



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA



LEANDRO BAETA ALVES

**DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE
ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE
DIFERENTES NÍVEIS DE *Lithothamnium calcareum***



Araçatuba-SP

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA



LEANDRO BAETA ALVES

**DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE
ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE
DIFERENTES NÍVEIS DE *Lithothamnium calcareum***

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientador: Prof. Dr. Marcos Franke Pinto

Coorientadores:

Prof. Dr. Manoel Garcia Neto

Prof. Dr. Max José de Araújo Faria
Júnior

Araçatuba-SP

2021

A474d Alves, Leandro Baeta

DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM
RAÇÕES ADICIONADAS DE DIFERENTES NÍVEIS DE Lithothamnium
calcareum / Leandro Baeta Alves. -- Araçatuba, 2021

95 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

Orientador: Prof. Dr. Marcos Franke Pinto

Coorientador: Prof. Dr. Manoel Garcia Neto, Prof. Dr. Max José de
Araújo Faria Júnior

1. Cálcio. 2. Densidade óssea. 3. Índices produtivos. 4. Tíbias. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária,
Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE DIFERENTES NÍVEIS DE Lithothamnium calcareum

AUTOR: LEANDRO BAETA ALVES
ORIENTADOR: MARCOS FRANKE PINTO
COORIENTADOR: MANOEL GARCIA NETO
COORIENTADOR: MAX JOSÉ DE ARAUJO FARIA JUNIOR

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARCOS FRANKE PINTO (Participação Virtual)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. THIAGO LUÍS MAGNANI GRASSI (Participação Virtual)
Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias / Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente/SP

Profa. Dra. LEDA GOBBO DE FREITAS BUENO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Câmpus de Dracena/UNESP

Araçatuba, 27 de agosto de 2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE DIFERENTES NÍVEIS DE Lithothamnium calcareum

AUTOR: LEANDRO BAETA ALVES

ORIENTADOR: MARCOS FRANKE PINTO

COORIENTADOR: MANOEL GARCIA NETO

COORIENTADOR: MAX JOSÉ DE ARAUJO FARIA JUNIOR

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCOS FRANKE PINTO (Participação Virtual)

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. THIAGO LUÍS MAGNANI GRASSI (Participação Virtual)

Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias / Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente/SP

Profa. Dra. LEDA GOBBO DE FREITAS BUENO (Participação Virtual)

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Câmpus de Dracena/UNESP

Araçatuba, 27 de agosto de 2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE DIFERENTES NÍVEIS DE Lithothamnium calcareum

AUTOR: LEANDRO BAETA ALVES

ORIENTADOR: MARCOS FRANKE PINTO

COORIENTADOR: MANOEL GARCIA NETO

COORIENTADOR: MAX JOSÉ DE ARAUJO FARIA JUNIOR

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCOS FRANKE PINTO (Participação Virtual)

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. THIAGO LUÍS MAGNANI GRASSI (Participação Virtual)

Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias / Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente/SP

Prof. Dra. LEDA GOBBO DE FREITAS BUENO (Participação Virtual)

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Câmpus de Dracena/UNESP

Araçatuba, 27 de agosto de 2021.

“Dedico este trabalho primeiramente a Deus por ter sido meu sustento durante os dias difíceis e por me ensinar a cada dia que devo confiar nos sonhos e planos que ELE tem pra mim. Meus pais (Sebastião e Iraídes) por estarem sempre comigo e transmitir todos os valores e a todos meus amigos que me acompanharam nessa jornada”.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcos Franke Pinto, do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, UNESP – Araçatuba, pela orientação e oportunidade de aprendizado e crescimento, transmitindo muita paciência e conhecimento.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal do curso de Medicina Veterinária, em nome de todos os professores e funcionários e todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a transmissão e consolidação dos diferentes níveis de conhecimentos fundamentais para minha formação pessoal e profissional.

A minha família que me ajudou e incentivou nos momentos em que as dificuldades se fizeram presentes.

À CAPES pelo apoio financeiro concedido durante a pesquisa.

A empresa Fertimar Mineração e Navegação Ltda, pelo apoio financeiro para realização do experimento.

“Pensa em Deus, refugia-te em Deus, espera por Deus e confia em Deus, porquanto, ainda mesmo quando te suponhas a sós, em meio de tribulações incontáveis, Deus está conosco e com Deus venceremos”

(Emmanuel/Chico Xavier)

Alves, Leandro Baeta. **DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE DIFERENTES NÍVEIS DE *Lithothamnium calcareum***. 2021. 84 fl. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Araçatuba, 2021

RESUMO

O estudo teve como objetivo avaliar o uso da alga *Lithothamnium calcareum* nas rações para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, em substituição à fonte de cálcio tradicional (calcário calcítico). Para isso, foram utilizadas 400 aves da linhagem comercial Cobb 500[®], em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e oito repetições, com 10 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram assim definidos: T1- ração referência à base de milho e farelo de soja e quatro dietas com diferentes inclusões de *Lithothamnium calcareum* (0,50%; 1,00%; 1,50%; 2,00%), compondo os demais tratamentos – T2, T3, T4 e T5, respectivamente. Aos 14, 28 e 42 dias de idade, as aves foram pesadas e foi abatida uma ave por unidade experimental, para a coleta das tíbias. As variáveis analisadas foram: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e densidade óssea. A adição de *Lithothamnium calcareum* na proporção de 1% melhorou os parâmetros de desempenho: consumo, ganho de peso e conversão alimentar. A densidade óssea também foi favorecida nas aves que receberam ração com esse nível de suplementação.

Palavras-chave: Cálcio. Densidade óssea. Índices produtivos. Tíbias.

Alves, Leandro Baeta. **PERFORMANCE OF BEARING CHICKENS FED WITH ADDED FEEDS OF DIFFERENT LEVELS OF *Lithothamnium calcareum***. 2021. 84 fl. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Araçatuba, 2021

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the use of *Lithothamnium calcareum* algae (Lothar®) in rations for broiler chickens from 1 to 42 days of age, replacing the traditional calcium source (calcitic limestone). For this, 400 Cobb 500® commercial strain birds were used, in a completely randomized design, with five treatments and eight replications, with 10 birds per experimental unit. The treatments were defined as follows: T1- reference diet based on corn and soybean meal and four diets with different inclusions of Lothar® (0.50%; 1.00%; 1.50%; 2.00%), composing the other treatments – T2, T3, T4 and T5, respectively. At 14, 28 and 42 days of age, the birds were weighed and one bird per experimental unit was slaughtered to collect the tibiae. The variables analyzed were: weight gain, feed intake, feed conversion and bone density. The addition of *Lithothamnium calcareum* in the proportion of 1% improved the performance, decreasing the feed conversion of the birds. The bone density was also favored by this level of supplementation.

