelular (Patience, 1990) e cerca de 30% estão presentes nos ossos (Bergstrom & Wallace, 1954). O potássio (K) é o principal cátion do ambiente intracelular. Mais de 90% do total de K corpóreo pode ser encontrado no espaço intracelular. A maioria do K extracelular esta presente no osso (PATIENCE, 1990).

As propriedades químicas, físicas e biomecânicas têm sido utilizadas como parâmetros para avaliação da qualidade óssea (LETERRIER & NYS, 1992).

2.2. Elementos químicos

Os minerais compreendem cerca de 4% da composição corporal dos animais vertebrados (Underwood, 1981). Os elementos minerais essenciais servem ao organismo para uma multiplicidade de funções, atuam como componentes estruturais do organismo e tecidos animais, como o caso do cálcio, fósforo e magnésio nos ossos e dentes. Também podem atuar como componentes das proteínas, constituintes dos fluidos e tecidos do organismo agindo na manutenção das relações osmóticas e no equilíbrio ácido-base, permeabilidade das membranas e exercem efeitos característicos sobre a irritabilidade de músculos e nervos (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA - Gado de corte, 2010). Como integrantes do tecido ósseo de uma maneira geral eles desempenham rigidez e solidez às estruturas do esqueleto. Muitas de suas funções vitais se devem a inter-relações iônicas (Maynard & Loosli, 1974).

2.2.1. Cálcio e fósforo

O cálcio é o mineral mais abundante no corpo animal, quantitativamente é o elemento mineral mais importante nos ossos com 99% do seu conteúdo corporal contido no esqueleto. É essencial para coagulação normal do sangue, regulação dos batimentos cardíacos, manutenção da excitabilidade neuromuscular normal, ativação de enzimas e manutenção da permeabilidade das membranas (HURWITZ et al., 1987).

A concentração plasmática de cálcio é prioritária à qualidade óssea, sendo mantida pela ação dos hormônios 1,25-dihidroxicolecalciferol (vitamina D3), calcitonina e hormônio da paratireóide, que controlam sua absorção, excreção e o metabolismo ósseo (Henry, 1995; Williams et al., 2000).

Absorvido no intestino delgado, o transporte através do epitélio intestinal ocorre por duas vias independentes. Uma rota transcelular que é saturável e uma paracelular não saturável. A via transcelular está sujeita a regulação

fisiológica e nutricional via vitamina D, ocorre principalmente no duodeno e jejuno superior. Já a não saturável é independente de regulação fisiológica ou nutricional, porém, é dependente da concentração de cálcio, e ocorre em toda extensão do intestino delgado (Bronner, 1992). No processo saturável o cálcio, liga-se à proteína ligadora de cálcio (CaBP) presente na borda em escova do enterócito, passa para dentro da célula, onde pode se ligar a organelas como lisossomos, complexo de golgi ou retículo endoplasmático, os quais vão atuar facilitando o transporte e reduzindo o aumento do cálcio intracelular livre (BRONNER, 1992).

Metade do cálcio plasmático está na forma solúvel ionizável (Ca^{2+}), enquanto a outra metade está ligada a proteínas (albumina, globulina) e compostos orgânicos (fosfato e outros ânions), sendo a principal delas a forma ionizável. Tem ainda pequena parte (5%) que está complexado com elementos inorgânicos não ionizáveis (HAYS & SWENSON, 1996).

O fósforo da mesma forma que o cálcio é um dos principais minerais utilizados no desenvolvimento das aves, principalmente para a formação dos ossos. Aproximadamente 80% do total do fósforo corporal estão localizados nos ossos (Vargas Júnior et al., 2003). O restante do fósforo está distribuído entre os tecidos moles, estando concentrado especialmente nas células vermelhas do sangue, músculo e tecidos nervosos.

O fósforo pode ser considerado como um dos elementos químicos mais versáteis no corpo animal, pois está envolvido em quase todas, se não em todas as reações metabólicas. Participa no metabolismo de carboidratos, aminoácidos e gordura, nos processos químicos do sangue, formação do esqueleto, transporte de ácidos graxos e outros fosfolípidios. Participa também como constituinte de ácidos nucléicos, e componentes de muitas coenzimas, além de estar envolvido no armazenamento e transferência de energia em compostos fosforilados da glicose e seus derivados (MCDOWELL, 1992).

O fósforo é absorvido ao longo do intestino, parcialmente, por processo ativo. O processo de absorção é estimulado pela vitamina D e é dependente de sódio, cuja dependência está relacionada ao seu gradiente e transporte ativo secundário. Entretanto, a quantidade absorvida é influenciada pela fonte, pH (solubilidade) e níveis de outros minerais (Ca, ferro (Fe), Mg e alumínio (Al)), que combina com o fosfato proporcionando a formação de sais pouco solúveis

reduzindo a sua disponibilidade. A presença do P na forma de fósforo fítico (resistente a hidrólise dos monogástricos) compromete a sua utilização pelos animais, e compromete a absorção de Ca, Zn e Cu, podendo diminuir a digestibilidade de alguns aminoácidos (MAIORKA & MACARI, 2002).

Em aves, a concentração sanguínea de fósforo é de 35 a 45mg/100ml, sendo que aproximadamente 10% deste estão na forma de fosfato inorgânico (Scott et al., 1982). Existe um equilíbrio dinâmico entre os fluidos corporais e o cálcio e fósforo da porção trabecular dos ossos (Hays & Swenson, 1996). A reabsorção de cálcio e fósforo ósseo para atender as necessidades metabólicas é um processo normal. Somente haverá prejuízo para a qualidade óssea quando a deficiência for muito prolongada (VARGAS JÚNIOR, 2002).

A exigência de cálcio e fósforo é dependente da idade e tipo do animal e de fatores genéticos. Estes fatores interferem nas demandas fisiológicas determinantes na formação da estrutura corporal, relacionadas à formação óssea, muscular, empenamento e desenvolvimento sexual (Borges et al., 2004). Contudo, o nível de exigência para maximizar uma característica é diferente da outra. Por exemplo, o desempenho das aves, tomado através de conversão alimentar e ganho de peso, é inferior à exigência para maximizar a resistência óssea (Rostagno et al., 1996). Portanto, deve-se ter em conta que, ao visar a melhoria da qualidade óssea através do aumento da quantidade de cálcio na dieta, poderia estar de alguma forma prejudicando o desempenho animal, pois as aves tem a capacidade de regular o consumo de cálcio de forma a atender seu requerimento (VARGAS JÚNIOR et al., 2003).

Como a concentração de cálcio sanguínea é prioritária à concentração óssea, a resistência óssea é dependente dos níveis de cálcio plasmático, uma vez que a homeostase de cálcio é fundamental para a manutenção das funções vitais do organismo. Caso não se tenha níveis sanguíneos adequados de cálcio, ocorrerá estímulo da secreção de paratormônio (PTH) e síntese de vitamina D, com a finalidade de aumentar a reabsorção óssea (RATH et al., 2000).

O cálcio e o fósforo interagem durante a absorção, metabolismo e excreção. Dada a complexidade da interação entre cálcio, fósforo e vitamina D, e outros hormônios calciotrópicos, se faz necessário um judicioso balanço entre as relações Ca:P na dieta (Rath et al., 2000). Williams et al. (2000) observaram

uma redução na relação Ca:P na cortical do osso quando os níveis de P da dieta estavam elevados, justificando que provavelmente deveu-se aos níveis séricos elevados de P e baixos de Ca^{2+} .

Insuficiente quantidade de Ca e P reduzem a taxa de crescimento ósseo e a calcificação, e o excesso de ingestão de cálcio também produz o mesmo efeito, porém com menor intensidade para o crescimento e conteúdo de cinzas (Bar et al., 2003). Hulan et al. (1985) observaram redução de ganho de peso quando aumentaram a relação Ca:P, porém observaram maior ganho de peso quando o total de Ca mais P foi mais elevado juntamente com a menor relação Ca:P. Para a força de quebra do osso, também observou aumento quando se elevou a quantidade total de Ca+P, porém, não houve alteração para a força quando modificaram a relação Ca:P. Williams et al. (2000) também não observaram alteração nas propriedades mecânicas dos ossos aos 14 dias, embora tenha encontrado variações da relação de Ca:P entre 1,82 a 3,89:1 nos ossos e também grandes variações na dieta.

Contudo, embora estes autores não tenham observado diferenças nas propriedades químicas e mecânicas nos ossos testados, foi observado um aumento da incidência de discondroplasia tibial quando aumentou a quantidade de P na dieta ou reduziu a relação Ca:P, mesmo que tenha sido encontrado uma relação óssea de Ca:P de 1,67:1, que é preconizada ser a relação ideal. Parece que o aumento de P disponível na dieta é mais deletério para a qualidade óssea do que a diferença na relação de Ca:P. Hulan et al. (1985) por sua vez, encontraram que para a fase inicial, a quantidade total de Ca e P é mais importante para um máximo conteúdo de cinzas e peso seco das tíbias, e para a fase final a relação Ca:P é mais importante.

2.2.2. Magnésio, potássio, sódio e cloro

Aproximadamente 60% do magnésio do corpo animal estão nos ossos. Apesar dos ossos atuarem como um reservatório para o magnésio, a mobilização a partir do osso é relativamente lenta, pois o magnésio penetra mais profundamente na matriz óssea e apenas aproximadamente 40% do magnésio ósseo está disponível para troca imediata (Green & Kleeman, 1991). Com isso, uma deficiência na dieta pode resultar em redução do magnésio sanguíneo antes que o nível no osso seja afetado. No entanto, na deficiência

prolongada, o conteúdo de magnésio no osso diminui e o conteúdo de cálcio aumenta. Porém, o conteúdo nos ossos é rapidamente reabastecido quando oferecido uma dieta rica em magnésio (Hays & Swenson, 1996). Além disso, o músculo cardíaco e esquelético e o tecido nervoso dependem do equilíbrio apropriado entre os íons cálcio e magnésio. O magnésio é um componente ativo de diversos sistemas enzimáticos. As concentrações plasmáticas de magnésio são normalmente de 2 a 3mEq/L. A fosforilação oxidativa é amplamente reduzida na ausência de magnésio, pois o Mg interfere na transferência de P e não de H⁺. Também, o magnésio é essencial para a hidroxilação renal da vitamina D, contribuindo na conversão da 25(OH)D₃ em 1,25(OH)₂D₃ forma mais ativa da vitamina D (PIZAURO JÚNIOR, 2002).

O magnésio, juntamente com o cálcio, é reabsorvido passivamente contra gradiente de concentração nos túbulos renais proximais. O transporte de soluto, particularmente o sódio, cria gradiente no qual a água move passivamente, criando assim gradiente para a reabsorção do cálcio e do magnésio (PIZAURO JÚNIOR, 2002).

O potássio é o principal cátion do ambiente intracelular. Mais de 90% do total de potássio corpóreo pode ser encontrado no espaço intracelular. A maioria do potássio extracelular esta presente no osso. O potássio é prontamente absorvido no trato gastrointestinal (PATIENCE, 1990).

O potássio atua na manutenção do equilíbrio ácido-básico, na regulação da pressão osmótica e no desenvolvimento dos potenciais de membrana de forma idêntica ao sódio. Ligado ao sódio participa do Na-K ATPase. O potássio influencia a contratilidade dos músculos lisos, esqueléticos e cardíacos e tem efeito sobre a irritabilidade muscular (Hays & Swenson, 1996). Além disso, ele é um cofator de inúmeras enzimas.

Na prática, o fornecimento de potássio é maior que o seu requerimento. Os rins, entretanto, estão permanentemente envolvidos na excreção do excesso de potássio da dieta. A reabsorção renal de sódio é dependente de potássio havendo uma constante perda endógena. Situações de deficiência são extremamente raros (LARBIER & LECLERCQ, 1992).

Existem dois mecanismos importantes envolvidos no transporte e concentração do potássio no fluido extracelular. Em primeiro lugar, a secreção de potássio é muito sensível à concentração do potássio no fluido extracelular,

elevando a sua taxa de secreção quando níveis de potássio estão altos ou diminuindo quando está abaixo em relação às concentrações do plasma sanguíneo. O segundo mecanismo envolve a secreção da aldosterona. A secreção de aldosterona pelo córtex adrenal é sensível à concentração no fluido extracelular, ou seja, um pequeno aumento da concentração de potássio promove grande aumento da secreção de aldosterona a qual aumenta a excreção de potássio na urina e declina o nível plasmático até a normalidade (Haupt, 1996). Embora o potássio seja o principal íon intracelular, com baixas concentrações no fluido extracelular, no osso o potássio está cerca de 20 vezes mais concentrado no líquido extracelular, sendo que 80% no conteúdo líquido ósseo extracelular e 20% no líquido intracelular. Também, o potássio não está associado nem ao colágeno, nem a matriz óssea, estando, portanto, prontamente disponível para trocas com o fluido sistêmico extracelular. Desta forma, em casos de acidose metabólica aguda, o potássio pode ser liberado do osso juntamente com o sódio sem comprometer a estrutura da matriz mineral do osso (GREEN & KLEEMAN, 1991).

O íon sódio é o principal cátion dos líquidos extracelulares. Intracelularmente, o potássio e o magnésio são os principais cátions. O sódio está diretamente envolvido na pressão sanguínea. Excesso de sódio no sangue produz sede que estimula a ingestão de água. É absorvido livremente no intestino e é transportado livremente no sangue. Juntamente com o cloro é o íon mais abundante no fluido extracelular (BLAKE, 2008),

As principais funções do íon sódio dizem respeito à regulação da pressão osmótica, equilíbrio ácido-básico, manutenção dos potenciais de membrana, transmissão dos impulsos nervosos e processo de absorção de monossacarídeos, aminoácidos pirimidinas e sais biliares (Hays & Swenson, 1996). O sódio é utilizado também na biossíntese de ribossomos e na síntese protéica (Scott et al., 1982). Juntamente com o potássio é responsável, em parte, pelo gradiente eletroquímica da membrana celular. Este fenômeno é realizado pela bomba de Na/K ATPase que mantém as concentrações de sódio extracelular em aproximadamente 10 vezes mais alta do que dentro das células, sendo que o potássio fica 30 vezes maior dentro da célula do que fora (BLAKE, 2008).

O papel do sódio no equilíbrio ácido-básico, embora importante, é secundário em relação a sua função de manutenção da pressão osmótica. A porção do sódio equivalente ao bicarbonato presente representa a maior parte da base disponível para a neutralização dos ácidos que entram na corrente sanguínea e, em conjunção com o ácido carbônico, eleva o pH do sangue (HAYS & SWENSON, 1996).

Existe um sinergismo entre Na^+ e K^+ . Nível excessivo de K^+ , porém menos que o tóxico, resulta em reabsorção de Na^+ . Diferentemente, o excesso de Na^+ reduz a secreção de aldosterona e a reabsorção de Na^+ e diminui a velocidade de excreção do potássio, que, entretanto, apropriadamente reduz o requerimento de potássio (LARBIER & LECLERCQ, 1992).

Os distúrbios ácido-básicos afetam o metabolismo do potássio. Em acidose há uma translocação do potássio de dentro da célula para o fluido extracelular. Na alcalose o efeito é oposto (Adrogue & Madias, 1981). A base para esse efeito é a proteção do excesso de íons hidrogênio no fluido intracelular; como os prótons entram nas células, a saída de potássio é necessária para a manutenção da neutralidade elétrica das células (PATIENCE, 1990).

O cloreto é o principal ânion no fluido extracelular, sendo o mais importante ânion do suco gástrico e é acompanhado pelo íon hidrogênio em quantidades aproximadamente iguais, com papel de acidificar o suco gástrico e facilitar a digestão (Blake, 2008). No sangue, sua transferência entre os eritrócitos e o plasma circulante, na qual é referido “meio clorídrico” ajuda a suportar mais eficientemente o transporte de dióxido de carbono das células para os pulmões (Patience, 1990). A depleção excessiva de íons cloreto pelas perdas nas secreções gástricas através de vômitos pode afetar o balanço ácido-base do corpo (BLAKE, 2008).

2.3. Desordens locomotoras

Os problemas locomotores são uma realidade na indústria de produção avícola, pelo menos nas últimas décadas, tendo cada vez mais sido agravado com o incremento do potencial genético para eficiência produtiva e incorporação de maior peso corporal em um intervalo de tempo mais curto.

Outro fator que aumentou a intensidade das desordens locomotoras foi o aumento da proporção da massa muscular imposta ao músculo do peito que aumentou 70% de 1957 até o ano de 2001 (Angel, 2007). Este fato modificou o posicionamento dos membros alterando o centro de gravidade dos animais e conseqüentemente a locomoção dos frangos, produzindo distorções e deformidades ósseas que comprometeram a habilidade de caminhar, gerando desconforto e dor, prejudicando o desempenho das aves (OVIEDO-RONDÓN, 2007).

Os problemas de pernas em aves eram anteriormente relatados em níveis variando de menos de 1% até mais de 30%. Atualmente, devido aos esforços para melhorar o ambiente de alojamento e minimizar as doenças, os frangos de corte em criações comerciais apresentam menos de 3% de problemas locomotores clínicos. No entanto, mesmo com essa baixa incidência, os impactos negativos podem ser bem maiores sobre os parâmetros de desempenho no final do lote, como viabilidade e conversão alimentar. Consideram-se também as perdas nos abatedouros, pois algumas dessas deformidades do esqueleto afetam a operação dos equipamentos de evisceração automática e desossa, influenciando a velocidade da linha de processamento, a necessidade de aparas manuais e perdas de carne (POWELL & BITTAR FILHO, 2008).

Várias causas de deformidades ósseas têm sido identificadas desde a década de 30. Algumas causas têm sido atribuídas aos fatores nutricionais como toxicidade, deficiências ou desequilíbrios, outras relacionadas a fatores genéticos, patógenos e práticas de manejo (Cook, 2000). Os problemas mais comuns em aves são a discondroplasia tibial (DT), a deformidade angular óssea, desvio lateral ou medial das tíbias proximal ou do metatarso proximal (deformidade rotacional) e raquitismo (Waldenstedt, 2006). De um modo geral, as aves acometidas por estes problemas apresentam dificuldade de locomoção, desconforto físico com restrições alimentares devido ao impedimento de competir pelo alimento, ocorrendo redução na taxa de crescimento (YALÇIN et al., 1998; NÄÄS et al., 2010).

De acordo com Fleming (2008), a seleção para rápido crescimento em frangos de corte, de aproximadamente 50g para 3kg em 42 dias de idade,

produziu desordens do esqueleto como a DT, raquitismo, também estando associado com as deformidades angulares e rotacionais.

Há um comportamento característico de crescimento, no qual o esqueleto, o músculo e o tecido adiposo são desenvolvidos sucessivamente, isto é, o desenvolvimento do tecido ósseo é mais rápido do que o do tecido muscular que, por sua vez é mais rápido do que o do tecido adiposo (Gonzales & Sartori, 2002). Muito embora o osso desenvolva primeiro, Rath et al. (2000) demonstraram que o osso demora mais tempo para atingir a maturidade alcançando o seu máximo potencial físico e mecânico, do que gasta para crescer, ou seja, o desenvolvimento e a maturidade do osso não acompanham a taxa de crescimento, resultando em excesso de carga sobre ossos imaturos, predispondo a deformidade e fragilidade dos ossos.

2.4. Discondroplasia tibial

A discondroplasia tibial é a desordem óssea mais comum em aves e foi primeiramente descrita por Leach & Nesheim (1965; citados por Rath et al., 2007). É caracterizada por um acúmulo de parte avascular do disco epifisário distal na zona proliferativa (Dibner et al., 2007). Ocorre principalmente em frangos de crescimento rápido é caracterizada visualmente por um tecido branco opaco localizado na extremidade proximal da tíbia, podendo ocorrer em outros ossos como metatarso proximal e fêmur (Julian, 1998). Muitos trabalhos têm sido feitos para determinar as causas da discondroplasia tibial (DT). Fatores nutricionais, doenças e fatores genéticos têm sido implicados na etiopatogenia da doença (HULAN et al., 1985).

Baixa relação Ca:P ou dietas deficientes em vitamina D produzem piora na homeostase do cálcio e aumenta a incidência da DT, que por sua vez é parcialmente resolvida quando se suplementa a ração com a vitamina D3 ou alguns de seus metabólitos (Edwards Jr., 2000); Ledwaba & Roberson, 2003; Whitehead et al., 2004). Contudo, Rath et al. (2007), não concluíram que a deficiência da vitamina D e seus metabólitos é a causa primária da ocorrência da DT. Além disso, em modelos experimentais que foram usados níveis dietéticos manipulados de relação Ca:P ou vitamina D deficiente para induzir a

DT, foi difícil discriminar se a DT foi secundária ao raquitismo, uma vez que pode ser revertida, corrigido os problemas da homeostase normal do cálcio.

Outro fator que pode influenciar na incidência de problemas de pernas em pintos é o desequilíbrio de cátions e ânions da dieta. Mongin & Sauveur (1977) relataram que o desequilíbrio entre Na^+ , Cl^- e K^+ afetou o crescimento e induziu a incidência de DT. Tardin (1995) relatou que altos teores de cloro tendem a aumentar a incidência de discondroplasia da tíbia, sobretudo quando os níveis de sódio e de potássio são baixos. Hulan et al. (1987) constataram significativa interação entre sódio, potássio e cloro no desenvolvimento da discondroplasia tibial, sendo que os resultados foram sempre melhores quando o nível de cloro foi reduzido e o de sódio elevado. Murakami et al. (2001) observaram que a área da zona hipertrófica aumentou com o aumento da concentração do íon cloreto, sugerindo que altos níveis de cloreto podem aumentar a probabilidade de incidência da DT. Os frangos em acidose metabólica perdem em 50% a capacidade de produzir o 1,25-dihidroxicolecalciferol, metabólito D3 ativo, podendo predispor à DT (VELTMAN & JENSEN, 1979).