Keywords: Calcium. Bone density. Productive indices. Tibiae.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Corte de osso seco, evidenciando o osso compacto e esponjoso. 26
- Figura 2 - Ilustração das estruturas encontradas em osso longo. 27
- Figura 3 - Comportamento do consumo de ração com a idade das aves, segundo o nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 61
- Figura 4 - Comportamento do peso das aves com a idade, segundo o nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 62
- Figura 5 - Comportamento da Conversão Alimentar (CA) com a idade das aves, segundo o nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 63
- Figura 6 - Gráfico de contornos para a variável CONSUMO em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 67
- Figura 7 - Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando o consumo em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 69
- Figura 8 - Gráfico de contornos para a variável PESO das aves em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 70
- Figura 9 - Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando o peso em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 72
- Figura 10 - Gráfico de contornos para a conversão alimentar (CA) das aves em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 73
- Figura 11 - Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando a conversão alimentar (CA) em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcaireum* na ração. 76

- Figura 12 - Gráfico de contornos para a densidade óssea das aves em função da idade das aves e do nível de suplementação de 79 *Lithothamnium calcareum* na ração.
- Figura 13 - Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando a densidade óssea em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração 81
- Figura 14 - Taxa de mortalidade, segundo os diferentes níveis de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*, aos 42 82 e aos 49 dias de idade (a taxa de mortalidade inclui os refugos)
- Figura 15 - Gait Score, segundo os diferentes níveis de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*, avaliado aos 35 dias de 82 idade.
- Figura 16 - Gait Score, segundo os diferentes níveis de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*, avaliado aos 49 dias de 83 idade.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Composição Percentual E Calculada Da Dieta Basal E Das Dietas Com *Lithothamnium Calcareum* Na Fase Inicial (1- 52 21dias).
- Tabela 2 - Composição Percentual E Calculada Da Dieta Basal E Das Dietas Com *Lithothamnium Calcareum* Na Fase Inicial (22- 53 35dias).
- Tabela 3 - Composição Percentual E Calculada Da Dieta Basal E Das Dietas Com *Lithothamnium Calcareum* Na Fase De 54 Terminação (36-42 Dias).
- Tabela 4 - Desempenho produtivo das aves alimentadas com ração contendo níveis crescentes de *Lithothamnium calcareum* (de 59 0 a 2%), de acordo com a idade.
- Tabela 5 - Metas de desempenho para lotes de machos da linhagem 60 Cobb 500, segundo a idade.
- Tabela 6 - Desdobramento da interação estatística entre % de *Lithothamnium calcareum* na ração e idade das aves para a 62 variável CONSUMO.
- Tabela 7 - Comparação das médias de PESO das aves para cada faixa de idade, segundo a % de *Lithothamnium calcareum* na 63 ração.
- Tabela 8 - Comparação das médias de CONVERSÃO ALIMENTAR (CA) das aves para cada faixa de idade, segundo a % de 64 *Lithothamnium calcareum* na ração.
- Tabela 9 - Valores estimados para resposta máxima para CONSUMO – 68 “Ridge”.
- Tabela 10 - Parâmetros da equação de superfície de respostas do 68 CONSUMO de ração.
- Tabela 11 - Valores estimados para resposta máxima para PESO – 71 “Ridge”.
- Tabela 12 - Parâmetros da equação de superfície de respostas do PESO 71 das aves.

Tabela 13 -	Valores estimados para resposta mínima para CA – “Ridge”.	74
Tabela 14 -	Valores numéricos aproximados da linha de conversão alimentar mais baixa de acordo com a idade do animal.	75
Tabela 15 -	Parâmetros da equação de superfície de respostas de CONVERSÃO ALIMENTAR (CA) das aves.	77
Tabela 16 -	Resumo da ANOVA para os valores de densidade óssea avaliada pela metodologia de Seedor, em aves de diferentes idades, alimentadas com ração suplementada com níveis crescentes de <i>Lithothamnium calcareum</i> , utilizando as medidas da espessura da tíbia como covariável.	77
Tabela 17 -	Médias de densidade óssea (Índice de Seedor) em cada idade, segundo o nível de suplementação com <i>Lithothamnium calcareum</i> (desdobramento da interação entre suplementação e idade).	78
Tabela 18 -	Valores estimados para resposta máxima para DENSIDADE ÓSSEA – “Ridge”.	80
Tabela 19 -	Parâmetros da equação de superfície de respostas da densidade óssea das aves.	81

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Tecido Ósseo	25
2.2 Células do Tecido Ósseo	29
2.3 Formação e Crescimento Ósseo	31
2.4 Mineralização Óssea	35
2.4.1 Fatores que influenciam o desenvolvimento e a resistência óssea	36
2.4.2 Métodos de Avaliação Óssea	38
2.5 Densidade Óssea –DO	41
2.6 Problemas Locomotores	41
2.7 Avaliação e Locomoção – <i>Gait Score</i>	43
2.8 Índice de Seedor	44
3 A UTILIZAÇÃO DE ALGAS CALCÁRIAS NA PRODUÇÃO ANIMAL	47
3.1 A Utilização na alimentação de equinos	47
3.2 A utilização na alimentação de codornas e suínos	48
3.3 A utilização na alimentação de outras espécies	49
3.4 A utilização na alimentação de ruminantes	49
4 MATERIAL E MÉTODO	51
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	57

6 CONCLUSÃO	84
REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal país exportador de carne de frango, e ocupa a terceira colocação em produção mundial do produto, ficando atrás somente dos Estados Unidos e China (EMBRAPA, 2020). A produção do frango de corte pode ser altamente rentável, mas é necessário um manejo preciso em todas as áreas envolvidas, principalmente no aspecto de nutrição, que concentra a maior parte dos gastos. É essencial atender todas as exigências nutricionais das aves, incluindo aminoácidos, minerais como o cálcio, água, vitaminas, entre outros (PEREIRA, 2018).

O cálcio é extremamente importante para as aves, visto que é um mineral imprescindível para o correto funcionamento do metabolismo e desempenho ósseo, estando também envolvido nos processos fisiológicos de coagulação sanguínea, transmissão nervosa e ativação de enzimas (MUNIZ, 2007). Por isso, o erro no fornecimento de cálcio para mais ou para menos acarreta em falhas na conversão alimentar, menor ganho de peso e deformidades ósseas nas aves (ARRUDA, 2015).

É sabido que o cálcio é um mineral essencial que participa de vários processos metabólicos, e para ser mantido essa concentração constante no organismo, com relação a sua ingestão, absorção e excreção ocorrem interações hormonais que participam da homeostase, sendo os principais hormônios participantes dessa interação a calcitonina, colecalciferol e paratormônio (PTH).

O *Lithothamnium ssp.*, família Corallineacea, pertencente ao grupo das algas vermelhas, compostas por calcite, aragonite e vaterite (SCHLEGEL, 2017). Essa alga pode ser extraída e fornecida como suplemento mineral aos animais, atuando principalmente nos níveis séricos de cálcio (TADDEI, 2014),

apresentando alta solubilidade a níveis gastrointestinais (SCHLEGEL, 2017). Com a utilização do Lothar (produzido pela PRIMASEA) como fonte de cálcio, são esperados efeitos benéficos no desempenho das aves, com aumento no peso, maior resistência óssea e melhora na taxa de crescimento. Primasea é uma empresa brasileira produtora de Lithothamnium (sedimentos biológicos fossilizados) do mundo, ligada ao agronegócio e especializada na coleta marítima, processamento industrial e comercialização do produto (PRIMASEA, 2018).

Na criação de frangos de corte, a alimentação representa a maior parcela dos custos de produção, podendo chegar a até 70% do custo total. Em decorrência desse fato, bastante representativo, é que as empresas ligadas ao ramo de nutrição animal estão buscando novas fontes alternativas de alimentos, objetivando a redução nos custos de produção. De acordo com Damasceno et al., (2010) uma série de fatores foram fundamentais para que a avicultura de corte se apresente como uma das mais importantes fontes de proteína animal e dentre estes fatores, temos a aquisição de novos conhecimentos específicos na área de nutrição, genética, manejo e bem-estar das aves.

Nesse sentido, algumas pesquisas têm sido desenvolvidas para avaliar a utilização da alga *Lithothamnium calcareum* nas rações animais, podendo ser utilizada como fonte alternativa de cálcio, por apresentar alta concentração desse nutriente.

Considerando que a utilização do *Lithothamnium calcareum* na alimentação animal pode não ser recente, porém ainda necessita de diversas pesquisas para avaliarem os seus verdadeiros potenciais e níveis de utilização deste suplemento, pois ainda é muito incipiente de resultados sobre os efeitos desta

suplementação em espécies animais. Sabemos que esta alga calcária apresenta diversas características que podem ser interessantes e importantes na nutrição animal, e o incentivo de mais pesquisas relacionadas a este assunto são essenciais para o desenvolvimento e conhecimento deste tema.

Com base na hipótese de que a adição de uma fonte de cálcio mais solúvel e biodisponível na ração de frangos de corte irá favorecer o desempenho produtivo das aves e a formação do tecido ósseo, o objetivo deste experimento foi avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão de *Lithothamnium calcareum* em relação ao ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e densidade óssea.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Lithothamnium calcareum são plantas que crescem naturalmente no meio marinho e se desenvolvem onde existe a presença de luz (DIAS, 2000; MELO & MOURA, 2009). Sua renovação é permanente, contanto que haja incidência de luz natural, tornando assim uma fonte renovável de macro e microminerais, sendo extraídas de forma manual por meio de redes de pesca ou por mergulhadores, ou ainda, colhidas de forma mecânica (navio aspirador) pela sucção da alga em pó, acumuladas em “ilhas de areia biodetrítica”. São utilizadas em seu estado natural, após passarem por processo de lavagem, desidratação e moagem.

O calcário produzido pela extração da alga *Lithothamnium* é muitas vezes denominado como calcário biogênico ou biodentrítico marinho e pode ser usado na correção e fertilização do solo, na nutrição animal e humana, e, ainda, empregado na indústria de cosméticos (GOETZ, 2008; COSTA NETO et al., 2010).

Segundo Feitosa e Bastos (2007), a estrutura básica dos recifes biogênicos é formada a partir do acúmulo do esqueleto de calcário dos corais, porém, para sua formação é necessária a atuação conjunta de uma infinidade de organismos, formando uma complexa teia de associações e de eventos em sucessão.

A formação do calcário biogênico ocorre pela precipitação da calcite que é consequência das atividades dos seres vivos (GOETZ, 2008). Isso pode acontecer com a redução da tensão de CO₂ em razão da atividade fotossintética de algas marinhas e do fitoplâncton, fator que cria condição para que ocorra a precipitação da calcite.

Dias (2000) relatou que a alga *Lithothamnium calcareum* é composta basicamente de carbonato de cálcio e magnésio, além de conter mais de 20 oligoelementos, tais como ferro, manganês, boro, níquel, cobre, zinco, molibdênio, selênio e estrôncio.

Nos países europeus, França, Irlanda e Inglaterra, assim como no Japão, sua utilização na alimentação animal vem sendo praticada há mais de 200 anos como suplemento mineral (MELO & MOURA, 2009), enquanto que no Brasil pesquisas avaliando seu potencial na nutrição animal, ainda, são escassas e recentes, sendo a maioria realizada com outras espécies como codornas (MELO & MOURA, 2009), ratos (ASSOUMANI, 1997), cães (COSTA NETO et al., 2010), coelhos (EULER et al., 2010), suínos (FIALHO et al., 1992) e ovinos. De acordo com Melo e Moura (2009), a utilização da *Lithothamnium* no Brasil se restringia somente a agricultura, e nos últimos anos com o lançamento de produtos à base de *Lithothamnium calcareum* como suplemento em rações para animais, esta vem despertando o interesse de pesquisas em instituições públicas e privadas.

Na literatura, encontra-se o relato de (ASSOUMANI, 1997) que ao estudá-la na alimentação de ratos, verificou duas vantagens para seu uso. A primeira refere-se à maior disponibilidade dos nutrientes que se encontram adsorvidos nas paredes celulares, facilitando sua assimilação pelos animais e melhorando a absorção do cálcio, o que pode acarretar em melhor desempenho animal e minimizar os custos de produção. A segunda remete-se à elevada porosidade (> 40%), que propicia um aumento da superfície específica de atuação.

Outras pesquisas com essa macroalga vem sendo realizadas em dietas de algumas espécies animal como em aves (CARLOS et al., 2011), bovinos de corte (COMPARIN, 2013), vacas leiteiras (LOPES, 2012) e coelhos (UCRÓS, 2012).

Lopes, (2012), em um trabalho com vacas leiteiras utilizando o *lithothamnium calcareum* e bicarbonato de sódio como tamponante nas dietas, concluiu que a inclusão de 1% de *lithothamnium calcareum* na dieta de vacas em final de lactação deprimiu seu desempenho, no entanto, explica que a alta suplementação de Ca (1 % da matéria seca), não pode explicar a queda no consumo e no desempenho, visto que dietas com excesso de Ca são rotineiras em rebanhos comerciais leiteiros. A alga foi capaz de atuar similarmente ao bicarbonato de sódio sobre parâmetros venosos (HCO_3 , Ca e Na). O cálcio proveniente dessa fonte possui fácil absorção, sem apresentar antagonismo iônico.

Considerando o uso dessa fonte de minerais na alimentação animal, (FASSANI et al., 2008), relatam que a falta de conhecimento das características físico-químicas dos calcários pode ocasionar variação na atenção das exigências nutricionais obtidas em pesquisas científicas, o que leva muitos nutricionistas à utilização de altos níveis de cálcio em rações comerciais. Assim, a busca de novas alternativas que não sejam derivadas de rochas, de maior biodisponibilidade, é de extrema importância para maximizar o desempenho animal, minimizar custos e mitigar impactos socioambientais.

Por se tratar de um aditivo rico em minerais de origem orgânica, de maior solubilidade, a adição de farinha de algas, pode possibilitar um aumento na absorção e digestibilidade dos mesmos. A maior disponibilidade dos elementos minerais adsorvidos às estruturas celulares e elevada porosidade (responsável por aumentar a superfície de contato) pode facilitar a assimilação desses compostos, permitindo um melhor desempenho animal (MELO & MOURA, 2009).