2.5. Deformidade rotacional óssea e deformidade angular

Segundo Duff & Thorp (1985), traumas como excesso de peso e rápido crescimento podem acarretar falhas nos mecanismos que mantêm a torção dentro de parâmetros normais. Isto justifica a maior incidência de deformidades rotacionais em frangos alimentados à vontade do que naqueles submetidos à restrição alimentar. Também fêmeas de corte normalmente são menos susceptíveis ao desenvolvimento de deformidades ósseas do que os machos de corte. Um estudo demonstrou que a ocorrência de *valgus-varus* nas fêmeas (8,85%) foi significativamente menor que nos machos (19,9%) (ROSE et al., 1996).

A deformidade óssea aparece quando os ossos, durante o desenvolvimento, crescimento ou remodelação, desvia da disposição normal por torção ou desvio *Valgus* (lateral) ou *Varus* (mediano). As deformidades angulares e rotacionais podem acontecer independente uma da outra, e são freqüentemente descritas no tibiotarso distal ou metatarso proximal embora a

postura anormal do membro possa ser originada no fêmur (Thorp, 1994). Diferenças na epidemiologia dessas duas maiores deformidades do osso (deformidade *valgus* da articulação intertarsal e torção ou rotação excessiva do tibiotarso externo) indicam uma diferença na patogênese dessas desordens (Riddell, 1992). São geralmente progressivas e, quando frangos jovens são afetados podem se tornar aleijados e ficarem impossibilitados de chegar à ração e água. Estas aves podem ser condenadas por estarem magras durante o processamento ou pode haver atrofia e desuso do músculo da perna afetada. Ela pode ser minimizada proporcionando redução do crescimento nos primeiros 10 a 21 dias, aumentando o período de descanso diário dos frangos e fornecendo períodos de escuro (JULIAN, 1998).

2.6. Raquitismo

O raquitismo pode ocorrer em frangos de crescimento rápido ou lento, porém é agravada pela maior exigência nutricional durante o período de crescimento. Em dietas ligeiramente deficientes, somente os frangos de rápido crescimento serão afetados. O raquitismo causa alargamento da área epifisária e ocasionalmente deformidade da parte mole e emborrachamento dos ossos. No raquitismo, o espessamento da placa de crescimento pode ser semelhante ao início da discondroplasia tibial (DT), e quando o raquitismo é leve, pode erroneamente ser classificado como DT (Julian, 1998). Muitas deficiências podem ocorrer como resultados de doenças intestinais passageiras ou crônicas que prejudicam a absorção dos nutrientes (ANGEL, 2007).

2.7. Propriedades físicas e biomecânicas do osso

Os ossos funcionam como alavancas para o corpo, por isso devem ser rígidos, porém, também devem ser flexíveis para resistirem às deformações geradas em impactos, retornando à sua forma primordial sem danos ao tecido. Caso haja excesso de minerais, o osso pode se tornar quebradiço, e se faltar minerais pode se tornar excessivamente flexível (Seeman, 2010). Portanto, as propriedades físicas e mecânicas dos ossos são determinadas por quantidades relativas dos três maiores constituintes: mineral, parte orgânica (principalmente

o colágeno) e água. Porém, a qualidade desses componentes e a forma como esses materiais são arranjados no espaço também interferem em suas propriedades biomecânicas (Currey, 2003). Propriedades físicas como forma do osso, o tamanho e a massa óssea, tipo de orientação das fibras de colágeno, bem como a quantidade de ligações cruzadas alteram a resistência óssea (RATH et al., 2000).

A resistência óssea pode ser avaliada por meio das propriedades mecânicas, ou biomecânicas, obtidas a partir de ensaios onde o osso é avaliado sob a ótica da engenharia. Uma vasta gama de propriedades pode ser determinada a partir de diferentes ensaios mecânicos. Dentre os ensaios básicos, podem ser citados os de tração, compressão e flexão (Turner & Burr, 1993). Propriedades físicas como densidade e porosidade também podem prever a resistência óssea (RATH et al., 2000).

Dentro da perspectiva da biomecânica, a resistência óssea não é definida apenas através da sua força máxima à quebra. Inclui também, fragilidade, tenacidade na flexão e dureza do material. Quando um osso é submetido a um teste biomecânico de flexão em três pontos gera uma curva força X deslocamento que é composta por força máxima de fratura (ponto mais alto da curva), a inclinação da reta representa a dureza do material ou o módulo de elasticidade e a área debaixo da curva representa a tenacidade na flexão ou a quantidade de carga que o material é capaz de absorver ou suportar. Estas propriedades são divididas em duas categorias: extrínsecas e intrínsecas. As propriedades extrínsecas englobam as características intrínsecas do material ósseo propriamente dito, mas também incluem as propriedades geométricas como forma e diâmetro do osso. Força máxima na flexão, tenacidade na flexão e rigidez são exemplos de características extrínsecas e módulos de ruptura e de elasticidade são propriedades intrínsecas (TURNER, 2002).

Muitos fatores podem influenciar a resistência óssea de forma direta ou indireta. Em frangos de corte, fatores como toxinas e fatores anti-nutricionais, taxa de crescimento, idade, sexo, nutrição, atividade física, hormonal, genética e doenças são os mais relevantes (RATH et al., 2000).

Como as características físicas e mecânicas dos ossos tem sido usadas pelos pesquisadores como a principal ferramenta para avaliação das variações

nutricionais em termos de minerais, Crenshaw et al. (1981) sugeriram uma padronização dos procedimentos para testar os ossos. O conteúdo de água do osso, por exemplo, pode afetar a força máxima na flexão. Se o osso ficar apenas 10 minutos exposto ao ar, pode desidratar e alterar esta característica que geralmente é muito usada pelos nutricionistas como ferramenta para avaliação.

Quanto maior o teor de elementos minerais, maior o módulo de elasticidade, ou seja, maior a rigidez do osso, porém, o aumento da rigidez torna o osso mais frágil, mais susceptível às pequenas trincas. O colágeno, no entanto, contribui com a tenacidade do tecido ósseo ou sua capacidade de se fletir quando submetido a um estresse (CURREY, 2003).

A matriz extracelular modula a resistência dos tecidos e as propriedades de crescimento celular. Ambas são essenciais para o desenvolvimento de uma estrutura do esqueleto mecanicamente forte. O colágeno é o maior constituinte da matriz orgânica. Fornece suporte orientado para a matriz mineral e contribuindo para a resistência à tração do osso (Velleman, 2000). Além da calcificação, as moléculas de colágeno sofrem várias modificações pós-traducionais, como hidroxilação e ligações cruzadas intermoleculares, as quais aumentam a sua resistência à tração e ajuda na força e resistência física (Rath et al., 2000). Mudanças nas propriedades do colágeno podem alterar a quantidade e a disposição dos minerais, ao qual irá afetar as propriedades mecânicas dos ossos (Currey, 2003). A desnaturação do colágeno por calor produz diminuição da tenacidade na flexão e da resistência sem alterar o módulo de elasticidade que é uma medida de dureza do osso (WANG et al., 2001).

De acordo com Williams et al. (2004) o rápido crescimento das linhagens comerciais é acompanhado de uma rápida deposição óssea na superfície do perióstio e esta deposição está associada com decréscimo da mineralização, aumento da porosidade cortical, e alterações nas propriedades biomecânicas do osso. Porém, foi demonstrado que o exercício físico aumentou a área da secção transversal do osso através da maior deposição óssea na superfície periosteal como forma de adaptação ao estresse físico. Portanto, esta forma de deposição rápida do osso não se trata de uma deficiente calcificação, mas sim,

um ajuste fisiológico a uma demanda rápida na resistência óssea (BIEWENER & BERTRAM, 1994).

A resistência óssea está condicionada às propriedades extrínsecas e intrínsecas do osso. As propriedades extrínsecas incluem as adaptações geométricas relacionadas ao volume e massa (Turner, 2002). Contudo, a determinação das propriedades intrínsecas de um material pode ser mais importante do ponto de vista nutricional, já que não incluem as adaptações geométricas que o osso adota para compensar uma sobrecarga, referindo-se apenas à qualidade do material propriamente dito (TURNER, 2002).

2.8. Balanço eletrolítico

O pH do líquido extracelular é uma das variáveis mais rigorosamente reguladas pelo organismo. As concentrações do íon hidrogênio que determinam o pH são, no entanto, extremamente baixas, e conseqüentemente o pH dos líquidos é facilmente perturbado pela adição de pequenas quantidades de ácidos ou bases fortes. Por exemplo, a concentração do íon Na no fluido extracelular é de 142 mEq/L, enquanto que do íon H^+ está na faixa de 0,00004mEq/L. Como o pH é $-\log[0,00000004]$, isto equivale a pH=7,4 no sangue arterial. Para o sangue venoso que possui maior quantidade de CO_2 o pH está em 7,35. Dentro das células, o pH é ligeiramente menor, estando na faixa de 6,0 a 7,4 devido ao metabolismo celular que geralmente produz ácidos, especialmente o H_2CO_3 (GUYTON & HALL, 2006).

O equilíbrio ácido-básico refere-se à tendência do organismo animal em manter constante a concentração de prótons (H^+) intra e extracelular (Patience, 1990). A regulação da concentração desse íon constitui um dos aspectos mais importantes da homeostasia porque as funções metabólicas das células estão intimamente relacionadas com estas concentrações. As atividades das enzimas, as trocas eletrolíticas e a manutenção das estruturas funcionais das proteínas dos organismos são profundamente influenciadas por pequenas alterações no pH sanguíneo (MACARI et al., 1994).

Três sistemas primários estão envolvidos no controle da concentração do H^+ nos fluidos corporais para prevenir acidose ou alcalose. Sistemas de tampões químicos ácido-base no fluido corporal, os quais combinam

instantaneamente com ácidos ou bases para prevenir alterações excessivas de concentrações de H^+ . O centro respiratório que regula a remoção de CO_2 e conseqüentemente H_2CO_3 do fluido extracelular e por ultimo, os rins que podem excretar tanto ácidos como bases. O controle preciso da concentração de H^+ extracelular envolve múltiplos mecanismos tampões ácido-base que estão presentes no sangue, células, pulmões e rins (GUYTON & HALL, 2006).

Os sistemas de tamponamento químico mais importante para o organismo animal são: fosfato, bicarbonato, proteínas plasmáticas extracelulares, complexos organofosfatados, proteínas tissulares e cristais de apatita dentro do osso, sendo o bicarbonato o mais eficiente (Murakami, 2000; Guyton & Hall, 2006). A adição de ácidos fortes ou perdas de bases tampão (bicarbonato) pelo líquido extracelular leva à acidose metabólica. Já o ganho de base (hidroxila ou íons bicarbonato) ou a perda de ácido forte pelo líquido extracelular resultará em alcalose metabólica (GUYTON & HALL, 2006).

O equilíbrio ácido-básico também está diretamente ligado aos eletrólitos ingeridos pelos animais (VIEITES et al., 2004). O papel primário dos eletrólitos é regular a manutenção do equilíbrio hídrico corpóreo e o balanço iônico do corpo. Fatores nutricionais e do meio ambiente podem influenciar o equilíbrio ácido-base, portanto não devem ser avaliados isoladamente (Ahmad & Sarwar, 2006). O equilíbrio ácido-básico (EAB) ou balanço eletrolítico (BE) se define como a diferença entre os principais cátions e ânions da dieta. O balanço eletrolítico pode influenciar o crescimento, o apetite, o desenvolvimento ósseo, a resposta ao estresse térmico e o metabolismo de certos nutrientes, como aminoácidos, minerais e vitaminas (PATIENCE, 1990).

Os eletrólitos incluem todos os compostos solubilizados que tem a capacidade de conduzir corrente elétrica quando decompostos (Borges et al., 2003). Os principais elementos envolvidos no equilíbrio são os cátions sódio (Na^+), potássio (K^+) e magnésio (Mg^{++}), e os ânions cloro (Cl^-), bicarbonato (HCO_3^-) e fosfato dibásico ($H_2PO_4^-$), além de algumas proteínas (albumina e hemoglobina). O Na^+ e o Cl^- contribuem principalmente para a pressão osmótica do plasma, enquanto o Mg^{++} , os fosfatos e as proteínas, para pressão osmótica do fluido intracelular (GONZÁLEZ & SILVA, 1999).

Muitos estudos têm sido direcionados ao desenvolvimento de expressões simplificadas de BE, de forma a identificar a relação crítica de eletrólitos para o uso em formulações de rações (VIEITES et al., 2004).

Mongin (1981) sugere que a equação eletrolítica completa seria: $(\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Ca}^{++} + \text{Mg}^{++}) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{-2} + \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{HPO}_4^{-2})$. Entretanto, propõe uma fórmula simplificada considerando apenas os elementos monovalentes $(\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-)$ afirmando que os cátions bivalentes não são rapidamente absorvidos como os cátions monovalentes e que na prática é difícil o controle de todos os elementos, uma vez que os ânions fosfatos provêm tanto de origem de dietas orgânicas como inorgânicas de várias fontes; o sulfato está presente em pequenas quantidades, estando relacionado com a prevenção do catabolismo da metionina; o magnésio é comumente fornecido nas rações em excesso, e; o cálcio é incluso grande quantidades como sal de carbonatos e está primariamente envolvida no desenvolvimento do esqueleto em vez do equilíbrio ácido-básico, por sua vez, a taxa de absorção é controlada pelo sistema endócrino. Portanto, os íons essenciais para a manutenção do equilíbrio ácido-base são o Na^+ , K^+ e Cl^- . Embora aves exijam quantidades mínimas em sua alimentação para preencher os seus requerimentos nutricionais, a proporção entre eles é essencial para manter a homeostase ácido-base e obter o máximo desempenho dos frangos de corte (MONGIN, 1981).

O consumo líquido de ácido é medido pela diferença entre ânions e cátions fixos, que por sua vez, são aqueles que adicionados a dieta não podem ser metabolizados durante os processos digestivos ou metabólicos. Assim, a produção líquida poderá ser medida pelo balanço de íons excretados na urina $(\text{Anions} - \text{Cátions})_{\text{exc}}$. Entretanto, o metabolismo, principalmente de proteínas, também produz alguns ácidos que devem ser incorporados na fórmula para usar esse termo de maneira correta. Esses componentes são chamados de produção de ácidos endógenos $(\text{H}^+_{\text{endo}})$ (AHMAD & SARWAR, 2006).

$$(\text{Ânions} - \text{Cátions})_{\text{ingeridos}} + \text{H}^+_{\text{endógeno}} - (\text{Ânions} - \text{Cátions})_{\text{excretados}} = 0 \text{ (Zero)}$$

A equação acima descreve o estado estacionário, no qual as aves estão em condições de equilíbrio, sem excesso ou deficiência de ácido ou de base. Quando ocorre um distúrbio com maior ingestão ou maior perda de ácido na

urina, produz um excesso de base no sangue que é qualificada como reserva alcalina (base excesso – $be_{reserva}$). Nestas condições a fórmula tem que ser reescrita:

$$(\text{Ânions} - \text{Cátions})_{\text{ingeridos}} + H^+_{\text{endógeno}} - (\text{Ânions} - \text{Cátions})_{\text{excretados}} + (be_{reserva}) = 0$$

(Zero)

E finalmente rearranjando a fórmula para:

$$(\text{Cátions} - \text{Ânions})_{\text{ingeridos}} - (\text{Cátions} - \text{Ânions})_{\text{excretados}} - H^+_{\text{endógeno}} = (be_{reserva})$$

Em condições práticas, a ingestão ótima de eletrólitos, em termos de equilíbrio ácido-base, pode minimizar a presença de be_{res} , tendendo a zero.

A habilidade do Na^+ ou K^+ para neutralizar os grupos (OH^-) e do Cl^- para neutralizar os íons hidrogênio (H^+), é expressa em termos de miliequivalentes (mEq) e leva em consideração o peso atômico ou a massa molecular para cada molécula com suas respectivas valências ou cargas. Em nutrição de aves, o balanço eletrolítico dietético (DEB) é expresso em mEq/kg de alimentos ou por 100g de dieta. No entanto, como a relação leva em consideração as quantidades independentes de ($Na^+ + K^+ - Cl^-$), é possível que dietas com diferentes níveis destes eletrólitos possam ter o mesmo balanço eletrolítico dietético (AHMAD & SARWAR, 2006).

Um exemplo de cálculo de balanço eletrolítico dietético para uma dieta contendo Na^+ (0,30%), K^+ (0,68%), Cl^- (0,30%) é mostrado a seguir (AHMAD & SARWAR, 2006):

- Sódio (0,30%): $0,30\%Na \times 10.000/23,0 = 130mEq Na^+/kg$
- Potássio (0,68%): $0,68\%K \times 10.000/39,1 = 174mEq K^+/kg$
- Cloro (0,30%): $0,30\%Cl \times 10.000/35,5 = 84mEq Cl^-/kg$

$$\text{BED mEq } (Na^+ + k^+ - Cl^-) = 130 + 174 - 84 = \mathbf{220mEq/kg \text{ de ração}}$$

Hurwitz et al. (1981), ao contrário de Mongin (1981), propuseram que o balanço entre Na^+ e Cl^- determine primariamente a concentração de HCO_3^- e o pH do plasma. Para os autores, o K^+ , Ca^{++} e Mg^{++} compõem os outros cátions e o HCO_3^- , as proteínas e outros ânions em baixas concentrações (fosfato,

sulfato, lactato e piruvato) são os ânions do plasma. O HCO_3^- e as proteínas (incluindo a hemoglobina) constituem os tampões básicos, e assim, como as BE_{exc} (bases excretadas em excesso), são consideradas componentes metabólicos do equilíbrio ácido-base. As be_{exc} expressam a quantidade de ácidos ou bases que, quando adicionadas em um litro de sangue, retornam o pH ao normal. Borges et al. (2007) contestam também que alguns fatores devem ser considerados na equação de Mongin (1981). A equação assume somente os íons Na^+ , K^+ e Cl^- , não levando em consideração os efeitos específicos de cada íon, bem como a forma que estes íons são ingeridos, o que pode limitar o uso da mesma. Outro fator é que, apesar de outros cátions e ânions também participarem no balanço ácido-base, esses não são considerados na equação devido a sua importância secundária.

Para frangos de corte, Mongin (1981) determinou que devam ser utilizados simultaneamente BE de 250 mEq/kg e relação $(\text{K}^+ + \text{Cl}^-)/\text{Na}^+$ deve ser maior que 1 (um). Borges et al. (2007) estabeleceram que um ótimo balanço contenha de 250 a 300 mEq/kg. Quando na ração foi adicionada uma fonte de proteína de subprodutos de origem animal alterou a balanço eletrolítico e o equilíbrio ácido-base devido ao aumento da produção de ácidos orgânicos e redução de Na^+ e K^+ , aumentando a quantidade relativa de Cl^- (PORTSMOUTH, 1984).

O BE também pode ser influenciado pelas condições ambientais. Frangos de corte criados em condições de alta temperatura, apresentaram reduzida excreção urinária de Cl^- e alta excreção de K^+ , Na^+ , P^{2-} , SO_4^{2-} , Mg^{+2} , Ca^{+2} e Mn^{+2} , quando comparado com frango a 24°C (Teeter & Belay, 1995). O aumento da frequência respiratória aumenta a perda de dióxido de carbono o que reflete na redução da pressão parcial do sangue de CO_2 , e uma elevação do pH sanguíneo. Assim a hiperventilação altera o balanço ácido-base produzindo alcalose. Contudo, a suplementação de íons fixos pode prevenir a alcalose respiratória e a perda de eletrólitos pelos rins (AHMAD et al., 2008).

Teeter & Belay (1995) citado por Murakami (2000) relataram que em experimentos usando dietas purificadas, o crescimento máximo aos 28 dias foi alcançado com um equilíbrio eletrolítico da dieta (EED) entre 250 a 350 mEq/kg, e abaixo dessa faixa as aves tiveram crescimento reduzido. Segundo Hulan et al. (1987), o BE entre 155 a 300 mEq/Kg não influenciou o ganho de

peso, a conversão alimentar e a incidência de discondroplasia tibial (DT). Johnson & Karunajeewa (1985) avaliando um EED de -29 a 553 mEq/kg recomendaram um BE de 250 a 350 mEq/kg, como ótimo para o crescimento de frango de corte até os 42 dias. Ahmad et al. (2008) observaram que não houve variação do ganho de peso e conversão alimentar para 50, 150 e 250 mEq/kg, sendo contra indicados os níveis de zero e de 350 mEq/kg, portanto não indicando um nível único de EED para animais submetidos a condições de estresse calórico.

O osso funciona como um sistema tamponante para ao controle ácido-base dos fluídos corporais. Dietas ácidas induzem a liberação de cátions (incluindo o Ca^{++}) do osso para o sangue com o objetivo de corrigir o pH. Essa perda de Ca^{++} produziria uma menor mineralização óssea, menores pesos, densidades e índice Peso/comprimento (IPC), porém, Oliveira et al. (2010) não observaram tais alterações em fêmures de frangos de cortes quando testaram valores diferentes de BED.

Considerando que o tecido ósseo possui grande quantidade de Na^+ , K^+ e Mg^{++} , sendo uma reserva destes íons, como é prioritário à integridade óssea, é de se esperar que qualquer alteração em nível de balanço ácido-base poderá produzir alterações na qualidade óssea. Estes minerais tamponantes geralmente estão disponíveis nos ossos para troca com o fluído extracelular. Porém, tais mobilizações podem ocorrer sem a dissolução da matriz óssea, pois estes processos são seletivos (Bergstrom & Wallace, 1954). O osso possui cerca de 30 vezes mais K^+ que o fluído extracelular, sendo a principal fonte deste eletrólito quando o corpo necessita (BROWN & JAFFE, 2000).

Já está bem definido que o balanço eletrolítico pode influenciar a incidência de DT (Sauveur, 1984). Existe evidência que a acidose metabólica produzida por altos níveis de cloro pode reduzir a formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que é essencial para a normal mineralização óssea (Mongin & Sauveur, 1977). Karunajeewa et al. (1986) observaram que balanço eletrolítico dietético de 150 – 300mEq/kg em dietas iniciais (1 a 21 dia de idade), não afetou o crescimento e o desenvolvimento do esqueleto. Halley et al. (1986) verificando a influência do balanço eletrolítico sobre o crescimento e a incidência de problemas de pernas em frangos de corte afirmaram que a manipulação de cátions e ânions da dieta pode aumentar ou diminuir a incidência de DT, indicando o efeito da

manipulação no conteúdo de eletrólitos da dieta, sobre a capacidade tampão do sangue, o que pode afetar funções do organismo tais como a mineralização do osso.