O cálcio é um elemento químico presente nos fluidos e tecidos corporais, sendo essencial na formação dos ossos, dentes e em diversos processos fisiológicos (MACARI et al., 2002). As fontes de cálcio podem ser de origem inorgânica (rochas) ou orgânica (farinha de ossos, conchas, e algas). Geralmente as fontes de cálcio utilizadas na alimentação animal são oriundas de rochas, como o calcário e o fosfato bicálcico, pois são mais abundantes e de menor custo.

A solubilidade das fontes de cálcio é um fator indicativo na qualidade, já que apresenta alta correlação com a biodisponibilidade e absorção intestinal do cálcio. As fontes de cálcio de origem orgânica, como a farinha de ostras e farinha de casca de ovos são fontes de maior solubilidade em relação as fontes de rochas (MELO et al., 2008).

Porém, as fontes inorgânicas de cálcio, são recursos minerais não-renováveis e sua extração promove importante impacto ambiental. O fosfato bicálcico por se tratar de uma fonte mista de cálcio e fósforo, apresenta custo elevado, ao contrário do calcário que dentre os ingredientes da ração é o que apresenta menor custo por quilograma.

Os alimentos de origem vegetal, normalmente milho e soja, constituem a base da alimentação de aves e possuem teores de cálcio em níveis insuficientes para suprir as exigências nutricionais. Desta forma, há necessidade de fazer uma suplementação de cálcio na dieta para atender estas exigências dos animais (MUNIZ et al., 2007).

O cálcio, o fósforo e a vitamina D são elementos intimamente associados no metabolismo animal, muitas vezes combinados entre si, de modo que a carência de um deles na dieta limita o desempenho das aves (MACARI et.al., 2002).

Assim, a biodisponibilidade das fontes de cálcio influenciam no nível de suplementação.

No entanto, o cálcio em excesso pode agir como antagonista dificultando a absorção de alguns minerais tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros (WALDROUP, 1996). O Magnésio substitui parte do cálcio, resultando em cristais mais densos e menos solúveis, além de ser antagônico ao cálcio, podendo influenciar o mecanismo de absorção intestinal.

Suplementos contendo microminerais complexados a moléculas orgânicas têm sido desenvolvidos industrialmente com base na teoria da maior biodisponibilidade que a de fontes inorgânicas (SPEARS, 1996). Preconiza-se que minerais orgânicos têm maior solubilidade, estrutura química estável e natureza eletricamente neutra no trato digestivo. Logo, estes não participariam de reações que poderiam transformar o íon metálico livre em complexos insolúveis indesejáveis. Foi observado que a substituição crescente de fonte inorgânica de minerais por um suplemento contendo minerais orgânicos aumentou o consumo de matéria seca e a digestibilidade em bovinos consumindo dietas de baixo valor nutritivo (LANGWINSKI e OSPINA, 2001).

As buscas de novas alternativas que não sejam derivadas de rochas, de maior biodisponibilidade, são de extrema importância para se maximizar o desempenho animal e minimizar custos. Segundo Fassani et al. (2004), a falta de conhecimento das características físico-químicas dos calcários pode ocasionar variação na atenção das exigências nutricionais obtidas em pesquisas científicas, o que leva muitos nutricionistas à utilização de altos níveis de cálcio em rações comerciais.

Neste cenário, as algas marinhas calcárias surgem como uma alternativa a ser estudada do ponto de vista zootécnico.

Sabe-se que as algas marinhas calcárias retêm elevado índice de elementos minerais do meio marinho, além de apreciável quantidade de substâncias nutritivas. O *Lithothamnium calcareum* pertence ao grupo das algas vermelhas ou rodofíceas, da família das coralináceas. É uma alga de aspecto calcário, pois absorve o carbonato de cálcio e magnésio. Não é fonte de proteína, vitaminas, carboidratos e lipídeos, somente de macro e micro minerais em concentrações variadas, dependendo do local, estação do ano e profundidade.

A semelhança entre o calcário de origem continental e as algas *Lithothamnium* se limita basicamente a alguns elementos químicos comuns a ambos.

As algas marinhas calcárias são as plantas que crescem naturalmente no meio marinho e em profundidades das mais variadas. A renovação é permanente, contanto que haja incidência de luz natural, se tornando uma fonte de macro e microminerais renovável. O produto pode ser aplicado no estado natural ou após secagem e moagem.

Contudo, comprovada sua viabilidade zootécnica, a opção entre as diferentes fontes é realizada com base no custo por unidade de fósforo biodisponível, e não na unidade de fósforo total (COUTO et al., 2008).

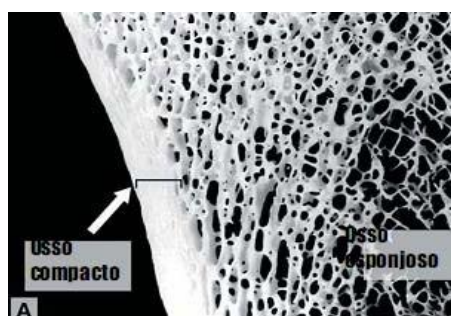
2.1 Tecido Ósseo

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, dinâmico, vascular formado por uma matriz orgânica mineralizada e por uma população heterogênea de células (WATKINS & SEIFERT, 2000). Possui funções

mecânicas, biológicas e químicas diversas, como o armazenamento e proteção de células, sustentação estrutural e o controle da homeostase mineral (RHO et al., 1998).

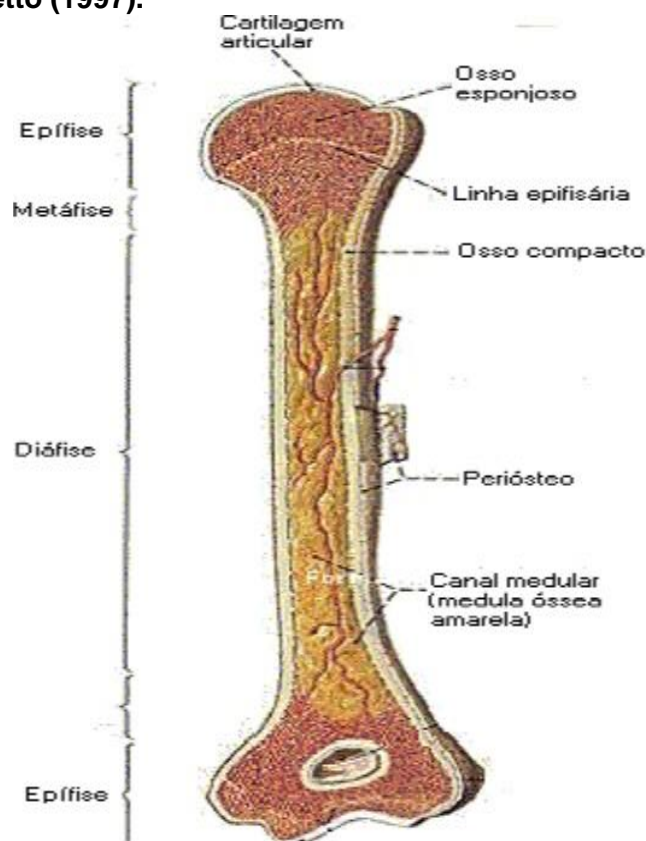
Os ossos podem ser divididos em ossos longos (fêmur), chatos (esterno), irregulares (vértebras) e curtos (tarsos). Podem ser classificados como osso esponjoso ou trabecular, de estrutura esponjosa que corresponde a 20% do esqueleto; e osso compacto ou cortical, osso duro e denso que compõe 80% do esqueleto (Figura 1). Nos ossos longos as extremidades ou epífises são formadas por osso trabecular envolvido por uma fina camada compacta, e a diáfise, que é a parte cilíndrica, é formada quase que na sua totalidade de osso compacto, possuindo apenas na sua região mais interna uma pequena quantidade de osso trabecular, delimitando o canal medular. Os ossos longos são delimitados externamente pelo perióstio, que é formado por tecido conjuntivo denso, fibroso em sua parte externa e rico em células osteoprogenitoras e vasos sanguíneos na parte interna, é importante durante o crescimento e reparo de fraturas; e internamente, pelo endóstio, geralmente constituído por uma camada de células osteogênicas achatadas, revestindo o canal medular, conforme pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 1 - Corte de osso seco, evidenciando o osso compacto e esponjoso.