Altos teores de Cl^- associados a baixos níveis de Na^+ e K^+ podem resultar em maior incidência de problemas de pernas (Tardin 1995). Oliveira et al. (2003) quando avaliaram os ossos em frangos de corte com valores de BE da dieta de 205 a 305 mEq/kg, não verificam efeitos deletérios para os ossos. Moghaddam et al. (2005) testaram BE dietético de 187 a 284 mEq/kg em frangas e não observaram efeitos significativos no conteúdo de cinzas e de cálcio. Murakami et al, (2001) testaram níveis de Na^+ e Cl^- fornecidos na forma de NaCl e NaHCO_3 . O sódio fornecido na forma de NaHCO_3 não produziu efeito deletério na placa de crescimento da extremidade proximal da tíbia e não alterou a concentração de gases no sangue. Porém, o aumento das concentrações de Cl^- produziram uma hipertrofia da placa de crescimento epifisário da região proximal da tíbia. Estes autores recomendaram as doses de 250 a 261 mEq/kg para variações de sódio e 249 a 257 mEq/kg para variações do cloro. A dose recomendada do BE da dieta para frangos de corte de 21 a 42 dias foi de 249 a 261 mEq/kg.

Assim, objetivou-se avaliar a qualidade óssea de fêmures de frangos de corte submetidos a dietas com diferentes balanços eletrolíticos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e ração

Avaliou-se a composição química, bioquímica, física e biomecânica dos fêmures de frangos de corte aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade. Os fêmures avaliados nesse estudo foram obtidos a partir de um experimento realizado no Setor de Avicultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Campus São Vicente, Mato Grosso.

O trabalho foi dividido em dois experimentos, sendo que em ambos, as aves foram criadas de um até 42 dias de idade em galpão de alvenaria, com pé direito de três m de altura e durante o período experimental, foi adotado programa de luz contínuo (24 horas de luz natural + artificial). A temperatura e a umidade relativa do ar foram medidas com termômetro de máxima e mínima, termômetro de bulbo seco e úmido, respectivamente.

No primeiro experimento foram utilizados 936 pintos de corte, machos, da marca comercial Cobb, distribuídos em 36 boxes de 3,54 x 1,13m (4,0m²). Utilizou-se delineamento experimental em blocos ao acaso, com seis tratamentos (níveis de balanços eletrolíticos), seis repetições e 26 aves por unidade experimental. Registraram-se, durante o período experimental, médias de 30 e 23°C das temperaturas máximas e mínimas respectivamente, e média de umidade relativa do ar de 67%. Os animais foram distribuídos uniformemente nos boxes com um dia de idade e peso médio de 47g.

No segundo experimento foram utilizados 720 pintos de corte, machos, da marca comercial Cobb, distribuídos em 30 boxes de 3,54 x 1,13m (4,0m²) com piso de cimento coberto com maravalha. Foi utilizado delineamento experimental em blocos ao acaso, com cinco tratamentos (níveis de balanço eletrolítico), seis repetições e 24 aves por unidade experimental. Registraram-se, durante o período experimental, médias de 32 e 27 °C das temperaturas máximas e mínimas, respectivamente, e média de umidade relativa do ar de 79,5%. Os animais foram distribuídos uniformemente nos boxes com um dia de idade e peso médio de 48 g.

A ração controle, para ambos os experimentos, foi constituída de milho e farelo de soja, de forma a atender as recomendações nutricionais segundo

Rostagno (2000) para a fase inicial e de crescimento, compreendendo o período de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade, respectivamente, com balanço eletrolítico de 200 mEq/kg (Tabela 1). Cada ração controle foi suplementada com cloreto de amônio (NH₄Cl), em substituição ao material inerte de forma a obter seis níveis (-50, 0, 50, 100, 150 e 200 mEq/kg) de BE (Tabela 2) no primeiro experimento e com K₂CO₃ e NaHCO₃ em quantidades iguais de mEq/kg em substituição ao material inerte, de forma a obter cinco níveis (200; 250; 300; 350 e 400 m Eq/kg) de BE (Tabela 3) no segundo experimento, sendo que o tratamento de 200 mEq/kg foi o tratamento controle.

Os valores de BE foram calculados utilizando a seguinte fórmula sugerida por Mongin (1981):

$$BE = (\%Na^+ \times 100/22,990^*) + (\% K^+ \times 100/39,102^*) - (\%Cl^- \times 100/35,453^*)$$

(*Equivalente grama do Na⁺, K⁺ ou Cl⁻, respectivamente)

Aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade, uma ave de cada boxe com o peso médio da unidade experimental foi sacrificada por deslocamento cervical, tendo os fêmures de ambas as pernas removidos e limpos de todo tecido aderente, medidos seus comprimentos com um paquímetro (precisão de 0,02mm) e congelados a -20°C. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Animal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa.

Tabela 1 – Composição calculada das rações basais

Ingrediente	Ração inicial Ração crescimento		
	------(%)-----		
Milho	54,516	59,722	
Farelo de soja	36,179	30,524	
Óleo de soja	3,724	4,291	
Calcário	0,977	0,927	
Fosfato bicálcico	1,825	1,623	
DL-metionina (99%)	0,230	0,209	
L-lisina HCl (98%)	0,153	0,198	
Sal comum	0,456	0,462	
Carbonato de potássio	-	0,104	
Cloreto de amônio	0,062	-	
Cloreto colina (60%)	0,080	0,080	
Mistura vitamínica ¹	0,100	0,100	
Mistura mineral ²	0,050	0,050	
Virginamicina ³	0,050	0,050	
Anticoccidiano ⁴	0,050	0,050	
Antioxidante ⁵	0,010	0,010	
Areia lavada (inerte)	1,600	1,600	
Total	100,00	100,00	
Composição calculada			
Energia metabolizável	kcal/kg	3.000	3.100
Proteína bruta	%	21,40	19,30
Cálcio	%	0,960	0,874
Fósforo disponível	%	0,450	0,406
Sódio	%	0,222	0,222
Potássio	%	0,829	0,799
Cloro	%	0,386	0,359
Arginina digestível	%	1,336	1,177
Glicina + Serina	%	2,024	1,812
Metionina + Cistina digestível	%	0,807	0,741
Lisina digestível	%	1,143	1,045
Treonina digestível	%	0,717	0,643
Triptofano digestível	%	0,242	0,211
Balanço eletrolítico	mEq/kg	200	200

¹ Suplementação de vitaminas, minerais e aditivos / kg do produto. vitamina A - 10.000.000 UI; vitamina D3 - 2.000.000 UI; Vitamina E - 30.000 UI; Vitamina B1 - 2,0g; Vitamina B6 - 4,0 g; Ác. Pantotênico - 12,0g; Biotina - 0,10g; Vitamina K3 - 3,0 g; Ácido fólico - 1,0 g; Ácido nicotínico- 50,0 g; Vitamina B12 - 15.000 mcg; Selênio - 0,25 g; e Veículo q. s. p. - 1.000g

² Rologomix (Roche).- Níveis de garantia por quilo de produto: Manganês 16,0 g; Ferro - 100,0 g; Zinco - 100,0 g; Cobre - 20,0 g; Cobalto - 2,0 g; Iodo - 2,0 g; e Veículo q. s. p. - 1.000g

³ Stafac® - 50 %

⁴ Coxistac® (Salinomicina) - 12 %

⁵ Hidrox Butil Tolueno

Tabela 2 – Tratamentos constituídos pelas rações experimentais (inicial e crescimento) suplementadas com NH₄Cl – variação aniônica

BE (mEq/kg)	Ração Basal	Inerte	NH ₄ Cl	Total
	-----kg-----			
- 50	98,4	0,255	1,345	100
0	98,4	0,524	1,076	100
50	98,4	0,793	0,807	100
100	98,4	1,062	0,538	100
150	98,4	1,331	0,269	100
200	98,4	1,600	-	100

NH₄Cl – peso molecular (U.M.A.) = 53,45; pureza 99,5%

Tabela 3 – Tratamentos constituídos pelas rações experimentais (inicial e crescimento) suplementadas com K₂CO₃ e NaHCO₃ – variação catiônica

BE (mEq/kg)	Ração Basal	Inerte	K ₂ CO ₃	NaHCO ₃	Total
	-----kg-----				
200	98,4	1,600	-	-	100
250	98,4	1,213	0,175	0,212	100
300	98,4	0,827	0,349	0,424	100
350	98,4	0,440	0,524	0,636	100
400	98,4	0,054	0,698	0,848	100

NaHCO₃ – peso molecular (U.M.A.) = 84; pureza 99%

K₂CO₃ – peso molecular (U.M.A.) = 138,20; pureza 99,0%

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), versão 9.1, desenvolvido pela UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA (2006). Foram feitas análises de variância (5% de significância) dentro de cada idade. As médias dos tratamentos foram testadas pelo teste Dunnet a 5% de probabilidade.

3.2. Aspectos mecânicos e geométricos

Para determinação dos parâmetros biomecânicos, os fêmures das pernas esquerdas foram descongelados até atingir temperatura ambiente e, posteriormente, submetidos a um ensaio de flexão, sendo utilizada uma

máquina universal de ensaios mecânicos da marca EMIC, segundo a norma da American Society of Agricultural Engineers (ANSI/ASAE) S459-98 (1992). Todos os fêmures foram testados na mesma posição, com suas extremidades apoiadas em dois suportes apropriadamente afastados de acordo com seus comprimentos, e a carga tendo sido aplicada no centro (região da diáfise do osso) a uma velocidade constante de 10 mm/min. A distância entre os dois suportes variou com a idade testada, acompanhando o aumento do comprimento longitudinal dos ossos, sendo 17mm aos 7 dias, 20mm aos 14 dias, 28mm aos 21 dias e 45mm aos 42 dias de idade. Durante a aplicação do carregamento, os pares de pontos carga x deflexão foram continuamente armazenados pelo sistema de aquisição de dados acoplados à máquina de ensaios, resultando na curva carga x deflexão ($F \times \delta$) esquematizada na Figura 1.

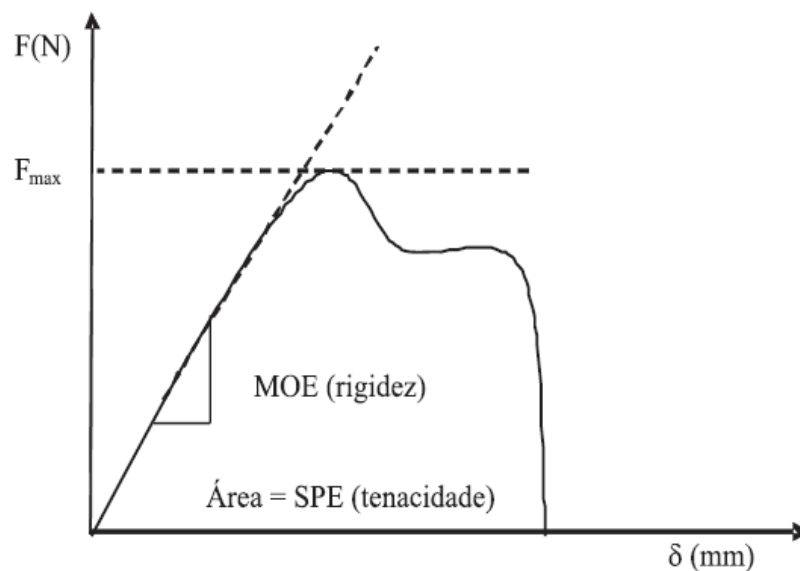


Figura 1 – Modelo geral da curva de carregamento de fêmures.

A partir desta curva ($F \times \delta$) foram determinados os parâmetros utilizados na caracterização do comportamento mecânico do osso, mas para determinação destes parâmetros também foi necessário a determinação das variáveis geométricas empregadas para determinação do momento de inércia e da área da seção transversal do osso, mostradas na Figura 2, considerando-se a seção transversal do osso uma elipse oca.

Para a determinação destas variáveis geométricas após os ensaios de flexão, removeu-se a medula óssea com jatos de água destilada, e tomaram-se

as medidas dos diâmetros e espessura na região da diáfise, onde houve ruptura do osso, com auxílio de um paquímetro (precisão de 0,02mm).

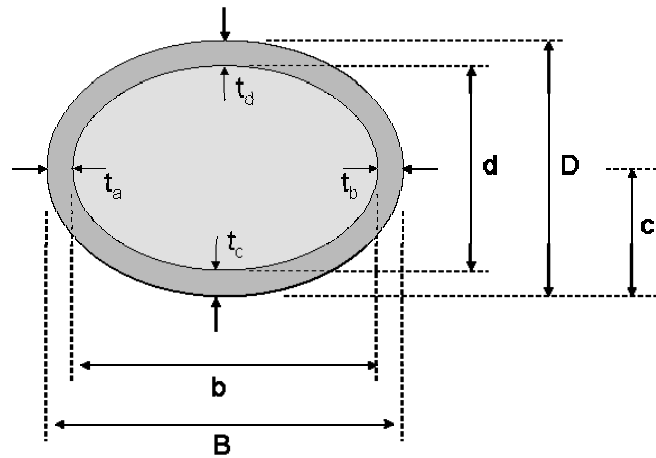


Figura 2 – Variáveis geométricas determinadas na seção transversal do fêmur, considerando-o uma elipse oca.

Na Figura 2, B representa o diâmetro externo correspondente à largura do osso e b o diâmetro interno, D representa o diâmetro externo correspondente à altura da seção transversal, pela disposição do osso no ensaio de flexão e d o diâmetro interno. Para a determinação dos diâmetros internos, foram empregados valores da espessura, t_a , t_b , t_c e t_d medidos no sentido da largura e altura. Utilizando-se as medidas das espessuras, as medidas dos diâmetros internos (b e d) foram calculados pelas equações 1 e 2. A área da seção transversal é determinada pela equação 3 e I é o momento de inércia (m^4) calculado pela equação 4 (ASAE):

$$b = B - 2\left(\frac{t_a + t_b}{2}\right) \quad 1$$

$$d = D - 2\left(\frac{t_c + t_d}{2}\right) \quad 2$$

$$A = \pi(BD - bd) \quad 3$$

$$I = 0,049 \left[(B.D^3) - (b.d^3) \right] \quad 4$$

A resistência à flexão, ou módulo de ruptura, MOR [Pa ou N/m²] é dada pela equação 5 (ASAE):

$$MOR = \frac{FLc}{4I} \quad 5$$

onde: F é a força máxima aplicada [N], L é a distância entre os suportes [m], c é a posição na seção transversal onde a tensão é máxima, ou seja, na face tracionada ou comprimida, cuja medida equivale à metade da altura da seção transversal (1/2 do diâmetro ósseo externo) (Figura 2).

Foram removidos dos fêmures direitos, após serem medidos e pesados, uma porção de 10mm da região central da diáfise. A medula óssea foi removida com jatos de água destilada e a gordura foi extraída utilizando-se éter de petróleo (temperatura de ebulição entre 40°C e 60°C), durante 12 horas, em aparelho Soxhlet, para a determinação da densidade, d (g/cm³) e porosidade, P (em %), usando o princípio de Arquimedes que relaciona as massas seca, saturada e submersa das amostras (RATH et al, 1999).

A massa seca, P_{sec}, foi determinada após a secagem do osso em estufa a 105°C por 16 horas ou peso constante em pesagens consecutivas. A determinação da massa saturada, P_{sat}, foi feita a seguir, após um período de saturação do osso de 24 horas em água destilada. De acordo com as equações 7 e 8, tanto a densidade quanto a porosidade são calculadas conhecendo-se o volume das amostras (cm³), que pelo princípio de Arquimedes, é dado pela diferença P_{sat}-P_{sub} (g). A massa submersa, P_{sub}, é obtida com a pesagem do osso saturado imerso em um recipiente com água.

$$d = \frac{P_{sec}}{Vol.} = \frac{P_{sec}}{P_{sat} - P_{sub}} \quad 7$$

$$P = 100 \cdot \frac{\text{Vol}_{\text{vazios}}}{\text{Vol.}} = 100 \cdot \frac{P_{\text{sat}} - P_{\text{sec}}}{P_{\text{sat}} - P_{\text{sub}}}$$

8

3.3. Aspectos químicos

Para a determinação dos teores de cinzas e minerais utilizaram-se os fragmentos ósseos anteriormente coletados para análise dos parâmetros geométricos, os quais já haviam sido desengordurados. Posteriormente, as amostras foram incineradas em mufla, a 550°C por 12 horas, resfriadas dentro de dessecador e novamente pesadas. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem de cinzas em relação ao peso do osso seco e desengordurado de acordo com Thorp & Waddington (1997).

Para a determinação dos teores de Na, K, Ca, P e Mg nas cinzas por espectrometria de absorção atômica, 10ml de ácido clorídrico (6M) foram adicionados às cinzas obtidas anteriormente após terem sido resfriadas, com a finalidade de descomplexar os cristais de hidroxiapatita, liberando os minerais. Estas amostras, contidas em cadinhos de porcelana, foram colocadas sobre uma placa de aquecimento e a solução foi evaporada em capela de exaustão até secar completamente. O precipitado foi então dissolvido através da adição de água destilada e deionizada e a solução filtrada em papel filtro em uma proveta e o volume completado para 30mL para a idade de sete e 14 dias de idade e para 50mL para as idades de 21 e 42 dias de idade (THORP & WADDINGTON, 1997).

3.4. Aspectos Bioquímicos

Os fêmures que foram utilizados para o teste de flexão foram cortados longitudinalmente, removendo-se a medula óssea com jatos de água destilada e deionizada. A seguir foram desengordurados com éter de petróleo, em aparelho de Soxhlet, por 12 horas e foram utilizados para a determinação das concentrações das proteínas não colagenosas (PNC) e de proteínas colagenosas (PC). Para tanto, os fêmures foram desmineralizados extensivamente com solução de sal dissódico de EDTA (ácido etilenodiamino

tetracético) 0,5M e pH 8,2, de acordo com o método proposto por Hauschka & Gallop (1977), para a extração das Gla-proteínas ósseas ou proteínas não colagenosas (PNC), cujos pesos moleculares são menores que 10kd. O fim da extração foi confirmado com o ácido oxálico que permite identificar a desmineralização completa. Após a extração, os volumes foram ajustados para 5mL para a idade de 7 dias, 14mL para 14 dias, 30mL para 21 dias e 80mL para 42 dias. As proteínas foram quantificadas na solução de EDTA pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

Depois de desengordurados e desmineralizados, os ossos foram lavados exaustivamente com água destilada e deionizada para a extração do EDTA, e então usados para determinação do teor de PC, utilizando-se o método Kjeldahl. O método é baseado na decomposição da matéria orgânica através da digestão da amostra a 400°C com ácido sulfúrico concentrado, em presença de sulfato de cobre como catalisador que acelera a oxidação da matéria orgânica. O nitrogênio presente na solução ácida resultante é determinado por destilação por arraste de vapor, seguida de titulação com ácido clorídrico 0,1N com fator de correção conhecido (Silva & Queiroz, 2006). O teor de PC foi obtido, multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Aspectos físicos

Para os aspectos físicos, a variação do BE de -50 a 200 mEq/kg nas rações interferiu ($P < 0,05$) nos parâmetros peso do osso seco e desengordurado e área da seção transversal na idade de sete dias (Tabela 4).

Tabela 4 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos sete dias

BE (mEq/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD** (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
-50	0,482 ^{ns}	0,178*	30,118 ^{ns}	0,698 ^{ns}	58,554 ^{ns}	0,043*
0	0,489 ^{ns}	0,168*	26,969 ^{ns}	0,716 ^{ns}	56,236 ^{ns}	0,041*
50	0,548 ^{ns}	0,190*	30,576 ^{ns}	0,730 ^{ns}	57,908 ^{ns}	0,044*
100	0,529 ^{ns}	0,176*	30,216 ^{ns}	0,704 ^{ns}	59,388 ^{ns}	0,043*
150	0,587 ^{ns}	0,202*	30,782 ^{ns}	0,723 ^{ns}	57,494 ^{ns}	0,042*
200	0,608	0,227	28,340 ^{ns}	0,732	56,823	0,064
CV***	19,01	16,64	13,04	7,66	4,46	24,75

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Peso do osso seco e desengordurado

*** Coeficiente de variação

Para os dois parâmetros que apresentaram diferenças significativas, o nível de BE controle (200m Eq/kg) apresentou maior valor em relação aos tratamentos (Figuras 3 e 4).

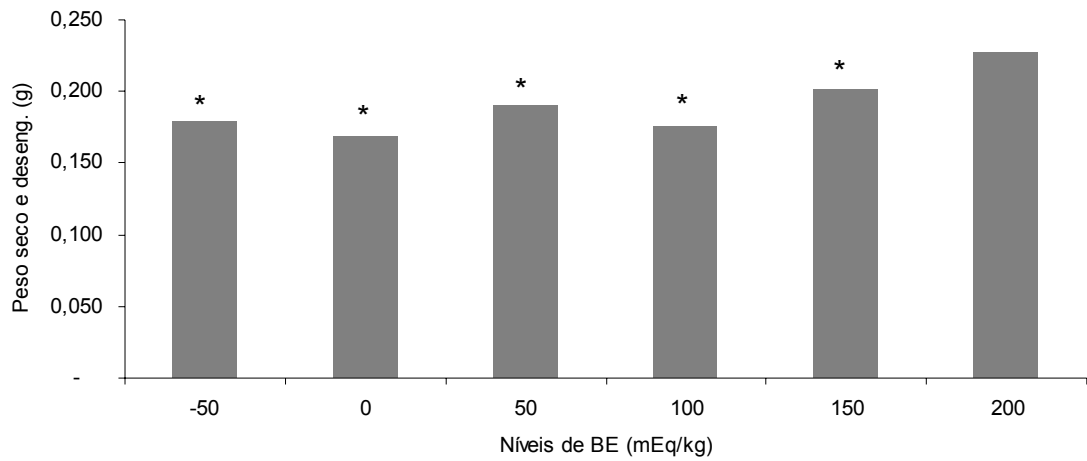


Figura 3 - Pesos secos e desengordurados dos fêmures de frangos de corte aos sete dias de idade.

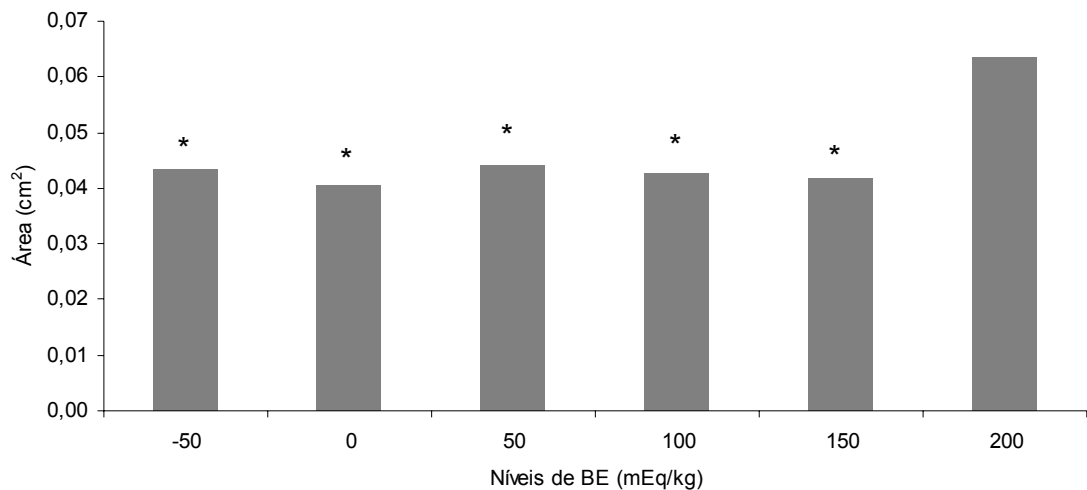


Figura 4 - Área da seção transversal dos fêmures de frangos de corte aos sete dias de idade.

A variação dos níveis de BE na dieta de 200 a 400 mE/kg não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros físicos dos fêmures dos frangos na idade de sete dias (Tabela 5).

Tabela 5 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos sete dias

BE (mE/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
200	0,713	0,223	31,081	0,721	59,112	0,054
250	0,683 ^{ns}	0,215 ^{ns}	31,019 ^{ns}	0,730 ^{ns}	57,959 ^{ns}	0,060 ^{ns}
300	0,677 ^{ns}	0,204 ^{ns}	31,253 ^{ns}	0,713 ^{ns}	59,429 ^{ns}	0,047 ^{ns}
350	0,675 ^{ns}	0,219 ^{ns}	28,823 ^{ns}	0,715 ^{ns}	60,178 ^{ns}	0,053 ^{ns}
400	0,667 ^{ns}	0,199 ^{ns}	30,011 ^{ns}	0,761 ^{ns}	56,837 ^{ns}	0,047 ^{ns}
CV**	16,42	15,02	9,93	5,38	4,05	19,46

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Peso do osso seco e desengordurado

** Coeficiente de variação

A variação dos níveis de BE de -50 a 200 mE/kg de dieta não foi significativo ($P>0,05$) para os parâmetros físicos dos fêmures dos frangos na idade de 14 dias (Tabela 6).

Tabela 6 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos 14 dias

BE (mE/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
-50	2,170 ^{ns}	0,758 ^{ns}	43,945 ^{ns}	0,788 ^{ns}	55,122 ^{ns}	0,143 ^{ns}
0	2,358 ^{ns}	0,801 ^{ns}	43,921 ^{ns}	0,786 ^{ns}	54,661 ^{ns}	0,164 ^{ns}
50	2,307 ^{ns}	0,788 ^{ns}	43,538 ^{ns}	0,791 ^{ns}	56,727 ^{ns}	0,169 ^{ns}
100	2,542 ^{ns}	0,853 ^{ns}	44,944 ^{ns}	0,836 ^{ns}	55,351 ^{ns}	0,166 ^{ns}
150	2,544 ^{ns}	0,837 ^{ns}	44,794 ^{ns}	0,796 ^{ns}	54,584 ^{ns}	0,178 ^{ns}
200	2,343	0,832	44,594	0,824	56,024	0,170
CV**	11,88	13,18	2,44	6,36	3,23	14,04

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Peso do osso seco e desengordurado

** Coeficiente de variação

A variação de 200 a 400 mEq/kg na dieta não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros físicos dos fêmures dos frangos na idade de 14 dias (Tabela 7).

Tabela 7 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos 14 dias

BE (mEq/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
200	2,293	0,793	43,125	0,822	52,386	0,190
250	2,356 ^{ns}	0,796 ^{ns}	43,854 ^{ns}	0,816 ^{ns}	52,976 ^{ns}	0,176 ^{ns}
300	2,316 ^{ns}	0,806 ^{ns}	44,600 ^{ns}	0,842 ^{ns}	52,010 ^{ns}	0,166 ^{ns}
350	2,185 ^{ns}	0,791 ^{ns}	43,647 ^{ns}	0,870 ^{ns}	52,347 ^{ns}	0,165 ^{ns}
400	2,119 ^{ns}	0,801 ^{ns}	43,810 ^{ns}	0,855 ^{ns}	52,805 ^{ns}	0,166 ^{ns}
CV**	7,98	7,99	2,87	4,05	1,98	13,61

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Peso do osso seco e desengordurado

O BE de -50 a 200 mEq/kg de dieta não interferiu ($P > 0,05$) nos parâmetros físicos dos fêmures dos frangos na idade de 21 dias (Tabela 8).

Tabela 8 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos 21 dias

BE (mEq/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
-50	3,922 ^{ns}	1,668 ^{ns}	53,823 ^{ns}	0,742 ^{ns}	58,154 ^{ns}	0,304 ^{ns}
0	3,460 ^{ns}	1,543 ^{ns}	53,327 ^{ns}	0,757 ^{ns}	56,926 ^{ns}	0,274 ^{ns}
50	4,637 ^{ns}	1,631 ^{ns}	55,508 ^{ns}	0,780 ^{ns}	54,901 ^{ns}	0,276 ^{ns}
100	4,678 ^{ns}	1,634 ^{ns}	55,125 ^{ns}	0,771 ^{ns}	55,162 ^{ns}	0,253 ^{ns}
150	4,607 ^{ns}	1,604 ^{ns}	54,436 ^{ns}	0,786 ^{ns}	54,364 ^{ns}	0,272 ^{ns}
200	4,634	1,605	54,803	0,813	53,776	0,280
CV**	14,86	13,01	4,19	8,20	4,69	16,73

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Peso do osso seco e desengordurado

** Coeficiente de variação

A variação de 200 a 400 mEq/kg de dieta não interferiu ($P > 0,05$) nos parâmetros físicos dos fêmures dos frangos na idade de 21 dias (Tabela 9).

Tabela 9 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos 21 dias

BE (mEq/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
200	4,449	1,638	54,358	0,910	53,250	0,275
250	5,055 ^{ns}	1,799 ^{ns}	56,608 ^{ns}	0,902 ^{ns}	52,458 ^{ns}	0,296 ^{ns}
300	4,804 ^{ns}	1,695 ^{ns}	54,578 ^{ns}	0,890 ^{ns}	52,922 ^{ns}	0,274 ^{ns}
350	4,602 ^{ns}	1,593 ^{ns}	54,443 ^{ns}	0,902 ^{ns}	53,430 ^{ns}	0,242 ^{ns}
400	5,033 ^{ns}	1,698 ^{ns}	55,908 ^{ns}	0,861 ^{ns}	53,882 ^{ns}	0,287 ^{ns}
CV**	11,37	12,31	3,37	4,28	3,19	18,24

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Peso do osso seco e desengordurado

** Coeficiente de variação

A variação dos níveis de BE da dieta de -50 a 200 mEq/kg (Tabela 10) e de 200 a 400 mEq/kg (Tabela 11) não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros físicos dos fêmures dos frangos na idade de 42 dias.

Tabela 10 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos 42 dias

BE (mEq/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
-50	12,472 ^{ns}	4,563 ^{ns}	76,129 ^{ns}	0,955 ^{ns}	40,170 ^{ns}	0,455 ^{ns}
0	12,399 ^{ns}	4,895 ^{ns}	75,436 ^{ns}	0,956 ^{ns}	42,288 ^{ns}	0,506 ^{ns}
50	12,777 ^{ns}	4,682 ^{ns}	76,855 ^{ns}	0,928 ^{ns}	41,566 ^{ns}	0,501 ^{ns}
100	13,542 ^{ns}	4,990 ^{ns}	78,803 ^{ns}	0,923 ^{ns}	40,098 ^{ns}	0,461 ^{ns}
150	13,324 ^{ns}	4,902 ^{ns}	77,350 ^{ns}	0,956 ^{ns}	41,098 ^{ns}	0,491 ^{ns}
200	13,407	4,834	78,540	0,946	38,594	0,476
CV**	10,00	8,72	3,64	5,64	5,94	15,26

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Peso do osso seco e desengordurado

** Coeficiente de variação

Tabela 11 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros físicos e geométricos dos fêmures das aves aos 42 dias

BE (mE/kg)	Peso <i>in natura</i> (g)	SD* (g)	Comprimento (mm)	Densidade (g/cm ³)	Porosidade (%)	Área (cm ²)
200	14,332	5,304	79,124	0,944	42,273	0,494
250	15,076 ^{ns}	5,356 ^{ns}	80,606 ^{ns}	0,949 ^{ns}	40,732 ^{ns}	0,481 ^{ns}
300	14,341 ^{ns}	5,102 ^{ns}	78,985 ^{ns}	0,961 ^{ns}	39,986 ^{ns}	0,490 ^{ns}
350	15,317 ^{ns}	5,334 ^{ns}	78,761 ^{ns}	0,928 ^{ns}	42,199 ^{ns}	0,530 ^{ns}
400	14,214 ^{ns}	5,079 ^{ns}	76,930 ^{ns}	0,985 ^{ns}	42,020 ^{ns}	0,494 ^{ns}
CV	10,12	8,15	3,69	6,74	7,42	14,66

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Peso do osso seco e desengordurado

** Coeficiente de variação

O balanço eletrolítico pode alterar o crescimento, o apetite, o metabolismo de certos nutrientes como aminoácidos, minerais e vitaminas, e também o desenvolvimento ósseo (Vieites et al., 2004). Os principais íons envolvidos no balanço eletrolítico são os cátions (Na⁺), potássio (K⁺) e o anion cloro (Cl⁻), porque estão em maior quantidade, além de serem prontamente absorvidos pela membrana intestinal, diferentemente dos íons divalentes que são absorvidos mais lentamente e estão em menores quantidades no líquido extracelular (Mogin, 1981). Tendo-se em conta que os ossos possuem grande quantidades destes íons monovalentes, principalmente o sódio e o potássio (Patience, 1990), alterações destes íons na dieta podem interferir diretamente no conteúdo destes elementos nos ossos e alterar suas propriedades físicas e químicas. No presente trabalho, aos sete dias de idade, o balanço de 200 mEq/kg (controle) para a variação aniônica apresentou maior área de seção transversal e maior peso seco desengordurado, demonstrando que este nível de balanço proporcionou uma maior massa óssea, pois os outros parâmetros como comprimento, peso *in natura*, densidade e porosidade não foram negativamente afetados nos outros níveis de -50, 0, 100 e 150 mEq/kg.

O aumento da área de secção transversal serve como um ajuste geométrico para o aumento do peso vivo (Biewener & Bertram, 1994). Todavia, nem sempre como demonstrado no presente trabalho, este ajuste é acompanhado de aumento do peso seco e desengordurado do osso. Muitas vezes, esse aumento do osso se deve ao aumento do conteúdo de água e

gordura, que preenchem os espaços vazios (Leterrier & Nys, 1992). Neste caso, a melhor estrutura óssea observada em 200 mEq/kg na idade de sete dias pode evitar deformações ósseas futuras, que geralmente levam a deformidades como desvios ou rotações observadas com maior frequência em fêmures (Applegate & Lilburn, 2002). Estas anormalidades no desenvolvimento e desafios metabólicos nesta fase inicial da vida podem se manifestar posteriormente como dificuldade de locomoção e dores (Dibner et al., 2007), o que prejudica o acesso aos comedouros e bebedouros afetando o desempenho das aves (Talaty et al., 2010). Oliveira et al. (2010) avaliaram diversos níveis de BED sobre os parâmetros do fêmur. Como no presente trabalho, em relação à variação catiônica, testaram níveis de BE entre 200 a 320 mEq/kg e observaram que um balanço eletrolítico de 200 mEq/kg pode ser usado sem prejuízo para a densidade óssea, a morfometria e também não alterou o índice peso/comprimento.

A densidade óssea é a massa do material por volume de osso e a manutenção da massa óssea é importante para a sua força, sendo que baixa densidade óssea aumenta o risco de fraturas (Rath et al., 2000). Apesar de existir uma alta correlação entre a densidade e força óssea, esta é imperfeita. As quantidades relativas e propriedades do mineral, matriz orgânica (principalmente colágeno tipo I), bem como a organização do osso em termos de escala micro e macroscópica determinam suas propriedades em termos de força mecânica. Uma consequência imediata causada devido à alta porosidade e fragilidade óssea é um aumento na incidência de quebra dos ossos causando acúmulo de fragmentos no músculo esquelético durante o processamento das aves (TALATY et al., 2010).

4.2. Aspectos químicos

Para os teores de minerais, aos sete dias, os tratamentos com BE de -50 a 200 mEq/kg de ração interferiram nas porcentagens de cinzas, na relação Ca/P e nos teores dos minerais Ca, P e Mg (Tabela 12). O nível de 150 mEq/kg não diferiu do controle para %Ca sendo maior que os outros tratamentos ($P < 0,05$), assim como também para o teor de P. Para o teor de Mg nas cinzas, todos os tratamentos diferiram do controle, apresentando menores valores

($P < 0,05$). Para o parâmetro relação Ca:P, os tratamentos de 0 e 50 mEq/kg diferiram do controle ($P < 0,05$) apresentando maiores valores e finalmente, o grupo controle (BE de 200 mEq/kg) apresentou o menor teor de cinzas em relação aos tratamentos ($P < 0,05$)

Tabela 12 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos sete dias

BE mE/kg	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%-----						
-50	12,98*	8,16*	0,41*	1,26 ^{ns}	1,87 ^{ns}	47,01*	1,59 ^{ns}
0	13,80*	8,28*	0,42*	1,22 ^{ns}	1,72 ^{ns}	49,79*	1,67*
50	12,95*	7,89*	0,39*	1,01 ^{ns}	1,38 ^{ns}	52,16*	1,64*
100	13,84*	8,78*	0,43*	1,28 ^{ns}	2,00 ^{ns}	42,51*	1,58 ^{ns}
150	15,57 ^{ns}	9,56 ^{ns}	0,47*	1,11 ^{ns}	1,63 ^{ns}	47,11*	1,63 ^{ns}
200	17,44	10,71	0,56	1,25	2,28	39,25	1,63
CV**	6,91	7,42	11,22	15,30	30,22	10,56	2,27

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

Para os dados que apresentaram resultado significativo (Ca, P, Mg, cinzas e Ca/P) foi montado o gráfico de barras (Figuras 5 a 9).

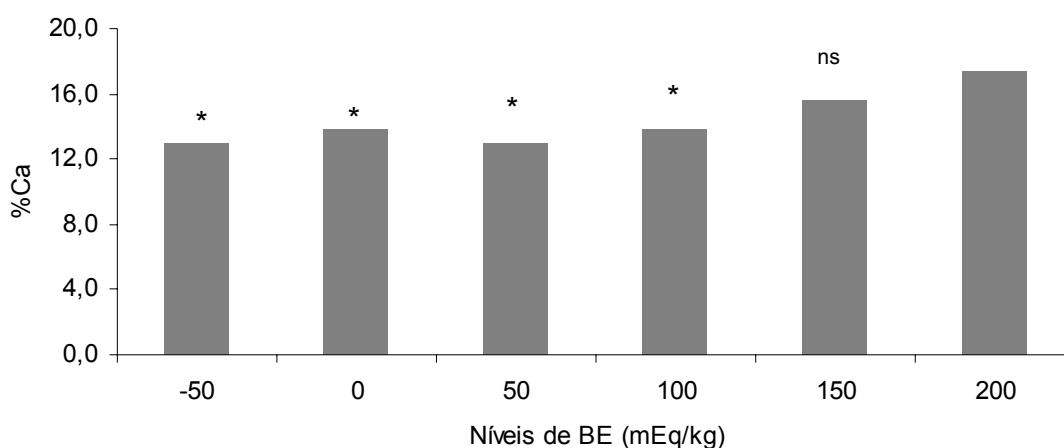


Figura 5 - Porcentagem de Ca nas cinzas dos fêmures aos sete dias de idade

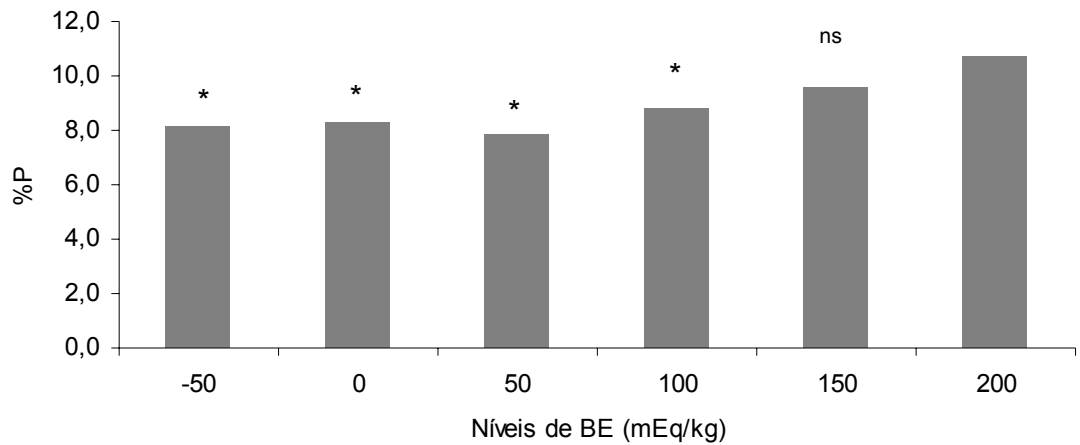


Figura 6 - Porcentagem de P nas cinzas dos fêmures aos sete dias de idade

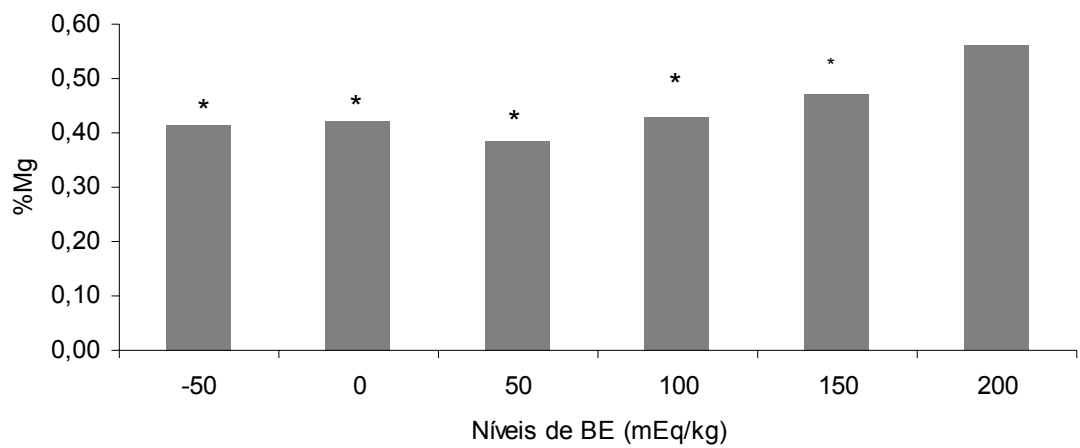


Figura 7 - Porcentagem de Mg nas cinzas dos fêmures aos sete dias de idade

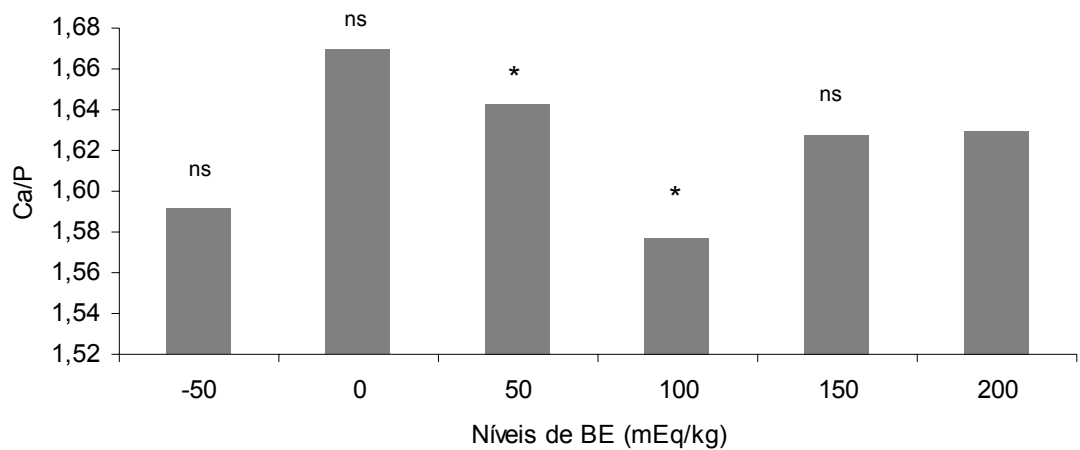


Figura 8 - Relação Ca/P nas cinzas dos fêmures aos sete dias de idade

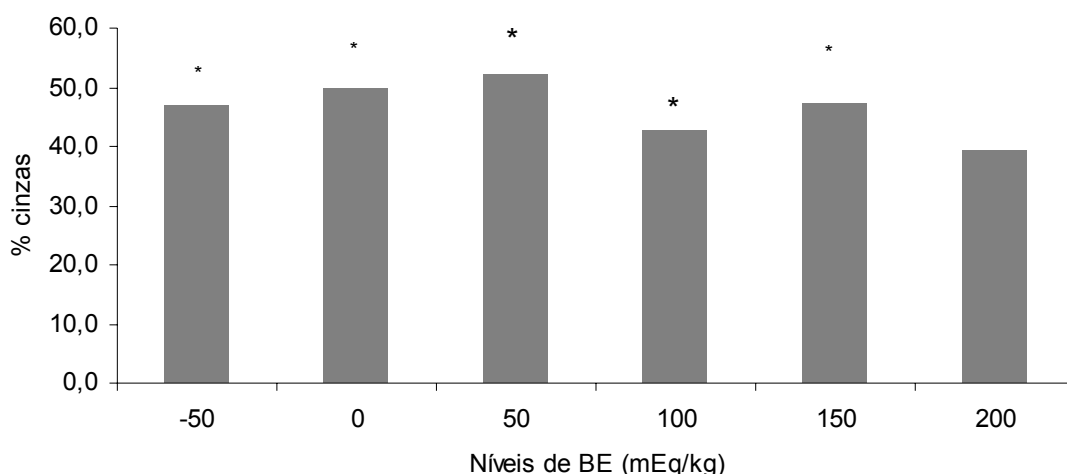


Figura 9 - Porcentagem de cinzas dos fêmures secos e desengordurados aos sete dias de idade

Para os teores de minerais na idade de sete dias os tratamentos de 200 a 400 mEq/kg interferiram na porcentagem de cinzas (Figura 10) e na relação Ca:P (Figura 11, Tabela 13) ($P < 0,05$). O grupo controle (BE de 200 mEq/kg) e o grupo que recebeu tratamento de 400 mEq/kg apresentaram menor teor de cinzas em relação aos demais tratamentos.