Adaptado de Junqueira & Carneiro (2004).

Figura 2 - Ilustração das estruturas encontradas em osso longo. Fonte: Avancini de Brito & Favaretto (1997).



O osso é constituído de 70% de minerais, 22% de proteína e 8% de água, distribuídos pela matriz. A matriz orgânica é responsável pela elasticidade do osso e representa 25% da massa seca e é formada por 95% de fibras de colágeno (com elevado conteúdo dos aminoácidos prolina e hidroxiprolina) e 5% de proteoglicanas e proteínas não colagenosas (CURREY, 1998). Os componentes inorgânicos, que são responsáveis pela rigidez, representam 75% do peso seco, e são compostos formados por fosfato de cálcio e carbonato de cálcio. Os minerais estão presentes como uma mistura de cristais de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_3$, fosfato de cálcio amorfo e outros materiais. Outros elementos químicos como magnésio, sódio, potássio, hidróxido, fluoreto, estrôncio, zinco, rádio, cloreto e sulfato estão presentes em pequenas quantidades. A deposição destes sais complexos fortalece grandemente a estrutura óssea (CURREY, 1998).

O cálcio é um dos íons mais importantes do sistema ósseo, sendo que 99% do total existente no organismo são encontrados no tecido ósseo (SIMÕES, 2009). Nas aves, o cálcio atua na formação e manutenção dos ossos, formação da casca do ovo, como ativador de sistemas enzimáticos, coadjuvante na secreção de alguns hormônios e regulando a contração muscular, transmissão do impulso nervoso, coagulação sanguínea e adesão celular. Devido a esta grande utilização encontra-se sempre em transição entre o plasma e os ossos (MACARI et.al., 2002; UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). O seu controle homeostático é mantido pela ação dos hormônios 1,25-di-hidroxi-colecalciferol (vitamina D₃), calcitonina e hormônio da paratireoide (PTH), que controlam sua absorção, excreção e o metabolismo ósseo (HENRY, 1995). Na fase de crescimento, o processo de calcificação dos ossos é mais intenso, por isso o conteúdo de cálcio aumenta de maneira rápida nos primeiros dias de vida de uma ave, chegando ao final do primeiro mês a 80% do total de cálcio da ave adulta. Uma suplementação mineral inadequada ou a não disponibilidade do cálcio dietético durante a fase de crescimento das aves, terá como consequência um desequilíbrio na homeostase mineral e desenvolvimento ósseo inadequado. No entanto, o cálcio em excesso pode dificultar a absorção de alguns minerais tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros (SMITH & KABAJA, 1984; WALDROUP, 1996).

Assim como o cálcio, o fósforo é importante no desenvolvimento ósseo animal. Juntos, eles formam o principal constituinte da matriz inorgânica, a hidroxiapatita (HENRY, 1995). O fósforo atua na formação da estrutura óssea, participa da formação de membranas celulares, é componente dos ácidos nucléicos envolvidos no crescimento e na diferenciação celular, participa na

manutenção do equilíbrio osmótico e eletrolítico, é essencial para utilização e transferência de energia (na forma de ATP), necessário para a formação dos fosfolípidios, ao transporte de gorduras e a síntese de aminoácidos e proteínas. Seus níveis sanguíneos, que também são controlados pelo PTH, vitamina D e calcitonina (MACARI et al., 2002), em excesso, pode promover a síntese da fosfatase alcalina pelos osteoblastos, estimulando o processo de mineralização óssea ao mesmo tempo que atua a nível de osteoclastos, diminuindo a liberação da fosfatase ácida, que são responsáveis pela degradação do tecido ósseo (CHRISTENSON, 1997)

O cálcio e fósforo, no organismo, interagem de tal forma, que a deficiência ou excesso de um deles pode prejudicar a utilização do outro. Assim, a relação Ca:P deve ser mantida dentro de um nível adequado, que segundo Scott et al. (1982) deve ser de 2:1 em frangos de corte, podendo ocorrer pouca variação. Segundo Williams et al. (2000), esta relação é variável conforme a idade do animal, podendo variar de 1,82:1 à 3,89:1.

2.2 Células do Tecido Ósseo

As células fundamentais do osso são: os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Estas são responsáveis pela síntese e mineralização da matriz óssea e são determinantes para os fatores químicos, geométricos e resistência do osso (RATH et al., 2000).

Os osteoblastos são células do tecido esquelético responsáveis pela síntese e regulação da matriz orgânica do osso (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Participam do processo de mineralização óssea através da secreção da

fosfatase alcalina (ROSS & ROWREL, 1993), que atua na clivagem do pirofosfato, removendo, assim, sua influência estabilizadora e aumentando a concentração local de fosfato através da sua atuação sobre a hexose mono fosfato, produto derivado da quebra do glicogênio, promovendo a cristalização óssea (PIZAURO JR, 2002). Possui participação indireta no processo de reabsorção óssea por secretar fatores como interleucina-6 e prostaglandina E, que estimulam os osteoclastos (DUPLOMB et al., 2007). Os osteoblastos secretam matriz orgânica intercelular ao seu redor e ao redor dos prolongamentos citoplasmáticos que atuam como moldes para a formação de futuros canalículos. Estes canalículos têm como função fornecer um meio de comunicação entre os osteoblastos adjacentes e a superfície do osso que está sendo formada, permitindo a passagem de fluidos dos vasos capilares para o tecido ósseo, troca de nutrientes entre as células da matriz e a matriz intercelular bem como a troca de nutrientes entre matriz, fluido do osso e fluido extracelular (MARKS JR. & HERMEY, 1996; DUPLOMB et al., 2007).