Tabela 13 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos sete dias

BE (mE/kg)	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%-----						
200	27,61	14,18	0,78	1,73	0,95	36,10	1,95
250	21,91 ^{ns}	11,26 ^{ns}	0,68 ^{ns}	1,26 ^{ns}	0,63 ^{ns}	43,18*	1,94 ^{ns}
300	20,51 ^{ns}	10,99 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,47 ^{ns}	0,81 ^{ns}	43,53*	1,85 ^{ns}
350	16,77 ^{ns}	9,22 ^{ns}	0,50 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,60 ^{ns}	44,60*	1,81 ^{ns}
400	18,64 ^{ns}	11,05 ^{ns}	1,28 ^{ns}	2,08 ^{ns}	1,36 ^{ns}	39,45 ^{ns}	1,61*
CV**	33,48	32,78	100,93	48,24	89,73	11,01	7,69

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

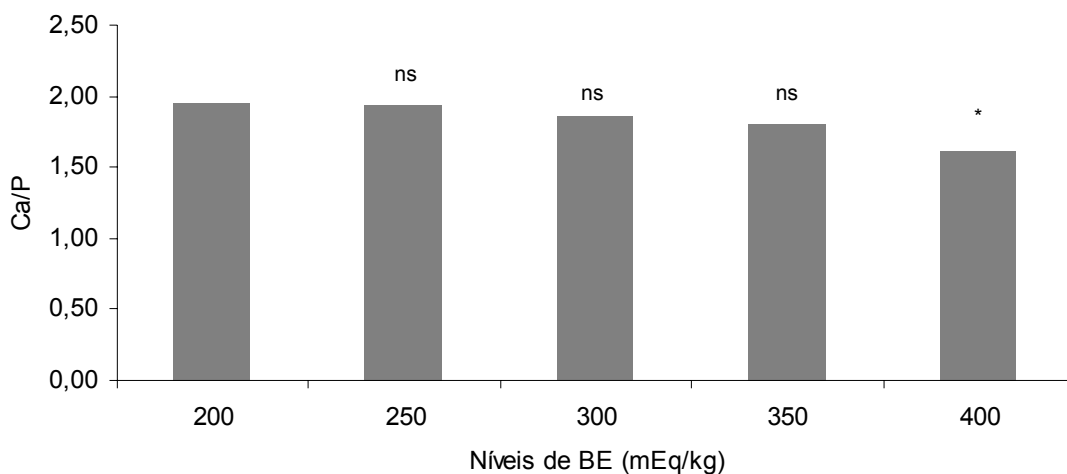


Figura 10 - Relação Ca/P nas cinzas dos fêmures aos sete dias de idade

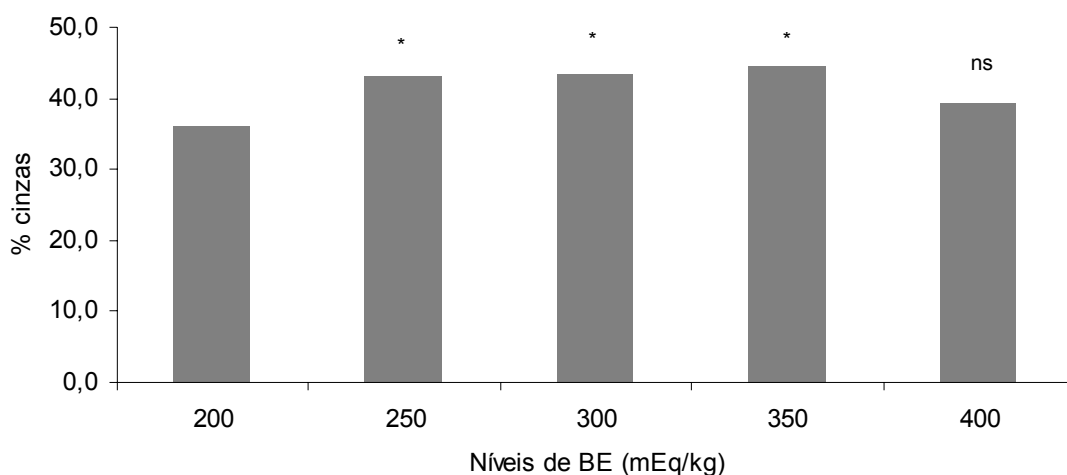


Figura 11 - Porcentagem de cinzas dos fêmures secos e desengordurados aos sete dias de idade

Para a idade de 14 dias, os tratamentos com níveis de -50 a 200 mEq/kg de BE interferiram nas porcentagem de Na nas cinzas, (Tabela 14) sendo que o grupo controle (BE de 200 mEq/kg) e o grupo alimentado com dieta contendo 100 mEq/kg apresentaram menor teor de Na em relação aos outros tratamentos (Figura 12) ($P < 0,05$).

Tabela 14 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos 14 dias

BE	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
mE/kg	-----%-----						
-50	14,80 ^{ns}	8,65 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,75*	1,05 ^{ns}	52,45 ^{ns}	1,71 ^{ns}
0	13,92 ^{ns}	8,06 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,73*	0,96 ^{ns}	53,45 ^{ns}	1,72 ^{ns}
50	13,18 ^{ns}	7,78 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,67*	0,90 ^{ns}	54,48 ^{ns}	1,69 ^{ns}
100	12,62 ^{ns}	7,58 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,82 ^{ns}	55,31 ^{ns}	1,67 ^{ns}
150	14,02 ^{ns}	8,32 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,68*	0,79 ^{ns}	52,82 ^{ns}	1,68 ^{ns}
200	14,08	8,38	0,41	0,63	0,85	55,29	1,68
CV**	9,59	9,58	13,36	11,58	16,68	4,31	2,23

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

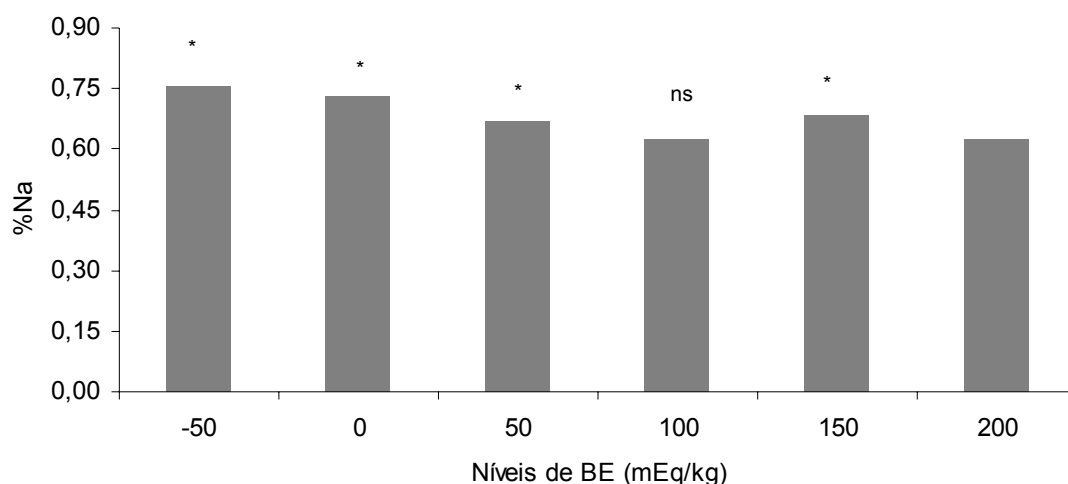


Figura 12 - Porcentagem de Na nas cinzas dos fêmures aos 14 dias de idade

Para a idade de 14 dias, o BE de 200 a 400 mEq/kg de dieta interferiu nos teores dos minerais Ca, P e Mg e na relação Ca/P ($P < 0,05$) (Tabela 15, Figuras 13 a 16).

Tabela 15 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos 14 dias

BE mE/kg	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%						
200	11,94	6,88	0,35	0,61	0,50	57,57	1,74
250	15,32*	7,71*	0,43*	0,61 ^{ns}	0,43 ^{ns}	57,49 ^{ns}	1,97*
300	19,14*	8,59*	0,51*	0,51 ^{ns}	0,38 ^{ns}	57,10 ^{ns}	2,24*
350	20,07*	9,03*	0,51*	0,54 ^{ns}	0,41 ^{ns}	59,87 ^{ns}	2,22*
400	21,17*	9,88*	0,52*	0,58 ^{ns}	0,44 ^{ns}	55,48 ^{ns}	2,14*
CV**	9,89	6,78	9,31	15,40	26,29	8,15	6,83

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

Para teor de Ca (Figura 13) o grupo controle (BE de 200 mEq/kg) apresentou o maior teor de cinzas em relação aos tratamentos ($P < 0,05$), sendo o mesmo resultado para a porcentagem de P (Figura 14) e de Mg nas cinzas (Figura 15).

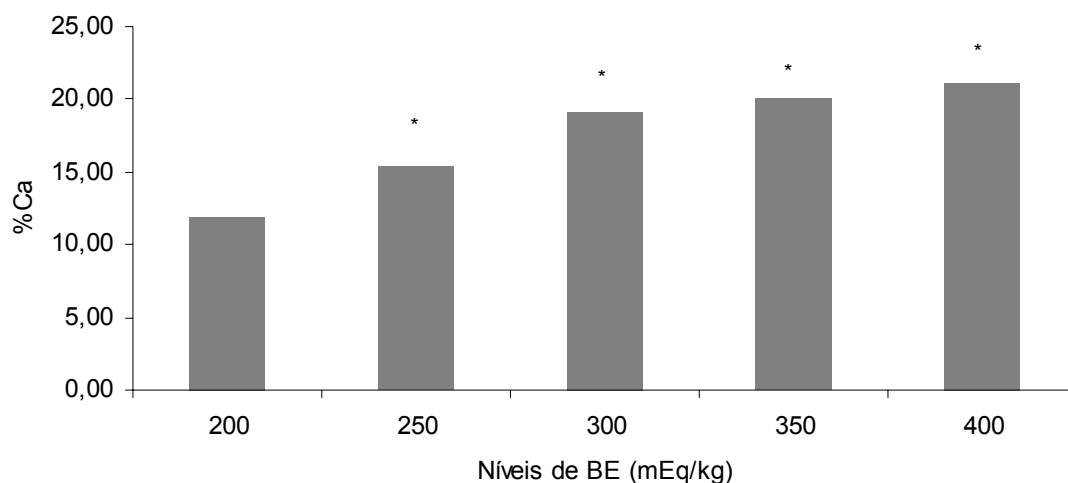


Figura 13 - Porcentagem de Ca nas cinzas dos fêmures aos 14 dias de idade

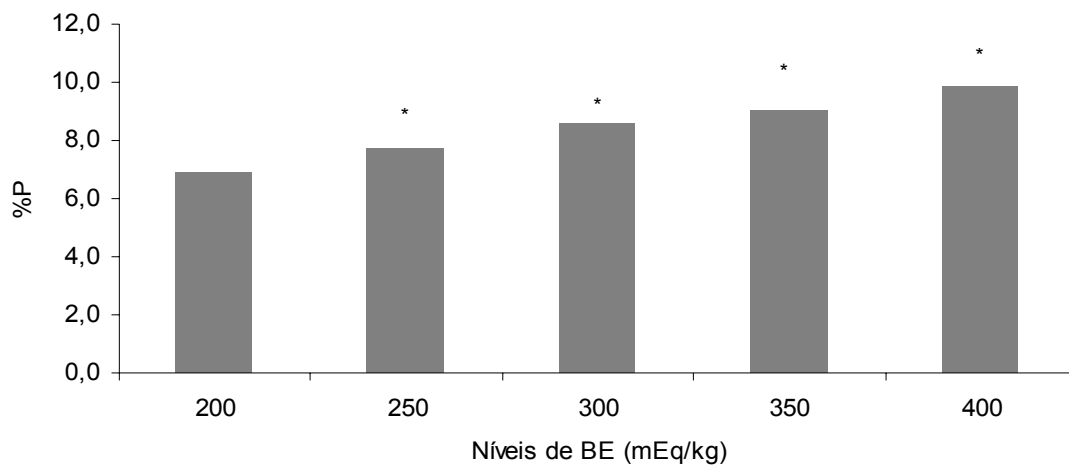


Figura 14 - Porcentagem de P nas cinzas dos fêmures aos 14 dias de idade

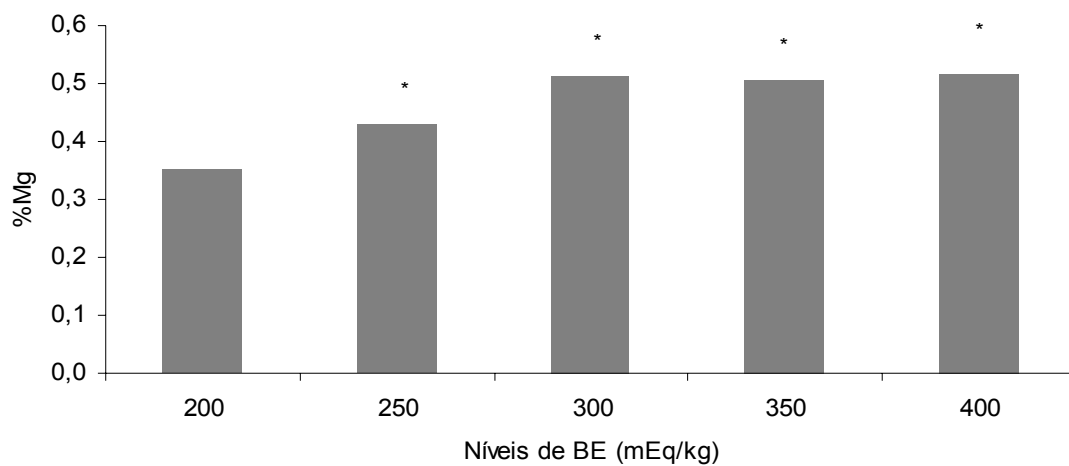


Figura 15 - Porcentagem de Mg nas cinzas dos fêmures aos 14 dias de idade

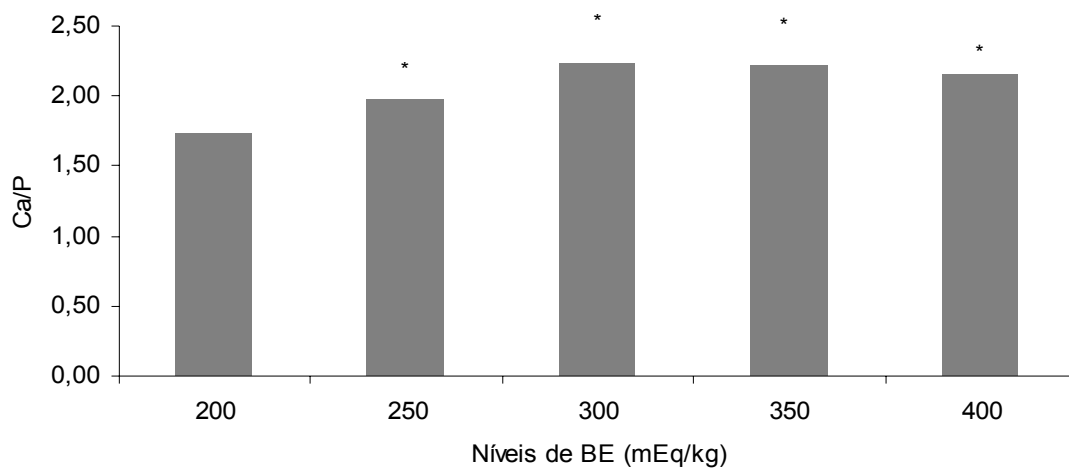


Figura 16 - Relação Ca:P dos fêmures aos 14 dias de idade

A variação dos níveis de BE na dieta de -50 a 200 mEq/kg não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros químicos dos fêmures dos frangos na idade de 21 dias (Tabela 16).

Tabela 16 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos 21 dias

BE mE/kg	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%-----						
-50	20,25 ^{ns}	12,48 ^{ns}	0,67 ^{ns}	1,18 ^{ns}	0,56 ^{ns}	53,71 ^{ns}	1,62 ^{ns}
0	20,92 ^{ns}	12,31 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,22 ^{ns}	0,61 ^{ns}	53,64 ^{ns}	1,70 ^{ns}
50	20,03 ^{ns}	11,64 ^{ns}	0,62 ^{ns}	1,14 ^{ns}	0,61 ^{ns}	55,24 ^{ns}	1,72 ^{ns}
100	19,73 ^{ns}	11,92 ^{ns}	0,58 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,67 ^{ns}	54,27 ^{ns}	1,66 ^{ns}
150	20,55 ^{ns}	12,42 ^{ns}	0,62 ^{ns}	1,25 ^{ns}	0,65 ^{ns}	56,37 ^{ns}	1,66 ^{ns}
200	16,95	9,91	0,59	1,16	0,58	55,90	1,61
CV*	25,06	24,60	18,84	21,55	20,53	4,93	7,92

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* Coeficiente de variação

Para os teores de minerais na idade de 21 dias os tratamentos com BE de 200 a 400 mEq/kg não interferiram na relação nos parâmetros avaliados ($P>0,05$) (Tabela 17).

Tabela 17 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos 21 dias

BE mE/kg	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%-----						
200	18,76	11,04	0,59	1,04	0,56	57,61	1,70
250	18,58 ^{ns}	11,40 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,51 ^{ns}	56,27 ^{ns}	1,63 ^{ns}
300	19,57 ^{ns}	11,83 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,57 ^{ns}	57,36 ^{ns}	1,65 ^{ns}
350	19,70 ^{ns}	11,62 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,67 ^{ns}	57,55 ^{ns}	1,70 ^{ns}
400	19,17 ^{ns}	11,47 ^{ns}	0,60 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,60 ^{ns}	56,43 ^{ns}	1,67 ^{ns}
CV**	4,68	4,72	6,90	10,67	14,61	2,87	2,43

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

Na idade de 42 dias, a variação do balanço eletrolítico na dieta de -50 a 200 mEq/kg interferiu nos teores de Ca (Figura 17) na relação Ca:P (Figura 18) dos fêmures (Tabela 18). O grupo controle (BE de 200 mEq/kg) apresentou o menor teor de Ca nas cinzas ($P < 0,05$). A relação Ca:P, o tratamento de 150 mEq/kg foi igual ao controle apresentando menores valores em relação aos outros tratamentos ($P < 0,05$).

Tabela 18 – Variação aniônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos 42 dias

BE mE/kg	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%-----						
-50	25,69*	13,35 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,68 ^{ns}	57,94 ^{ns}	1,93*
0	28,82*	14,17 ^{ns}	0,79 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,60 ^{ns}	57,00 ^{ns}	2,03*
50	27,70*	13,79 ^{ns}	0,78 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,68 ^{ns}	56,96 ^{ns}	2,01*
100	29,10*	14,87 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,72 ^{ns}	57,72 ^{ns}	1,96*
150	18,65*	11,48 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,68 ^{ns}	57,76 ^{ns}	1,63 ^{ns}
200	16,64	10,14	0,58	0,86	0,67	55,80	1,54
CV**	22,61	25,37	23,00	27,18	31,48	2,73	6,97

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

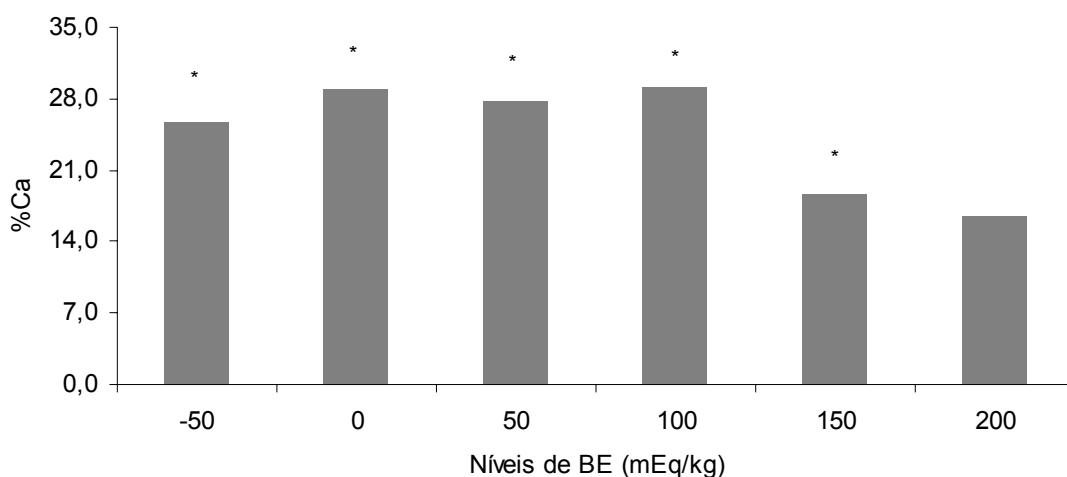


Figura 17 - Teores de Ca nas cinzas dos fêmures aos 42 dias de idade

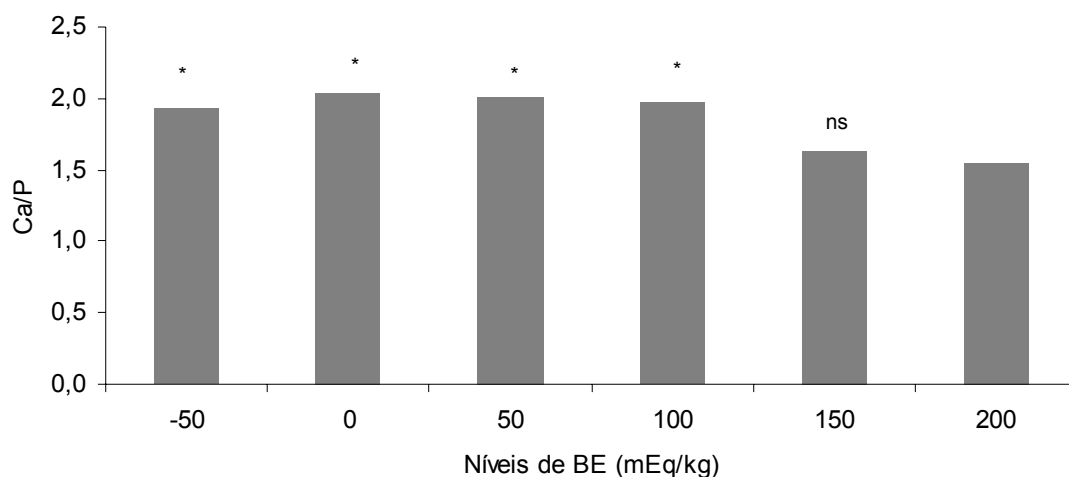


Figura 18 - Relação Ca:P nas cinzas dos fêmures aos 42 dias de idade

Na idade de 42 dias os tratamentos com diferentes níveis de balanço eletrolítico (200 a 400 mEq/kg) interferiram na relação Ca:P (Figura 22) e nos teores dos minerais Ca, P e Mg (Tabela 19, Figuras 19 a 21). O Ca no nível de 350mEq/kg não diferiu do controle sendo menor que os outros tratamentos ($P < 0,05$), assim como também o teores de P e Mg. Para o parâmetro relação Ca:P (Figura 22), apenas o tratamento de 350 mEq/kg diferiu do controle ($P < 0,05$) apresentando menor valor.

Tabela 19 – Variação catiônica da dieta sobre parâmetros químicos dos fêmures secos e desengordurados das aves aos 42 dias

BE mE/kg	Ca	P	Mg	Na	K	Cinzas	Ca/P
	-----%-----						
200	25,66	13,60	0,73	0,86	0,45	58,10	1,89
250	24,22 ^{ns}	13,65 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,51 ^{ns}	57,25 ^{ns}	1,77 ^{ns}
300	22,79 ^{ns}	12,89 ^{ns}	0,64*	0,91 ^{ns}	0,44 ^{ns}	58,69 ^{ns}	1,77 ^{ns}
350	18,95*	11,62*	0,58*	0,86 ^{ns}	0,49 ^{ns}	58,17 ^{ns}	1,63*
400	18,35*	10,64*	0,54*	0,85 ^{ns}	0,50 ^{ns}	57,82 ^{ns}	1,73 ^{ns}
CV**	9,35	4,81	6,23	7,67	22,01	3,21	7,14

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

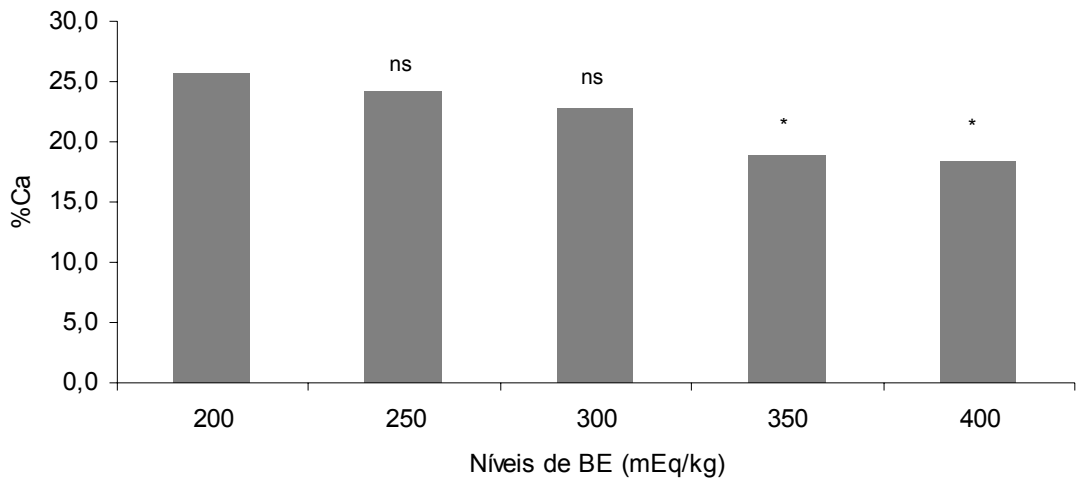


Figura 19 - Teores de Ca nas cinzas dos fêmures aos 42 dias de idade

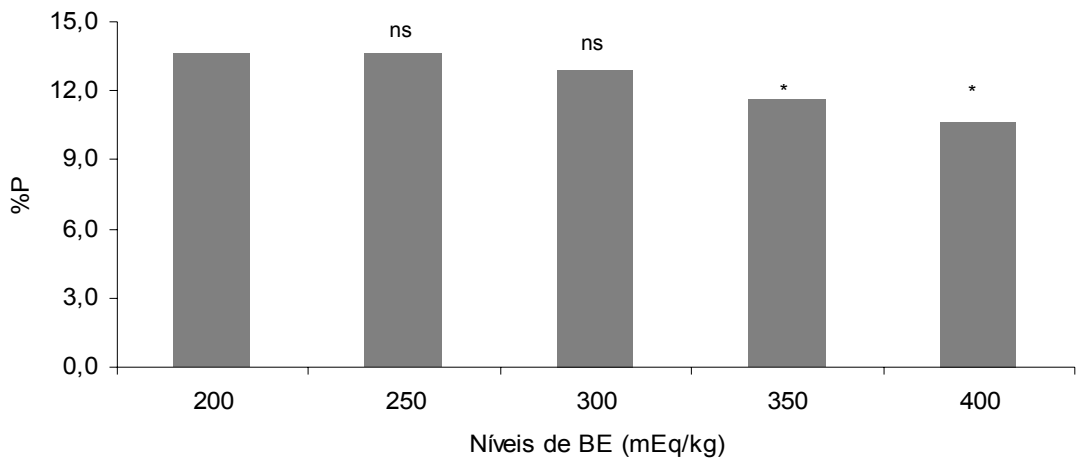


Figura 20 - Teores de P nas cinzas dos fêmures aos 42 dias de idade

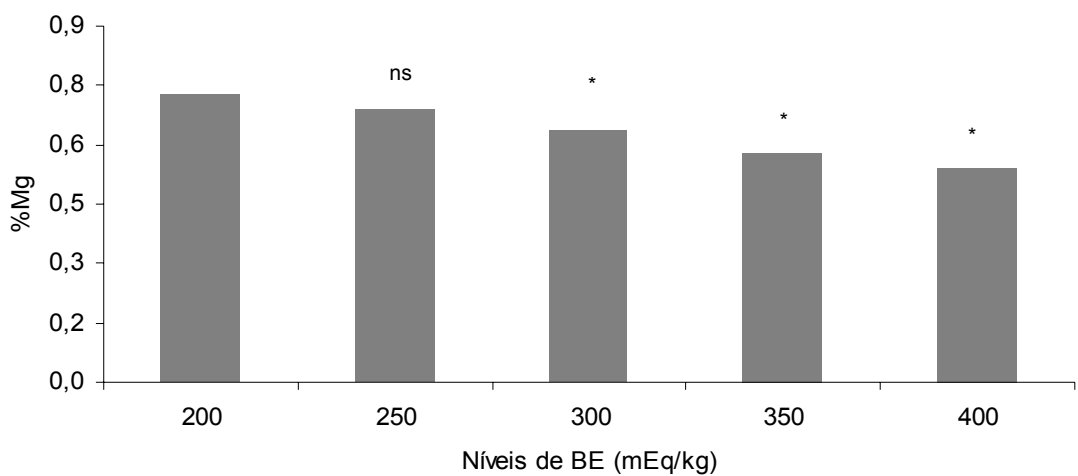


Figura 21 - Teores de Mg nas cinzas dos fêmures aos 42 dias de idade

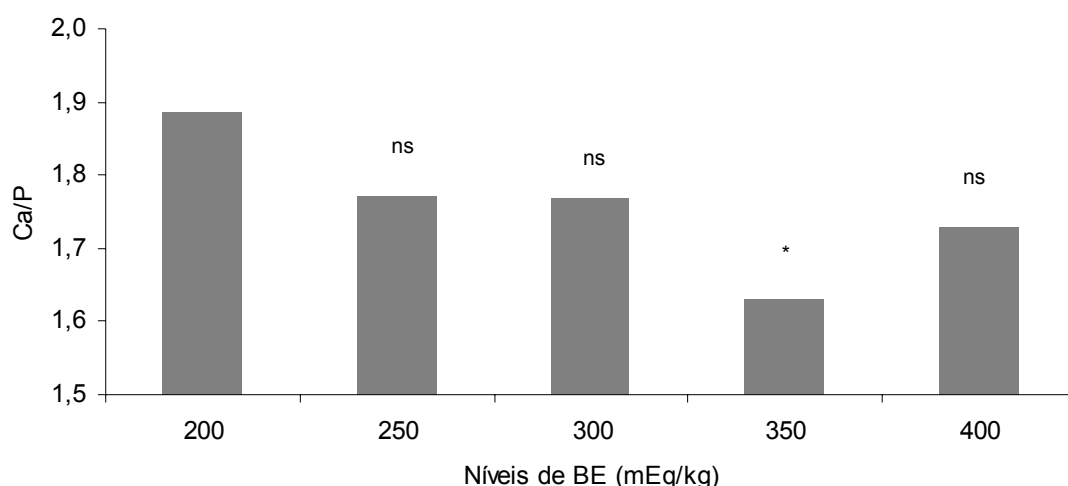


Figura 22 - Relação Ca:P nas cinzas dos fêmures aos 42 dias de idade

Embora o desempenho e a retenção de minerais sejam medidas importantes em qualquer alteração dietética, as concentrações plasmáticas e ósseas são geralmente mais sensíveis do que os fatores de desempenho para avaliar disponibilidade de minerais (OLIVEIRA et al., 2008).

Araújo (2009) verificando diferentes balanços eletrolíticos em frangos de corte, encontrou maior teor de Ca nas cinzas no nível de -50 mEq/kg na idade de sete dias diferente do encontrado no presente trabalho que foi o nível de 200 mEq/kg.

O desequilíbrio entre o sódio, potássio e o cloro pode induzir anormalidades de pernas. O aumento da quantidade de cloro da dieta aumenta as anormalidades das cartilagens, especialmente quando o conteúdo de sódio e potássio está baixo na dieta (Waldenstedt, 2006). Nesse estudo foi verificado que na idade de sete dias na variação aniônica à medida que se aumentou a quantidade de cloro, as porcentagens de cálcio e fósforo foram também reduzidas. O excesso de cloro leva a uma acidose metabólica que pode reduzir a capacidade de síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que é essencial para o estímulo da absorção do Ca a nível intestinal (Waldenstedt, 2006). Porém, nas idades de 14 e 21 dias este efeito não foi observado. Na idade de 42 dias observou-se o contrário, com redução dos níveis de cálcio com o balanço de 200mEq/kg, onde havia menores quantidades equimolares de cloro. Por outro lado, Vieites et al. (2004) verificaram que o melhor valor de BE para a deposição de cálcio em tíbias foi de 132 mEq/kg para ração com 23% de proteína bruta para

frangos de corte aos 21 dias de idade. Dietas suplementadas com NH_4Cl e NaHCO_3 demonstraram efeito de aumentar a excreção de cálcio através dos rins, isto porque o osso funciona como um sistema tamponante para o controle ácido-base dos fluídos corporais.

Dietas ácidas induzem a liberação de cátions (incluindo o cálcio) do osso para o sangue corrigindo seu pH, para cada mol de Ca depositado nove moles de ácido são liberados (Patience 1990). A acidose metabólica estimula primeiro a dissolução mineral e depois a reabsorção óssea mediada por células devido à maior excreção de cálcio pelos rins (Oliveira et al., 2010). Como no presente trabalho a %Ca foi crescente quando se diminuiu o teor de cloro na dieta, pode-se sugerir que, pelo menos no primeiro experimento aos sete dias, em níveis de BE mais baixos o osso possa ter fornecido cálcio para o sangue, culminando com menor %Ca no osso. Porém, no segundo experimento com variação catiônica de 200 a 400 mE/kg, o aumento do balanço eletrolítico também reduziu o conteúdo de Ca e P nos ossos à medida que aumentou o balanço eletrolítico. A quantidade de cálcio no osso tem sido associada à fragilidade óssea, mostrado por Thorp & Waddington (1997) que observaram que ossos com valores inferiores de Ca fraturavam mais durante o processamento. Crespo et al. (2002) também encontraram maior incidência de fraturas de fêmures em perus adultos que possuem menores porcentagens de Ca.

Embora as relações de Ca:P tenham sido afetadas significativamente nas idades de sete e 42 dias, para os valores de balanço eletrolítico de 150 e 200 mEq/kg no primeiro experimento com variação aniônica, foi observado que os valores foram mantidos mais próximos do que Williams et al. (2000) preconizam como relação ideal, 1,67:1. Embora, Field (2000) considere que a relação ideal fica em torno de 2:1. Aos 42 dias houve uma diferenciação dos tratamentos, porque os balanços de -50, 0, 50 e 100 mE/kg apresentaram um aumento na relação Ca:P ficando em torno de 2:1. No entanto, Williams et al. (2000) afirmaram que não observaram diferenças nas propriedades mecânicas dos ossos com relação ao Ca:P que variaram de 1,82:1 até 3,89:1. Embora, também no segundo experimento tenha sido observado um efeito significativo com valor menor para o balanço de 350 mEq/kg, não foi observado o mesmo em nível de 400 mEq/kg, não sendo portanto explicado. Araújo (2009)

observou que o nível de BE estimado de 73 mEq/kg, foi o que proporcionou a menor relação Ca:P em tíbias de frangos de corte submetidos aos mesmos níveis de tratamentos do presente trabalho.

O sódio é o cátion que existe em maior quantidade nos líquidos extracelulares (Évora et al., 1999). A composição de sais dos ossos não é fixa, mas reflete o estado de equilíbrio químico do corpo. Distúrbios severos no balanço ácido-base ou no suprimento de certos eletrólitos são refletidos na composição de sais dos ossos. Ainda, não é surpresa que uma quantidade de sódio e potássio possa ser mobilizada do esqueleto sob circunstâncias apropriadas.

Estas mobilizações podem ocorrer sem uma dissolução geral da matriz do cristal, pois o sódio e o potássio estão presentes numa forma prontamente disponível numa parte do osso denominada de fluido extracelular, que não estão incorporados na matriz óssea (Brown & Jaffe, 2000). Isto foi confirmado por Bergstrom & Wallace (1954), os quais indicaram uma troca desproporcional entre Na e Ca no osso. Portanto, as relações de Ca:P só serão alteradas durante um período de acidose prolongada, na qual a reserva de sódio e potássio ósseo que estão prontamente disponíveis para troca com prótons H^+ estiverem esgotadas, sendo necessária a dissolução da matriz óssea e com conseqüente liberação de Ca e P do osso. No presente trabalho a quantidade de sódio nos fêmures aos quatorze dias foi significativamente menor no balanço de 200 mEq/kg no experimento aniônico. Este resultado contradiz ao previamente exposto, pois se espera que haja menos quantidade tanto de Na quanto de K à medida que se aumenta a quantidade de Cl, pois este é acidogênico e induz a retirada dos cátions monovalentes de suas reservas ósseas. Nas outras idades não houve influência para os níveis de Na e K pelo Cl. Ossos de animais mais jovens possuem maiores quantidades de água e estão em fase de constante remodelamento o que proporciona maior possibilidade de liberação de íons para servirem ao sistema tamponante sistêmico, em contrapartida, animais mais velhos possuem ossos mais maduros com redução do conteúdo de água e com maior quantidade de regiões onde não ocorrem trocas de íons no interior do cristal (Green & Kleeman, 1991). As porcentagens de Na e K em todas as idades não foram significativamente alterados em função dos tratamentos, apenas aos 14 dias da

variação aniônica, ao contrário do que se esperava, em 200 mEq/kg foi menor, tendo-se em consideração o papel destes íons monovalentes como primeira linha de defesa contra alterações do equilíbrio ácido-base no organismo (WALDENSTEDT, 2006; BROWN & JAFFE, 2000).

Embora, outros elementos mostraram influenciar as desordens de pernas em frangos, o efeito da deficiência de magnésio sobre o desenvolvimento das placas de crescimento e deslocamento do tendão gastrocnêmio estão bem documentados, e algumas evidências sugerem que a interação com altos teores de fósforo e cálcio na dieta podem ser um fator complicante. O magnésio pode ser incorporado no lugar do Ca em quantidades dependentes da sua concentração sanguínea (Waldenstedt, 2006). No tecido ósseo 60% do magnésio corporal estão presentes nos ossos. Diferentemente do potássio e do cloro, que são facilmente e totalmente trocados no osso, o magnésio e o sódio podem penetrar na camada superficial da matriz óssea e são menos facilmente trocados nesta fase. Portanto, a resposta às alterações catiônicas provenientes de deficiências nutricionais ou acidose metabólica difere em termos de respostas para o sódio e potássio *versus* magnésio. O magnésio ósseo será mobilizado principalmente durante uma deficiência deste elemento e não em resposta às mudanças de pH. Isso foi comprovado no presente trabalho, onde não houve diferenças significativas de magnésio em praticamente todos os tratamentos, apenas sendo maior significativamente para 200 mEq/kg na idade de sete dias no experimento aniônico e aos 14 e 42 dias no experimento catiônico, determinando que o balanço de 200 mEq/kg foi o que proporcionou maior deposição óssea de magnésio nestas duas idades.

Os principais compostos das cinzas ósseas são: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 80%; CaCO_3 13%; $\text{Mg}(\text{PO}_4)_2$ 2%. O cálcio é o maior componente das cinzas. Embora, o conteúdo de cinzas possa variar em função de uma série de fatores, a proporção de Ca varia pouco entre as espécies ou localização anatômica. A deficiência de Ca e P dietético podem ocasionar redução do conteúdo de cinzas, (Field, 2000). No presente trabalho as porcentagens de cinzas encontradas estão em conformidade com (Thorpe & Waddington, 1997), que obtiveram 55,6% em frangos de corte com 35 dias de idade. Embora, para as outras idades mais jovens tenham sido observados valores semelhantes aos de 42 dias, Field (2000) considera que a idade, conseqüentemente a

maturidade, do osso interfira na porcentagem de cinzas. Leterrier & Nys (1992) também observaram o aumento das porcentagens de cinzas em tíbias com o aumento da idade, variando de 26% ao primeiro dia de vida até o máximo de 39% aos 22 dias de idade. Contrariamente ao que se esperava, o balanço eletrolítico de 200 mEq/kg aos sete dias de idade apresentou valores significativamente menores de cinzas do que os outros tratamentos na variação aniônica e também na variação catiônica, o balanço de 200 mEq/kg e de 400mEq/kg apresentaram menores valores de cinzas. Diferindo de Araújo (2009) que encontrou o menor valor para cinzas no balanço eletrolítico de -50mEq/kg, tendo observado que o teor de cinzas aumentou à medida que foi reduzida a inclusão de NH_4Cl nas rações, comprovando efeito negativo da acidificação da dieta sob a mineralização óssea. Moghaddam et al. (2005) não encontraram diferenças nos teores de cinza e cálcio quando variaram o balanço eletrolítico em frangas entre sete a 35 dias de idade.

4.3. Proteínas colagenosas e não colagenosas

Para os teores de proteínas colagenosas e não colagenosas os tratamentos com BE de -50 a 200 mEq/kg interferiram significativamente apenas na idade de 21 dias para proteína colagenosa (Tabela 20) sendo que apenas o nível de 150 mEq/kg não diferiu do controle sendo menores que os outros tratamentos ($P < 0,05$) (Figura 23).