Os osteócitos são as células mais abundantes do osso, encontradas no interior da matriz óssea, achatadas, provenientes da transformação dos osteoblastos, encontradas no interior da matriz óssea. Cada osteócito ocupa um espaço, ou lacuna, dentro da matriz da qual partem canalículos ou prolongamentos que estabelecem contato com as células adjacentes através de junções comunicantes. É responsável pela manutenção da matriz óssea, pois possui a capacidade de sintetizar e reabsorver a matriz óssea em uma extensão limitada (PIZAURO JR, 2002).

Os osteoclastos são células polinucleadas móveis, gigantes e ramificadas, formados pela fusão de precursores mononucleados da superfície óssea,

oriundos da medula óssea e conhecidos como pré-osteoclastos. São células de origem hemopoiética e pertencem à família de monócitos-macrófagos. Responsáveis pela reabsorção óssea, estas células liberam ácidos e enzimas collagenases e hidrolases que atuam digerindo a matriz orgânica e dissolvendo os sais de cálcio (MUNDY, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). No animal adulto, essas células são responsáveis pela remodelação e, se necessário, elas mantêm as exigências de cálcio necessário para a homeostase (DUPLOMB et al., 2007).

Além destes três tipos celulares, existem ainda as células osteoprogenitoras ou pré-osteoblastos que são células derivadas do mesênquima que estão em repouso e são capazes de divisão, podendo posteriormente se diferenciar em osteoblastos. São encontradas na porção interna do perióstio, no endóstio e nos canais ósseos que contém vasos sanguíneos (SOMMERFELDT & RUBIN, 2001).

2.3 Formação e Crescimento Ósseo

A formação do tecido ósseo pode ocorrer através de dois processos distintos: ossificação endocondral, onde a cartilagem serve como molde para a formação do tecido ósseo e é responsável pela formação e crescimento de ossos curtos e longos (Junqueira & carneiro, 2004); ou ossificação intramembranosa que ocorre pela diferenciação direta de células mesenquimais em osteoblastos, que depositam matriz orgânica no interior de uma membrana conjuntiva (WATKINS & SEIFERT, 2000). É um processo que ocorre sem a

participação de cartilagens, originando os ossos chatos e o crescimento em espessura dos ossos longos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O processo de ossificação intramembranosa acontece durante o desenvolvimento embrionário e inicia-se pela diferenciação de células mesenquimatosas em osteoblastos, que vão ser responsáveis pela síntese de osteóide no mesênquima e pelo aparecimento dos osteócitos (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004). No caso dos ossos longos, a ossificação intramembranosa vai ser responsável pelo aparecimento do centro primário de ossificação na parte central do osso e vai crescer radialmente, produzindo uma rede de trabéculas ósseas (GUYTON, 1997).

O processo de ossificação endocondral ocorre através de placas de crescimento, formadas por condrócitos e matriz extracelular, rica em proteoglicana e colágeno tipoll, onde os condrócitos estão organizados de acordo com o seu estágio de maturação. O processo ocorre em dois estágios, onde primeiro há redução e mineralização da matriz cartilaginosa, assim como proliferação e morte dos condrócitos por apoptose, deixando cavidades, que em seguida serão preenchidas por capilares sanguíneos e células osteogênicas que se diferenciam em osteoblastos que depositam matriz óssea sobre a cartilagem calcificada, transformando tecido cartilaginoso em tecido ósseo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A formação do tecido ósseo pela ossificação endocondral durante o desenvolvimento dentro do ovo é baixa. Após a eclosão, o crescimento passa de 3% no primeiro dia de vida para 20% ao dia no quinto dia, mantendo-se assim durante os primeiros 15 dias de vida (DIBNER et al., 2007e DELL'ISOLA et al., 2003), O processo de ossificação endocondral pode

ocorrer em menos de 24 horas, durante o pico de crescimento dos frangos de corte (MURAKAMI, 2000).

O crescimento compreende o desenvolvimento de toda estrutura esquelética, tanto na largura quanto no comprimento (BARROS et al., 2008). Devido a isso, os núcleos de ossificação se desenvolvem no centro e também nas extremidades dos ossos longos em formação. Ao iniciar a ossificação, a diáfise se desenvolve longitudinalmente no centro pela ossificação intramembranosa e a epífise se desenvolvem em cada extremidade, não simultaneamente, através da ossificação endocondral (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Durante a formação óssea, anatomicamente, aparecem zonas de crescimento, que se distinguem pelo teor de modificações na cartilagem e pelos estágios de maturação dos condrócitos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; PIZAURO JR., 2002):

- Zona de reserva: contém condrócitos aparentemente dispersos e inativos; e não há nenhuma alteração morfológica na cartilagem;
- Zona de proliferação: divisões rápidas dos condrócitos, oriundos das células progenitoras. O tempo de vida de um condrócito, entre o seu nascimento na zona proliferativa e morte na zona hipertrófica, é de aproximadamente três dias em aves de crescimento rápido;
- Zona de maturação: região onde os condrócitos passam de uma fase de pós-divisão a um estado de maturação. Caracterizado por uma fase de intensa síntese e secreção de matriz, e pelo aparecimento da enzima fosfatase alcalina.
- A zona hipertrófica: contém condrócitos volumosos e depósitos de

glicogênio e lipídeos. Matriz reduzida a tabiques delgados. Início da apoptose dos condrócitos.

- Zona de calcificação: mineralização dos tabiques delgados da matriz cartilaginosa. Término da apoptose dos condrócitos.
- Zona de ossificação: região onde aparece tecido ósseo.

O fim do crescimento longitudinal do osso varia de acordo com a espécie e ocorre quando a cartilagem se torna cada vez mais delgada e a epífise e a metáfise se fundem. Segundo Rath et al., 2000, o crescimento longitudinal dos ossos de frango, continua até a 25 semana de vida.

O modelamento do osso é um processo adaptativo, responsável pelo aumento da resistência óssea, pelo ganho de massa e corresponde principalmente ao tamanho ósseo (BARROS et al., 2008). Ocorre associado ao crescimento e termina quando a maturidade óssea é alcançada (WATKINS & SEIFERT, 2000)

A remodelagem é o termo usado para descrever processos de reabsorção e formação de tecido mineralizado, responsável pela manutenção do esqueleto pela manutenção da massa óssea e da morfologia nas aves adultas (TARDIN, 1995) e ocorre devido a presença de unidades multicelulares básicas, como o osteoclasto e osteoblasto. O fenômeno é um processo contínuo que compreende dois mecanismos sucessivos: primeiramente ocorre a reabsorção, feita pelos osteoclastos, e em seguida a formação óssea, realizada pelos osteoblastos (SEEMAN, 2008). Os osteoblastos são responsáveis pelo depósito da nova matriz óssea, que se torna subsequentemente mineralizada (WATKINS & SEIFERT, 2000). Em situações fisiológicas, a reabsorção e a formação são

fenômenos acoplados e dependentes, e o predomínio de um sobre o outro e a concentração de cálcio, pode resultar em ganho ou perda de massa óssea (SARAIVA & LAZARETTI-CASTRO, 2002), por isso a manutenção de concentrações adequadas de cálcio no sangue é prioritária sobre a manutenção da integridade estrutural do osso (JOHNSON, 2000). O processo de remodelamento é regulado por hormônios e por fatores de crescimento produzidos em vários tecidos e células e podem ter atividades autócrinas ou parácrinas. Os hormônios envolvidos na formação óssea incluem insulina, hormônio de crescimento e estrogênio, e os que estão envolvidos na reabsorção 1,25-dihidroxicolicalciferol (vitamina D3), PTH, hormônio da tireóide e glicocorticóide. O PTH estimula a reabsorção óssea ativando os osteoclastos, quando o nível de Ca no sangue está baixo. A calcitonina atua inversamente, inibindo a reabsorção óssea (WATKINS & SEIFERT, 2000).