Tabela 20 – Variação catiônica da dieta sobre os teores de proteínas colagenosas e não colagenosas dos fêmures em diferentes idades

BE (mE/kg)	% de proteína colagenosa				% de proteína não colagenosa			
	7 dias	14 dias	21 dias	42 dias	7 dias	14 dias	21 dias	42 dias
-50	59,16 ^{ns}	51,14 ^{ns}	40,15*	46,67 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,39 ^{ns}
0	55,54 ^{ns}	53,37 ^{ns}	43,65*	46,97 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,41 ^{ns}
50	56,21 ^{ns}	51,71 ^{ns}	41,83*	46,99 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,43 ^{ns}
100	62,31 ^{ns}	53,35 ^{ns}	44,48*	49,11 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,40 ^{ns}
150	56,34 ^{ns}	52,06 ^{ns}	51,35 ^{ns}	47,02 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,50 ^{ns}
200	55,62	47,57	48,13	46,76	0,75	0,36	0,49	0,43
CV**	9,88	8,24	12,68	11,29	19,90	23,08	24,03	19,80

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

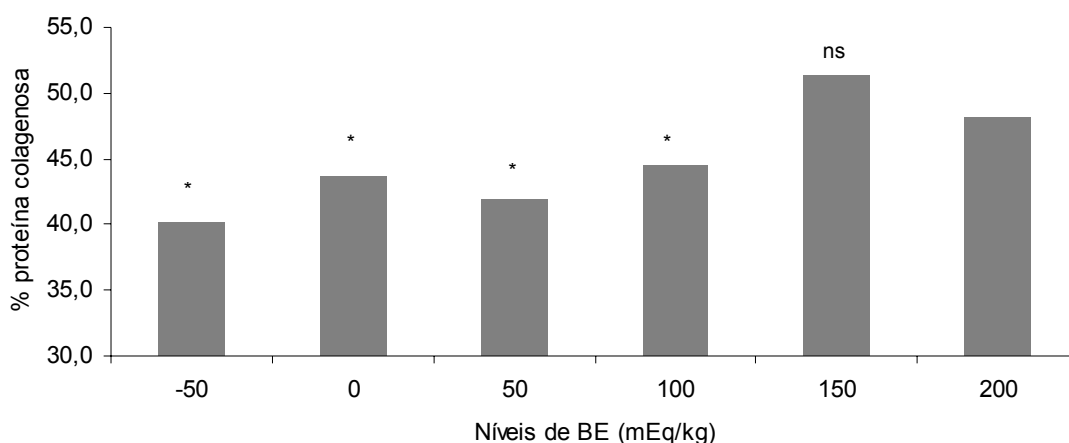


Figura 23 - Teor de proteína colagenosa nos fêmures aos 21 dias de idade

Para a variação de 200 a 400 mEq/kg não interferiu ($P > 0,05$) nos teores de proteínas colagenosas e não colagenosas nas idades avaliadas dos fêmures dos frangos (Tabela 21), demonstrado pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade.

Tabela 21 – Variação aniônica da dieta sobre os teores de proteínas colagenosas e não colagenosas dos fêmures em diferentes idades

BE (mEq/kg)	%proteína colagenosa				% proteína não colagenosa			
	7 dias	14 dias	21 dias	42 dias	7 dias	14 dias	21 dias	42 dias
200	57,76	47,55	48,52	49,15	0,75	0,71	0,79	0,45
250	54,91 ^{ns}	46,26 ^{ns}	48,89 ^{ns}	49,50 ^{ns}	0,88 ^{ns}	0,73 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,41 ^{ns}
300	56,35 ^{ns}	49,91 ^{ns}	50,24 ^{ns}	49,11 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,37 ^{ns}
350	53,28 ^{ns}	50,55 ^{ns}	51,27 ^{ns}	48,35 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,38 ^{ns}
400	56,44 ^{ns}	49,32 ^{ns}	49,82 ^{ns}	50,85 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,39 ^{ns}
CV**	5,12	5,98	10,16	8,99	18,77	19,52	21,55	24,87

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

A matriz orgânica do osso contém várias famílias de proteínas, incluindo, colágenos, proteoglicanos e glicoproteínas. Todas podem ser extensivamente modificadas por eventos pós-traducionais como fosforilação, sulfatação. Algumas destas proteínas contêm o ácido carboxiglutâmico, que é uma carboxilação do resíduo do aminoácido glutâmico na proteína, sendo que outro grupo possui um tripeptídeo interno Arg-Gly-Asp. Estas proteínas são sintetizadas pelos osteoblastos, células progenitoras destes. Estas características auxiliam no processo de modelação e remodelação óssea (Robey et al., 1993). Anormalidades do tecido ósseo podem estar associadas aos altos teores de proteínas não colagenosas dos ossos das pernas de frangos de corte. O aumento de Gla-proteínas está implicado tanto na mineralização óssea quanto pela estimulação à liberação de cálcio do osso (Moraes et al., 2010). Como no presente trabalho não houve diferença significativa nos teores de proteína não-colagenosa, pode-se afirmar que o BE de -50 a 400 mEq/kg não gerou desequilíbrio metabólico a ponto de interferir no parâmetro proteína não colagenosa nas condições avaliadas. Diferente do presente trabalho, Oliveira et al. (2006) encontraram que o nível do BE de 153 mEq/kg possibilitou maior deposição de PNC nos ossos das aves aos 21 dias de idade.

As propriedades ósseas são proporcionadas pelos seus constituintes principais, água, minerais e matriz orgânica, principalmente o colágeno tipo I. Porém, as relações das quantidades entre eles interferem em algumas características biomecânicas relacionadas às propriedades de suportar carga (Currey, 2003). O colágeno é o principal componente protéico do osso compreendendo 90% de seu conteúdo. Sua presença serve para fornecer tenacidade à estrutura óssea, que em última análise, permite que o osso sofra flexão sem se quebrar. Portanto, o colágeno permite ao osso suportar maior carga, independente de sua rigidez que é proporcionada pelos cristais de apatita. No presente trabalho só foi observada diferença significativa aos 21 dias para os balanços de 150 e 200 mEq/kg para proteína colagenosa, contrariamente ao que se esperava, pois, nestes níveis as proporções de minerais dos ossos deveriam ser maiores (e não apresentaram diferença significativa). Porém, aos 21 dias, o balanço eletrolítico adequado pode interferir no crescimento do animal, fazendo com que os ossos também se desenvolvam mais, com maior velocidade no ciclo de remodelação óssea, impedindo a deposição de uma matriz óssea mais madura (Crespo et al., 2002). Outro aspecto que pode ter contribuído para não observação nos diferentes níveis de balanço eletrolítico é que regiões diferentes do mesmo osso possuem níveis de mineralização diferentes. Regiões onde existe maior quantidade de ossos esponjosos são menos mineralizadas e podem expressar melhor certas diferenças. Como no presente trabalho as proteínas colagenosas foram tomadas dos ossos inteiros, outras regiões menos sensíveis, como a região mediana dos ossos, podem ter mascarado as diferenças da região de crescimento ósseo (MUAMBA & GERVER, 1989).

4.4. Parâmetros biomecânicos e geométricos

Para os parâmetros biomecânicos na idade de sete dias, as dietas contendo BE de -50 a 200 mEq/kg interferiram apenas nos valores da força máxima na flexão (Tabela 22). O grupo controle (BE de 200mEq/kg) apresentou o maior valor em relação aos tratamentos ($P < 0,05$) (Figura 24).

Tabela 22 – Variação aniônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de sete dias

BE (mEq/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
-50	22,579*	9,417 ^{ns}	11,109 ^{ns}	2,90E-12 ^{ns}	1,401 ^{ns}
0	23,822*	10,901 ^{ns}	12,459 ^{ns}	2,64E-12 ^{ns}	1,370 ^{ns}
50	27,174*	11,308 ^{ns}	13,510 ^{ns}	2,85E-12 ^{ns}	1,395 ^{ns}
100	24,388*	9,926 ^{ns}	10,349 ^{ns}	2,81E-12 ^{ns}	1,362 ^{ns}
150	27,043*	12,178 ^{ns}	13,528 ^{ns}	2,61E-12 ^{ns}	1,368 ^{ns}
200	41,967	11,862	11,998	4,87E-12	1,554
CV**	31,94	17,95	28,74	40,14	8,56

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

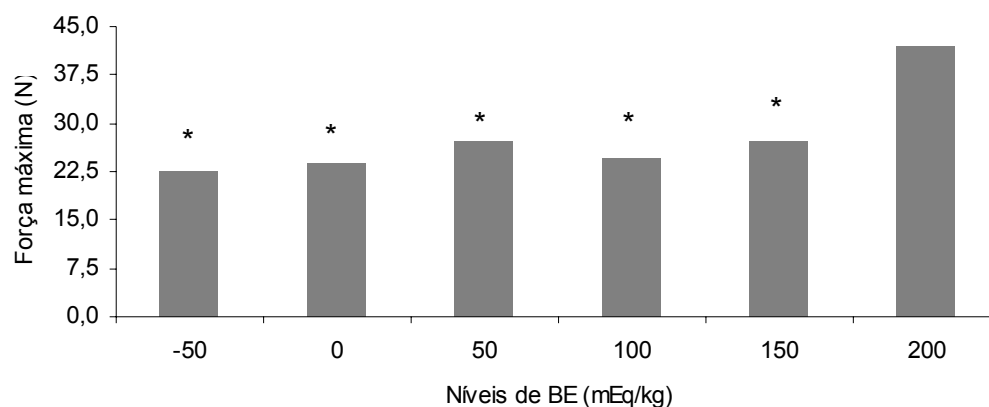


Figura 24 - Força máxima na tensão dos fêmures aos sete dias de idade

A variação de 200 a 400 mEq/kg da dieta não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros biomecânicos avaliados nos fêmures dos frangos na idade de sete dias (Tabela 23).

Tabela 23 – Variação catiônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de sete dias

BE (mEq/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
200	33,534	12,725	11,721	3,24E-12	1,404
250	37,327 ^{ns}	11,856 ^{ns}	11,637 ^{ns}	4,06E-12 ^{ns}	1,477 ^{ns}
300	30,051 ^{ns}	11,597 ^{ns}	10,649 ^{ns}	3,09E-12 ^{ns}	1,413 ^{ns}
350	34,678 ^{ns}	12,434 ^{ns}	13,054 ^{ns}	3,41E-12 ^{ns}	1,433 ^{ns}
400	31,654 ^{ns}	13,559 ^{ns}	12,351 ^{ns}	2,91E-12 ^{ns}	1,378 ^{ns}
CV**	26,39	25,55	30,93	29,49	6,57

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

A variação dos níveis de BE na dieta de -50 a 200 mEq/kg não interferiu (P>0,05) nos parâmetros biomecânicos avaliados nos fêmures dos frangos na idade de 14 dias (Tabela 24).

Tabela 24 – Variação aniônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de 14 dias

BE (mE/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
-50	91,057 ^{ns}	7,688 ^{ns}	8,498 ^{ns}	3,12E-11 ^{ns}	2,605 ^{ns}
0	96,042 ^{ns}	7,245 ^{ns}	10,350 ^{ns}	3,80E-11 ^{ns}	2,723 ^{ns}
50	90,294 ^{ns}	6,919 ^{ns}	7,878 ^{ns}	3,72E-11 ^{ns}	2,689 ^{ns}
100	99,349 ^{ns}	7,160 ^{ns}	7,542 ^{ns}	3,81E-11 ^{ns}	2,688 ^{ns}
150	76,254 ^{ns}	4,600 ^{ns}	4,889 ^{ns}	4,73E-11 ^{ns}	2,882 ^{ns}
200	117,000	8,266	8,887	3,92E-11	2,733
CV**	31,96	29,15	50,96	25,31	7,40

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

A variação de 200 a 400 mEq/kg dos níveis de BE na dieta também não interferiu (P>0,05) nos parâmetros biomecânicos avaliados nos fêmures dos frangos na idade de 14 dias (Tabela 25).

Tabela 25 – Variação catiônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de 14 dias

BE (mEq/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
200	141,280	8,898	10,957	4,64E-11	2,835
250	125,454 ^{ns}	8,609 ^{ns}	11,796 ^{ns}	4,09E-11 ^{ns}	2,760 ^{ns}
300	130,113 ^{ns}	9,969 ^{ns}	13,316 ^{ns}	3,67E-11 ^{ns}	2,650 ^{ns}
350	122,085 ^{ns}	8,581 ^{ns}	12,393 ^{ns}	3,83E-11 ^{ns}	2,724 ^{ns}
400	105,968 ^{ns}	8,014 ^{ns}	7,418 ^{ns}	3,81E-11 ^{ns}	2,691 ^{ns}
CV**	14,97	14,52	24,13	27,88	7,72

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

Para a variação de -50 a 200 mEq/kg na idade de 21 dias não houve interferência nos valores da tenacidade na flexão (Tabela 26). O único tratamento que diferiu do controle (BE de 200 mEq/kg) foi o tratamento de 50 mEq/kg que apresentou valor maior ($P < 0,05$) (Figura 25) segundo o teste Dunnett a 5% de probabilidade.

Tabela 26 – Variação aniônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de 21 dias

BE (mEq/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
-50	193,568 ^{ns}	7,206 ^{ns}	10,662 ^{ns}	1,49E-10 ^{ns}	3,892 ^{ns}
0	177,937 ^{ns}	7,715 ^{ns}	9,954 ^{ns}	1,23E-10 ^{ns}	3,704 ^{ns}
50	208,875 ^{ns}	9,441 ^{ns}	16,132*	1,29E-10 ^{ns}	3,740 ^{ns}
100	187,257 ^{ns}	8,836 ^{ns}	10,909 ^{ns}	1,07E-10 ^{ns}	3,587 ^{ns}
150	175,776 ^{ns}	7,701 ^{ns}	12,230 ^{ns}	1,28E-10 ^{ns}	3,740 ^{ns}
200	183,954	7,928	11,773	1,18E-10	3,628
CV**	21,76	21,84	26,35	27,81	6,78

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

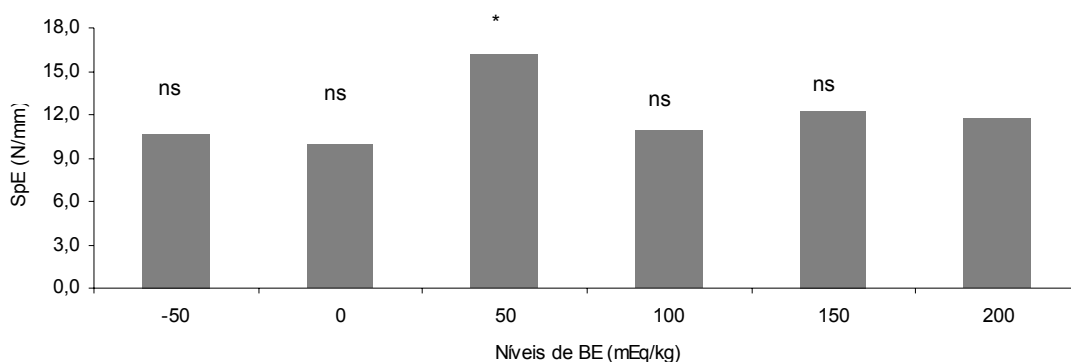


Figura 25 - Tenacidade na flexão dos fêmures aos 21 dias de idade

A variação dos níveis de BE na dieta de 200 a 400 mEq/kg não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros biomecânicos avaliados nos fêmures dos frangos na idade de 21 dias (Tabela 27).

Tabela 27 – Variação catiônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de 21 dias

BE (mE/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
200	202,462	9,407	10,055	1,09E-10	3,509
250	258,788 ^{ns}	10,825 ^{ns}	14,943 ^{ns}	1,29E-10 ^{ns}	3,700 ^{ns}
300	206,909 ^{ns}	10,166 ^{ns}	11,721 ^{ns}	1,11E-10 ^{ns}	3,527 ^{ns}
350	204,244 ^{ns}	11,712 ^{ns}	12,872 ^{ns}	8,33E-11 ^{ns}	3,291 ^{ns}
400	226,905 ^{ns}	10,041 ^{ns}	13,957 ^{ns}	1,22E-10 ^{ns}	3,624 ^{ns}
CV**	16,91	21,10	22,69	37,69	9,89

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

As variações dos níveis de BE na dieta de -50 a 200 e de 200 a 400 mEq/kg (Tabelas 28 e 29, respectivamente) não interferiram ($P>0,05$) nos parâmetros biomecânicos avaliados nos fêmures dos frangos na idade de 42 dias.

Tabela 28 – Variação aniônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de 42 dias

BE (mE/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
-50	313,495 ^{ns}	8,140 ^{ns}	13,096 ^{ns}	4,93E-10 ^{ns}	5,326 ^{ns}
0	328,324 ^{ns}	7,496 ^{ns}	13,004 ^{ns}	5,31E-10 ^{ns}	5,368 ^{ns}
50	277,466 ^{ns}	6,600 ^{ns}	13,367 ^{ns}	5,36E-10 ^{ns}	5,390 ^{ns}
100	269,137 ^{ns}	7,385 ^{ns}	12,172 ^{ns}	4,61E-10 ^{ns}	5,201 ^{ns}
150	273,464 ^{ns}	6,278 ^{ns}	16,790 ^{ns}	5,41E-10 ^{ns}	5,468 ^{ns}
200	249,606	5,989	13,263	4,94E-10	5,321
CV**	25,28	23,96	34,89	26,23	7,10

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

Tabela 29 – Variação catiônica da dieta sobre os parâmetros biomecânicos dos fêmures na idade de sete dias

BE (mE/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
200	324,564	7,155	16,697	6,02E-10	5,660
250	292,260 ^{ns}	7,027 ^{ns}	14,980 ^{ns}	5,57E-10 ^{ns}	5,535 ^{ns}
300	287,482 ^{ns}	6,873 ^{ns}	16,724 ^{ns}	5,50E-10 ^{ns}	5,478 ^{ns}
350	330,597 ^{ns}	6,551 ^{ns}	13,124 ^{ns}	6,34E-10 ^{ns}	5,708 ^{ns}
400	309,064 ^{ns}	6,610 ^{ns}	11,942 ^{ns}	5,58E-10 ^{ns}	5,539 ^{ns}
CV**	16,44	27,65	30,12	29,32	8,37

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

** Coeficiente de variação

O osso funciona como um sistema tamponante para o controle ácido-base dos fluídos corporais. Dietas ácidas induzem a liberação de cátions (incluindo o cálcio) do osso para o sangue para corrigir seu pH (Oliveira et al., 2010). A acidose metabólica estimula primeiro a dissolução mineral e depois a reabsorção óssea mediada por células devido à maior excreção de cálcio pelos rins (Riond, 2001; Oliveira et al., 2010). Essa perda de cálcio resultaria em menor mineralização óssea, podendo afetar a qualidade mecânica dos ossos do animal. As quantidades relativas e propriedades do mineral, matriz orgânica

(principalmente colágeno tipo I), determinam suas propriedades em termos de força mecânica.

No presente trabalho, aos sete dias de idade para o BE de 200 mEq/kg do primeiro experimento, a força máxima na flexão foi significativamente maior em função das propriedades físicas dos ossos, observado através do aumento da área da seção transversal, que implica em maior capacidade de suportar força, porém, quando observamos o MOR e SpE que representam propriedades intrínsecas do material ósseo, porque excluem este ajustes geométricos, não observamos melhoras na qualidade do osso.

Aos 21 dias para o balanço de 50 mEq/kg observamos maior valor de SpE. Esta propriedade óssea expressa a capacidade de suportar carga do osso, e está relacionada com o colágeno, porém, como não foi observado maior quantidade de proteínas colagenosas para este tratamento, não podemos atribuir ao maior valor de SpE a estas proteínas. No entanto, devemos salientar que, além das quantidades de colágeno, as alterações da orientação das fibras, mesmo sem alterar o grau de maturação, podem contribuir para a manutenção da força óssea, mesmo em casos que ocorra a diminuição da densidade mineral (Boskey et al., 1999), fator não explorado no presente trabalho.

5. CONCLUSÕES

A idade de sete dias mostrou-se mais sensível às variações do balanço eletrolítico em níveis inferiores ao controle, pelo menos nas propriedades físicas e químicas como um todo, sendo o balanço eletrolítico de 200 mEq/kg a dose recomendada. Portanto, deve-se ter mais cautela ao estabelecer dietas aniônicas para fase inicial a fim de minimizar problemas de deformações ósseas que possam comprometer a locomoção das aves, prejudicando o bem estar e o desempenho das mesmas. Para idades 14, 21 e 42 dias, variações mais amplas dos níveis do balanço eletrolíticos podem ser usadas sem prejuízos para as propriedades ósseas de maneira geral. Isto permite inferir que os níveis ideais de BE compreendem uma faixa e não um valor específico para cada idade. No entanto, para animais aos sete dias é mais seguro utilizar o BE de 200 mEq/kg.

6. BIBLIOGRAFIAS

- ADROGUÉ, H.J.; MADIAS, N.E. Changes in plasma potassium concentration during acute acid-base disturbance. **The American journal of medicine**, v.71, n.3, p.456-467, 1981.
- AHMAD T.; MUSTHTAQ, T.; KHAN, M.A.; BABAR, M.E.; YOUSAF, M.; HASAN, Z.U.; KAMRAN, Z. Influence of varying dietary eletrolyte balance on broiler performance under tropical summer conditions. **Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.93, n.5, p.613-621, 2008.
- AHMAD, T.; SARWAR, M. Dietary electrolyte balance: implications in heat stressed broilers. **World's Poultry Science Association**, v.62, p.638-653, 2006.
- American society of agricultural engineers **ASAE Standard S459. Shear and three-point bending test of animal bone**. Saint Joseph: ASAE, 1992, p.581-583.
- ANGEL, R. Metabolic disorders: Limitations to growth of and mineral deposition into the broiler skeleton after hatch and potential implications for leg problems. **The Journal of Applied Poultry Research**. v.16, p.138–149, 2007.
- ARAÚJO, G.M. **Variação aniônica e catiônica da dieta sobre as características ósseas de frangos de corte: resistência a quebra, composição mineral e orgânica**. Cuiabá: Universidade Federal de mato Grosso, 2009. 103p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, 2009.
- BAR, A.; SHINDER. D; YOSEFI, S.; VAX, E.; PLAVNIK, I. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chickenas affected by age. **British Journal of Nutrition**. v.89, p.51-60, 2003.
- BARBOSA, A.A. **Aspectos físicos, químicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 75p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de

Viçosa, 2005.

BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; TORRES, R.A.; REIS, D.T.C.; RODRIGUES, C.S.; MÜLLER, E.S. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.772-778, 2010.

BERGSTROM, W.; WALLACE, W. Bone as a sodium and potassium reservoir. **American Society for Clinical Investigation**, v.33, n.6, p.867-873, 1954.