2.4 Mineralização Óssea

O processo de mineralização se inicia pela produção e liberação de vesículas extracelulares, ricas em fosfatase alcalina, pelos osteoblastos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). O cálcio é transportado para dentro da vesícula através de canais de cálcio presentes na membrana. No interior das vesículas ele se liga aos lipídeos de membrana e as proteínas ligadoras. A fosfatase alcalina fornece o fosfato através da sua atuação sobre a hexose monofosfato, produto derivado da quebra do glicogênio. O aumento do produto iônico cálcio versus fosfato provoca a precipitação do fosfato de cálcio e a formação de cristais na forma de pequenas agulhas ou bastões. O acúmulo destes cristais rompe as membranas das vesículas e extravasam para o meio

extracelular, provocando assim o crescimento dos cristais (PIZAURO JR, 2002). A forma do sal cristalino depositado sobre a matriz orgânica do osso é constituído principalmente de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatita (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

2.4.1 Fatores que influenciam o desenvolvimento e a resistência óssea

A resistência do osso é modulada pelos constituintes da matriz extracelular, sendo o colágeno responsável pela tenacidade e os minerais pela elasticidade do tecido ósseo (RATH et al., 2000). Está diretamente relacionada com crescimento, sendo que o crescimento atinge seu máximo primeiro que a maturidade óssea (RATH et al., 1999).

Vários fatores afetam diretamente o crescimento e desenvolvimento normal do tecido ósseo, e conseqüentemente a resistência óssea. Dentre estes fatores destaca-se: fatores endócrinos, genética, sexo, idade, nutrientes (toxinas, antinutrientes e deficiências), infecções e estresses, presença de patógenos, micotoxinas e doenças (RATH et al., 2000).

Fatores endócrinos são os fatores inerentes ao próprio animal. Dentre estes se destacam os hormônios sistêmicos, principalmente o PTH, 1,25(OH)₂D₃, calcitonina, estrogênios, glicocorticóides e retinóis. Dentre os fatores de ação local destacam-se as interleucinas, fatores de crescimento (tais como o IGF-I e II), prostaglandinas (especialmente a PGE₂), neuropeptídeos e citoquinas (PRICE & RUSSEL, 1992).

Fatores exógenos são fatores externos, que podem ser alterados durante a criação das aves e que são essenciais para o ótimo crescimento dos animais.

A genética, um dos fatores exógenos, contribui para o aumento da taxa de má formação óssea em frangos, porque está voltada para o alto ganho de massa e elevadas taxas de crescimento com redução no tempo de abate. Com o melhoramento genético, houve desenvolvimento desproporcional do músculo do peito, além de diminuir a proporção dos músculos e ossos da perna, criando um desbalanço esquelético- biomecânico, provocando disfunções estruturais e dor, comprometendo assim a locomoção normal das aves (PRICE & RUSSEL, 1992).

O sexo e idade são fatores determinantes da resistência óssea. Com relação à idade, em seres humanos ocorre diminuição da força de resistência, principalmente em mulheres após o período de menopausa, tornando os ossos mais fracos e quebradiços. Mas em aves são poucos os dados sobre as mudanças ósseas relacionadas com a idade óssea. O sexo pode influenciar o crescimento e a resistência óssea devido a diferenças hormonais entre machos e fêmeas. Aves da mesma idade, porém de sexos diferentes apresentaram diferentes diâmetros de diáfise, com as fêmeas demonstrando sempre um valor menor (RATH et al., 1999). Estudos realizados por Rose et al. (1996) e Barbosa (2005) demonstraram que fêmeas crescem menos e apresentam ossos menores por possuírem taxa de crescimento menor que os machos, mas apresentam menor porosidade e maiores teores de cinzas, conseqüentemente maior resistência óssea diminuindo a incidência de problema de pernas.

Infecções e estresse podem ser fatores de risco para a integridade óssea levando à fragilidade. Embora os elementos estruturais possam contribuir muito para a maturidade e a resistência do osso, eles podem ser afetados em condições adversas alterando o metabolismo normal do osso. Infecções ósseas

tais como osteomielite e osteonecrose causam perda óssea levando à fragilidade óssea (RATH et al., 2000).

A nutrição desempenha um papel essencial para a obtenção de um tecido ósseo de alta qualidade. Dentre os nutrientes o cálcio e fósforo são os principais formadores da matriz mineral (RATH et al., 2000). Durante as últimas décadas, interesses têm sido focados no estudo do papel da vitamina D, cálcio, fósforo, cloro, zinco, cobre, cisteína, homocisteína e ácidos graxos, sobre o desenvolvimento ósseo das aves, fornecendo uma base de recomendações específicas para estes nutrientes, principalmente, Ca e P na dieta de frangos de corte. O controle da homeostase de cálcio é uma importante força motora na manutenção da resistência óssea, uma baixa concentração pode aumentar os níveis de reabsorção óssea, diminuindo a resistência. A deficiência de Ca em aves não está relacionada à alimentação, e sim a problemas de má absorção que podem estar associada à presença de fatores antinutricionais, como o fitato, celulose e taninos, que se complexam com o cálcio, deixando-o indisponível à absorção intestinal. A suplementação adequada de vitamina D na alimentação pode ser útil para facilitar a absorção de Ca. Além de vitamina D, vitaminas B6, C, K e são determinantes para a saúde óssea devido ao seu envolvimento na síntese de constituintes da matriz, como o colágeno e osteocalcina, e a formação das ligações cruzadas do colágeno (WEBER, 1999).

2.4.2 Métodos de Avaliação Óssea

Existem diversas tecnologias para se avaliar a integridade óssea e uma única metodologia não deve ser utilizada como critério exclusivo no diagnóstico de deformidades ósseas. As informações obtidas nos diferentes métodos são

complementares e fornecem um diagnóstico mais completo sobre a estrutura, conteúdo mineral e resistência dos ossos (MAZZUCO, 2005).

A determinação da integridade óssea muitas vezes utiliza técnicas invasivas como os testes biomecânicos (resistência de quebra), cinzas dos ossos e análise mineral das cinzas. Estas técnicas exigem que o animal seja sacrificado (eutanásia) para retirada dos ossos além da necessidade de maior número de animais para se obter amostragem significativa. No entanto são determinações de baixo custo, que não exige a utilização de aparelhos sofisticados.