BIEWENER, A.A; BERTRAM, J.E.A. Structural response of growing bone to exercise and disuse. **Journal of Applied Physiology**, v.76, n.2, p.946-955, 1994.

BLAKE, S.. **Vitamins and minerals demystified**. New York: McGraw-Hill, 2008. 342p.

BORGATTI, L.M.O.; VITTI, D.M.S.S.; OLIVEIRA, T.M. et al. Biodisponibilidade relativa de fósforo em ingredientes com baixo teor de fitato determinada com base na mineralização óssea de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.1901-1906, 2009.

BORGES, S.A.; FISCHER DA SILVA, A.V.; MAIORKA, A. Acid-base balance in broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.63, p.73-81, 2007.

BORGES, S.A.; FISCHER DA SILVA, A.V.; MAIORKA, A.; HOOGE, D.M.; CUMMINGS, K.R. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). **Poultry Science**, v.83, n.9, p.1551-1558, 2004.

BORGES, S.A.; MAIORKA, A.; FISCHER DA SILVA, A.V. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.975-981, 2003.

BOSKEY, A.L.; WRIGHT, T.M.; BLANK, R.D. Collagen and bone strength. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.14, n.3, p.330-335, 1999.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram

- quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.2, p.248-254, 1976.
- BRICKETT, K.E.; DAHIYA, J.P.; CLASSEN, H.L.; ANNETT, C.B.; GOMIST, S. The impact of nutrient density, feed form, and photoperiod on the walking ability and skeletal quality of broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.2117-2125, 2007.
- BRONNER, F. Current concepts of calcium absorption: Na Overview. **The Journal of Nutrition**, v.122, p.641-643, 1992.
- BROWN, S.E.; JAFFE, R. Acid-alkaline balance and its effect on bone health. **International Journal of Integrative Medicine**, v.2, n.6, p.1-12, 2000.
- BRUNO, L.D.G.; FURLAN, R.L.; MALHEIROS, E.B. et al. Influence of early quantitative food restriction on long bone growth at different environmental temperatures in broiler chickens. **British Poultry Science**, v.41, n.4, p.389-394, 2000.
- BRUNO, L.D.G.; LUQUETTI, B.C.; FURLAN, R.L.; MACARI, M. Influence of early qualitative feed restriction and environmental temperature on long bone development of broiler chickens. **Journal of Thermal Biology**, v.32, n.6, p.349-354, 2007.
- COOK, M.E. Skeletal deformities and their causes: Introduction. **Poultry Science**, v.79, p.982-984, 2000.
- CRENSHAW, T.D.; PEO Jr., E.R.; LEWIS, A.J.; MOSER, B.D. Bone strength as a trait for assessing mineralization in swine: A critical review of techniques involved. **Journal of Animal Science**, v.53, p.827-835, 1981.
- CRESPO, R.; STOVER, S.M.; SHIVAPRASAD, H.L.; et al. Microstructure and mineral content of femora in male turkeys with and without fractures. **Poultry Science**, v.81, p.1184-1190, 2002.
- CURREY, J.D. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. **Osteoporosis International**, v.14, (Suppl. 5), p.S29-S36, 2003.

- DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D.; KITCHELL, M. L.; QUIROZ, A. M. Metabolic challenges and early bone development. **Poultry Science**, v.16, p.126-137, 2007.
- DUFF, S.R.I.; THORP, B.H. Patterns of physiological bone torsion in the pelvic appendicular skeleton in broiler fowl. **Resume Veterinary Science**, v. 39, n.3, p.307-312, 1985.
- EDWARDS JR., H.M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1018-1023, 2000.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA - Gado de Corte: **Importância da suplementação mineral para bovinos de corte**. Disponível em: <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/doc114/03funcao.html>. Acessado em setembro de 2010.
- ÉVORA, P.R.B.; REIS, C.L.; FERREZ, M.A.; CONTE, D.A.; GARCIA, L.V. Distúrbios do equilíbrio hidroeletrólítico e do equilíbrio ácido-básico - uma revisão prática. **Medicina**, v.32, p.451-469, 1999.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. **Meat Science**, v.55, n.3, p. 255-264, 2000.
- FLEMING, R.H. Nutritional factors affecting poultry bone health. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.67, p.177-183, 2008.
- GARNER, J.P.; FALCONE, C.; WAKENELL, P.; MARTIN, M.; MENCH, J.A. Reliability and validity of a modified gait scoring system and its use in assessing tibial dyschondroplasia in broilers. **British Poultry Science**, v.43, n.3, p.355-363, 2002.
- GONZALE, E.; MENDONÇA JÚNIOR, C. X. Problemas locomotores em frangos de corte. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 7, 2006, Chapecó. **Anais...** Chapecó, SC. 2006. P. 79-93. Disponível em: http://www.cnpqsa.embrapa.br/publicações_777, Acessado em janeiro de 2009.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In:

- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.) **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2002. p.279-298.
- GONZÁLEZ, F.H.D; SILVA, S.C. **Introdução à Bioquímica Clínica veterinária**. 1999. Obtido por meio eletrônico: <http://www6.ufrgs.br/bioquimica/livrotexto/ibcv.pdf>.
- GORSKI, J.P. Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of non-collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v.9, n.2, p.201-233, 1998.
- GREEN, J.; KLEEMAN, C. Role of bone in regulation of systemic acid-base balance. **Kidney International**, v.39, p.9-26, 1991.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1115p.
- HALLEY, J.T.; NELSON, T.S.; KIRBY, L.K.; JOHNSON, Z.B. Effect of altering dietary mineral balance on growth, leg abnormalities, and blood base excess in broiler chicks. **Poultry Science**, v.66, n.10, p.1684-1692, 1986.
- HAUSCHKA, P.V., GALLOP, P.M. Purification and calcium binding properties of osteocalcin, the carboxyglutamate containing protein of bone. In: WASSERMAN, R.H. (Ed.) **Calcium binding proteins and calcium function**. Amsterdam: Elsevier, 1977. p.338-347.
- HAYS, V.W.; SWENSON, M.J. Minerais. In: DUKES (Ed.) **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.471-487.
- HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18.ed. São Paulo: Manole Ltda, 1995, 1678p.
- HOUPT, R.T. Equilíbrio ácido-básico In: DUKES (Ed.) **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.488-520.
- HULAN, H.W.; GROOTE, G.; FONTAINE, G.; MUNTER, G. The effect of different

- totals and ratios of dietary calcium and phosphorus on the performance and incidence of leg abnormalities of male and female broiler chickens. **Poultry Science**, v.64, n.6, p.1157-1169, 1985.
- HULAN, H.W.; SIMONS, P.C.M.; VAN SCHAGEN, P.J.W. Effect of altering the cation-anion (Na+K-Cl) and calcium content of the diet on general performance and incidence of tibial dischondroplasia of broiler chickens housed in batteries. **Nutrition Reports International**, v.33, p.397-408, 1987.
- HURWITZ, S. Requirements and interaction of monovalent ions in nutrition. In: ANNUAL MINERALS CONFERENCE, 1981, Mundelein. **Proceedings...** Mundelein: 1981. p.27-35.
- HURWITZ, S.; FISHMAN, S.; TALPAZ, H. Calcium dynamic: A model system approach. **The Journal of Nutrition**, v.117, n.4, p.791-796, 1987.
- JOHNSON, R.J.; KARUNAJEEWA, H. The effects of dietary minerals and electrolytes on the growth and physiology of the Young chick. **Journal of Nutrition**, v.115, n.12, p.1680-1690, 1985.
- JULIAN, R.J. Rapid growth problems: Ascites and skeletal deformities in broilers. **Poultry Science**, v.77, n.12, p.1773-1780, 1998.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 427p.
- KARUNAJEEWA, H.; BAR, D.A. Influence of dietary electrolyte balance, source of added potassium and anticoccidial agents on the performance of male broilers. **British Poultry Science**, v.29, n.1, p.137-147, 1988.
- KARUNAJEEWA, H.; BAR, D.A.; FOX, M. Effect of dietary phosphorus concentration and electrolyte balance on the growth performance of broiler chickens. **British Poultry Science**, v.27, n.4, p.601-612, 1986.
- KESTIN, S.C.; KNOWLES, T.G.; TINCH, A.E.; GREGORY, N.G. Prevalence of leg weakness in broiler chickens and its relationship with genotype. **Veterinary Record**, v.131, n.9, p.190-194, 1992.

- KWAKKEL, R.P.; HOF, G.; ZANDSTRA, T. et al. Diphasic allometric growth of some skeletal bones and the digestive tract in white leghorn pullets consuming *ad libitum* and restricted diets. **Poultry Science**, v.77, n.6, p.826-833, 1998.
- LARBIER, M.; LECLERCQ, B. **Metabolism of water and minerals. Nutrition and feeding of poultry**. Leicestershire: Nottingham University Press, 1992. 305p.
- LEACH, R.M.; NESHEIM, M.C. Nutricional. Genetic and morphological studies of an abnormal cartilage formation in young chicks. **The Journal of Nutrition**. v.86, n.65, p.236-244, 1965.
- LEDWABA, M.F.; ROBERSON, K.D. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyschondroplasia in Ross cockerels depends on dietary calcium level. **Poultry Science**. v.82, p.1769-1777, 2003.
- LETERRIER, C.; NYS, Y. Composition, cortical structure and mechanical properties of chicken tibiotarsi: effect of growth rate. **British Poultry Science**, v.33, n.5, p.925-939, 1992.
- LETERRIER, C.; ROSE, N.; CONSTANTIN, P.; NYS, Y. Reducing growth rate of broiler chickens with a low energy diet does not improve cortical bone quality. **British Poultry Science**, v.39, n.1, p.24-30, 1998.
- LILBURN, M.S. Skeletal growth of commercial poultry species. **Poultry Science**, v.73, n.6, p.897-903, 1994.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 246p.
- MAIORKA, A.; MACARI, M. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.
- MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K. **Nutrição animal**. São Paulo: Freitas Bastos, 1974. 550p.
- McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. London: Academic

Press, 1992, 660p.

MOGHADDAM, H.N.; JANMOHAMMADI, H.; NAJAFABADI, J. The effect of dietary eletrolyte balance on growth, tibia ash and some blood serum electrolytes in young pullets. **Internationak Journal of Poultry Science**, v.4, n.7, p.493-496, 2005.

MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: applications in poultry. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.40, p.285-294, 1981.

MONGIN, P. Role of sodium, potassium and chloride in eggshell quality. In: NUTRITION CONFERENCE OF FLORIDA, 1980, **Proceedings...** Florida, 1980, p.114-117.

MONGIN, P.; SAUVEUR, B. Interrelationships between mineral nutrition, acid-base, growth and cartilage abnormalities. **Proceedings Poultry Science**, n.12, p.235-247, 1977.

MONTEIRO, M.P.; MORAES, G.H.K.; FANCHIOTTI, F.E.; OLIVEIRA, M.G.A.; RODRIGUES, A.C.P.; ALBINO, L.F.T.; GUIMARÃES, V.M.; VIEITES, F.M. Alfa-amilase em frangos de corte: efeitos do balanço eletrolítico e do nível protéico da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1070-1076, 2006.

MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P.; SILVA, F.A.; ROSTAGNO. H.S.; MINAFRA, C.S.; BIGONHA, S.M. Efeito do ácido L-glutâmico e da vitamina K na composição bioquímica parcial de fêmures de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.796-800, 2010.

MUAMBA, J.M.M; GEVERS, D.G. Collagen and non-collagenous proteins in different mineralization stages of human femur. **Acta Anatomica**, v.134, n.4, p.265-268, 1989.

MURAKAMI, A. E. Balanço eletrolítico da dieta e sua influência sobre o desenvolvimento dos ossos de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2000, Campinas. **Proceedings...**

Campinas: FACTA, 2000, p.33-61.

MURAKAMI, A.E.; OVIEDO-RONDÓN, E.O.; MARTINS, E.N.; PEREIRA, M.A.; SCAPINELLO, C. Sodium and chloride requirements of growing broiler chickens (twenty-one to forty-two days of age) fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v.80, n.3, p.289-294, 2001.

NÄÄS, I.A.; ALMEIDA PAZ, C.L.; BARACHO, M.S.; MENEZES, A.G.; LIMA, K.A.O.; BUENO, L.G.F.; MOLLO NETO, M.; CARVALHO, V.C.; ALMEIDA, I.C.L.; SOUZA, A.L. Assessing locomotion deficiency in broiler chicken. **Scientia Agricola**, v.67, n.2, p.129-135, 2010.

NUNES, Fábio [2008]. **Otimizando a Evisceração Automática**. Disponível em: <http://www.engormix.com/p_articles_view.asp?art=107&AREA=AVG>. Acesso em: 23 de outubro de 2008.

OLIVEIRA, A.F.G. **Frangos de corte de diferentes grupos genéticos criados em duas densidades populacionais**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2006, 73p. Dissertação (mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2006.

OLIVEIRA, E.C.; MURAKAMI, A.E.; FRANCO, J.R.G.; CELLA, P.S.; SOUZA, L.M.G. Efeito do balanço eletrolítico e subprodutos avícolas no desempenho de frangos de corte na fase inicial (1-21 dias de idade). **Acta Scientiarum – Animal Science**, v.25, n.2, p.293-299, 2003.

OLIVEIRA, M.C.; ARANTES, U.M.; STRINGHINI, J.H. Efeito do balanço eletrolítico da ração sobre parâmetros ósseos e da cama de frango. **Revista Biotemas**. v.23, n.1, p.203-209, 2010.

OLIVEIRA, M.C.; MARQUES, R.H.; GRAVENA, R.A.; BRUNO, L.D.G.; RODRIGUES, E.A.; MORAES, V.M.B. Qualidade óssea de frangos alimentados com dietas com fitase e níveis reduzidos de fósforo disponível. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.30, n.3, p.263-268, 2008.

OVIEDO-RONDÓN, E.O. **Predisposing factors that affect walking ability in turkeys and broilers**. Available from:

http://www.ces.ncsu.edu/depts/poulsci/conference_proceedings/nutrition_conference/2007/oviedo_2007.pdf. Acessado em 17 de fevereiro de 2008.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; MURAKAMI, A.E.; FURLAN, A.C.; GARCIA, J. Exigências nutricionais de sódio e cloro e estimativa do melhor balanço eletrolítico da ração para frangos de corte na fase pré-inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1162-1166, 2000.

PATIENCE, J.F. A review of the role of acid-base balance in amino acid nutrition. **Journal of Animal Science**, v.68, n.2, p.398-408, 1990.

PIZAURO JÚNIOR, J.M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.) **Fisiologia aviária aplicado a frango de corte**. 1.ed., Jaboticabal: FUNEP, 2002. p.247-265.

PORTSMOUTH, J. Changes needed in nutrient input data relating to leg problems in poultry. **Feedstuffs**, v.56, p.43-52, 1984.

POWELL, K.C.; BITTAR FILHO, I. Atualidades em problemas locomotores em frango de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2008 Santos. **Proceedings...** Santos: FACTA, 2008. p.187-196.

RATH, N.C., BALOG, J.M., HUFF, G.R. et al. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibia of seven- and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, n.8, p.1232-1239, 1999.

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

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

RIDDELL, C. Non-infectious skeletal disorders of poultry: An overview. In:

- WHITEHEAD, C.C. (Ed.) **Disorders in poultry**. 1 ed. Abingdon: Carfax Publishing Co, 1992. p.199-145.
- RIOND, J.L. Animal nutrition and acid-base balance. **European Journal of Nutrition**. v.40, n.5, p.245-254, 2001.
- ROBEY, P.G.; FEDARKO, N.S.; HEFFERAN, T.E.; BIANCO, P.; VETTER, E.K.; GRZESIK, W.; FRIEDENSTEIN, A.; PLUIJM, G.V.D.; MINTZ, K.P.; YOUNG, M.F.; KERR, J.M.; IBARAKI, K. HEEGAARD, A.M. Structure and molecular regulation of bone matrix proteins. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.8, s.2, p.S483-487, 1993.
- ROSE, N.; CONSTANTIN, P.; LETERRIER, C. Sex differences in bone growth of broiler chickens. **Growth, Development & Aging**. v.60, p.49-59, 1996.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINA, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2000.141p.
- ROSTAGNO, H.S.; BARBARINO Jr., P.; BARBOZA, W.A. Exigências nutricionais de aves determinadas no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, n.1, 1996, Viçosa. **Proceedings...** Viçosa: Editora UFV, 1996. p.361-388.
- SAUVEUR, B. Dietary factors as causes of leg abnormalities in poultry – A Review. **World's Poultry Science Journal**, v.40, p.195-206, 1984.
- SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YOUNG, R.J. Essential Inorgânic elements. In: SCOTT, M.L. (Ed.) **Nutrition of the chicken**. 3.ed. New York: M.L. Scott Associates, 1982. p.287-304,
- SEEMAN, E. Bone 'quality' - The material and structural basis of bone strength. **Journal of Medical Sciences**, v.3, n.2, p.87-91, 2010.
- SEIFERT, M.F.; WATKINS, B.A. Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. **Nutrition Research**, v.17, n.7, p.1209-1228, 1997.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análises de Alimentos: Métodos Químicos e**

Biológicos. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 235p.

SIMONS, P.C.M.; HULAN, H.W.; TEUNIS, G.P. et al. Effect of dietary cation-anion balance on acid-base status and incidence of tibial discondroplasia of broiler chickens. **Nutrition Reports International**, v.35, n.3, p.591-600, 1987.

SORENSEN, P.; SU, G.; KESTIN, S.C. Effects of age and stocking density on leg weakness in broiler chickens. **Poultry Science**, v.79, n.6, p.864-870, 2000.

SOUZA, B.B.; BERTECHINI, A.G.; TEIXEIRA, A.S.; LIMA, J.A.F.; PEREIRA, S.L.; FASSANI, E.J. Efeitos dos Cloretos de Potássio e de Amônia Sobre o Desempenho e Deposição de Gordura na Carcaça de Frangos de Corte Criados no Verão. **Revista Brasileira de ciência Avícola**, v.4, n.3, p.209-218, 2002.

TALATY, P.N.; KATANBAF, M.N.; HESTER, P.Y. Bone mineralization in male commercial broilers and its relationship to gait score. **Poultry Science**, v.89, p.342-348, 2010.

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

TARDIN, A.C. **Visão nutricional dos problemas locomotores em frangos de Corte**. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995. **Proceedings...** Campinas: Apinco, 1995. p.71-83.

TEETER, R. Balancing the electrolyte equation. **Feed Mix**, v.5, p.22-26, 1997.

TEETER, R.G.; BELAY, T. **Potassium's evolving role in poultry electrolyte nutrition**. Feed Ingredients – IMC Agrico, 1995. 50p.

THORP, B.H. Skeletal disorders in the fowl: A review. **Avian Pathology**, v.23, n.2, p.203-236, 1994.

THORP, B.H.; WADDINGTON, D. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens.

- Research in Veterinary Science**, v.62, n.1, p.67-73, 1997.
- TURNER, C.H. Biomechanics of bone: Determinants of skeletal fragility and bone quality. **Osteoporosis International**, v.13, n.2, p.97-104, 2002.
- TURNER, C.H.; BURR, D.B. Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. **Bone**, v.14, n.4, p.595-608, 1993.
- UNDERWOOD, E.J. **Los minerales en la nutrición Del Ganado**. Zaragoza: Acribia, 1981. 210p.
- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTORES – UBA. **Relatório Anual da União Brasileira Avicultura**. 2009, 39p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 9.1. Viçosa: 2006. (Manual do usuário).
- VARGAS JÚNIOR, J.G. **Exigências de cálcio e de fósforo disponível para aves de reposição leves e semipesadas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 134f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- VARGAS JÚNIOR, J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CUPERTINO, E.S.; CARVALHO, D.C.O.; NASCIMENTO, A.H. Níveis nutricionais de cálcio e fósforo disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 0 a 6 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1919-1926, 2003.
- VELLEMAN, S.G. The role of the extracellular matrix in skeletal development. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.985-989, 2000.
- VELTMAN, J.; JENSEN, L. Dietary studies on incidence of tibial dyscondroplasia in broiler chicks. **Poultry Science**, v.58, p.1026-1027, 1979.
- VIEITES, F.M.; MORAES, G.H.K.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; RODRIGUES, A.C.P.; SILVA, F.A.; ATENCIO, A. Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre parâmetros sanguíneos e ósseos de frangos de corte aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1520-

1530, 2004.

- WALDENSTEDT, L. Nutricional factors of importance for optimal leg health in broilers: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, n.3-4, p.291-307, 2006.
- WANG, X.; BANK, R.A.; TEKOPPELE, J.M.; AGRAWAL, C.M. The role collagen in determining bone mechanical properties. **Journal of Orthopaedic Research**, v.19, n.6, p.1021-1026, 2001.
- WHITEHEAD, C.C.; MCCORMACK, H.A.; McTEIR, L.; FLEMING, R.H. High vitamin D3 requirements in broilers for bone quality and prevention of tibial dyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitamin A. **British Poultry Science**, v. 45, n.3, p. 425-436, 2004.
- WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; MURRAY, D.H. Bone strength during growth: influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. **Calcified Tissue International**, v.74, n.3, p.236-245, 2004.
- WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; MURRAY, D.H.; FARQUHARSON, C. Bone strength during growth: Influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. **Calcified Tissue International**, v.74, n.3, p.236-245, 2003.
- WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; SOLOMON, S.; FARQUHARSON, C. Dietary effects on bone quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens. **Research in Veterinary Science**, v.69, p.81-87, 2000.
- YALÇIN, S.; ÖZKAN, S.; COSKUNER, E; BILGEN, G.; DELEN, Y.; KURTULMUS, Y.; TANYALÇIN, T.. Effects of strain, maternal age and sex on morphological characteristics and composition of tibial bone in broilers. **British Poultry Science**, v.42, n.2, p.184-190, 2001.
- YALÇIN, S.; SETTAR, P.; DICLE, O. Influence of dietary protein and sex on walking ability and bone parameters of broilers. **British Poultry Science**, v.39, n.2, p.251-256, 1998.