Dentre as metodologias utilizadas, destaca-se:

- Densitometria óssea

A densidade mineral é a massa de material ósseo, tanto orgânico quanto inorgânico, mensurada por volume, e depende da absorção de radiação pelo esqueleto, provendo medidas quantitativas expressas em g/cm². Devido ao fato de a matriz inorgânica ser o principal componente da matriz óssea extracelular, a densidade mineral óssea reflete o status da mineralização do esqueleto. Sua acurácia é medida em termos do coeficiente de variação (CV) entre o peso das cinzas ósseas e o peso do conteúdo mineral ósseo (osso intacto) registrado pelo densitômetro (HAILEY et al., 1996).

Diferenças quantitativas na densidade e conteúdo mineral ósseo foram detectadas acuradamente por Schreiweis et al. (2003) em aves alimentadas com dietas deficientes em cálcio através da tecnologia DEXA. Poedeiras comerciais submetidas à muda induzida e monitoradas pelo DEXA mostraram integridade óssea reduzida quando comparadas com aves controle, não induzidas à muda (MAZZUCO, 2005). Um aumento na mineralização da tíbia de poedeiras durante

o segundo ciclo de produção foi detectado através da densitometria óssea; o componente medular da tíbia muito provavelmente contribuiu para esse aumento no conteúdo mineral (MAZZUCO, 2005).

- Ultrassonografia

É uma técnica relativamente nova e não mede a densidade mineral óssea propriamente.

- Tomografia computadorizada quantitativa (TCQ)

É uma técnica onde a tomografia computadorizada é aplicada à medida da absorção de raios X, pela utilização de um programa especial, utilizada na determinação de frações específicas dos ossos, uma vez que considera a distribuição das diferentes densidades minerais nos ossos (SILVA, 2003).

- Ressonância magnética

O exame de Ressonância Magnética é um método de diagnóstico por imagem que não utiliza radiação e permite retratar imagens de alta definição dos órgãos do corpo.

- Marcadores bioquímicos

Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo são substâncias encontradas no sangue, que retratam a formação e a reabsorção óssea, medindo a atividade de ação dos osteoblastos em diferentes estágios de diferenciação e dos osteoclastos.

- Testes biomecânicos

Parâmetros biomecânicos como resistência à quebra, módulo de elasticidade e tenacidade, são mensurados através de ensaios realizados pela

área da engenharia, como os de tração, compressão e flexão com procedimentos padronizados pela Sociedade Americana de Engenharia Agrícola, e que se baseiam na quantidade e na qualidade relativa de colágeno, água e mineral do osso (ANSI/ASAE S459-98).

2.5 Densidade Óssea –DO

Densidade óssea é definida como a massa de tecido ósseo presente numa unidade volumétrica de osso (g/cm³).

Densidade é uma grandeza física empregada para relacionar massa com o volume ocupado por esta massa. De certa forma expressa a quantidade de matéria, de partículas, que estão ocupando determinado volume.

Densidade é a relação entre a massa e o volume de um corpo e o método de avaliação da densidade mineral óssea (DMO) é denominado densitometria óssea. As unidades de medida mais empregadas são g/cm² (massa por área), g/cm³ (massa por volume).

2.6 Problemas Locomotores

Os problemas locomotores são muito importantes para a avicultura mundial, pois a dificuldade de locomoção não está apenas relacionada com perdas econômicas mensuráveis que variam entre 10 a 40% do lucro bruto por lote criado, mas também, com perdas não mensuráveis, como é o caso da queda de desempenho por retardo no crescimento das aves com claudicações, que não

conseguem chegar ao comedouro e bebedouro, tornando-se frágeis e mais leves.

Outro fator de grande importância é o bem-estar dos frangos de corte, principalmente para lotes destinados à exportação, pois além do *gait score*, que é avaliado ainda no aviário de produção, exames realizados na linha de abate, considerando a incidência de pododermatites, calos de peito, deslocamento e fraturas ósseas podem levar a desclassificação destes lotes. Em conjunto, a degeneração femoral, a discondroplasia tibial e a espondilolistese são as principais anomalias associada às causas de claudicações em frangos de corte (NÄÄS et al., 2009).

As anormalidades ósseas encontradas em frangos de corte de crescimento rápido têm sido nos últimos anos um dos temas de maior prejuízo para a indústria avícola.

Estas afecções, além de comprometerem o bem-estar das aves, diminuem a produção e qualidade dos produtos originados. Muitos sintomas decorrentes das anormalidades ósseas não são clinicamente visíveis, dificultando a quantificação dos prejuízos (FALCONE, 2007).

Enquanto a osteoporose não tem sido considerada uma doença de grande ocorrência em frangos de corte, há evidências de que algumas linhagens mostram diminuição da mineralização e aumento da porosidade dos ossos. Ossos mais fracos estão ainda mais susceptíveis a fraturas ocorridas durante a captura e transporte. Estas fraturas tanto causam dor às aves como também podem condenar ou depreciar a qualidade da carcaça. Manter os ossos intactos e prevenir anormalidades ósseas traz benefícios tanto para melhorar o bem-estar das aves, como para prevenir prejuízos econômicos (FALCONE, 2007).

É possível desenvolver novas práticas na criação avícola que assegurem bons índices de produtividade e alta qualidade do produto, sem colocar o bem-estar dos frangos em risco. Para tanto, é necessário aprofundar o conhecimento sobre a biologia dessas aves e definir limites éticos para nortear quais práticas deveriam ser banidas e quais seriam as mais recomendadas (UBA, 2009). Desta forma, os problemas locomotores devem ser prevenidos por meio de manejo adequado de cama, temperatura e dieta, uma vez que depois de estabelecidos as perdas são inevitáveis.

2.7 Avaliação e Locomoção – *Gait Score*

O sistema de *gait score* desenvolvido para frangos por KESTIN et al. (1992) tem sido usado extensivamente para avaliar problemas de patas. A metodologia consiste em observações empíricas de locomoção. GARNER et al. (2002) desenvolveram um sistema de *gait score* modificado; porém também utilizando observação individual.

O sistema de estimativa de problema biomecânico de locomoção (*gait score*) para frangos de corte foi desenvolvido na Universidade de Bristol, Inglaterra e tem sido amplamente utilizado na avaliação de problemas locomotores. A metodologia consiste em observação empírica de fatores locomotores das aves, utilizando seis níveis de problemas: 0 - sem problema; 1- move-se rápido, mas apresenta pequena deficiência; 2 - move-se rápido, mas apresenta deficiência; 3 - move-se rápido, mas apresenta deficiência maior; 4 – move-se com muita dificuldade e 5 – quase não se move, se arrasta com as asas.

Há também uma simplificação dessa regra, uma vez que, quando se utiliza os seis níveis de medidas de *gait score*, além dos extremos, é muito difícil o

diagnóstico dos níveis intermediários, principalmente aqueles 2 e 3. Esta simplificação admite três níveis de problemas, sendo: 0 – normal (ou seja, andar dez passos normalmente); 1 – médio (andar dez passos com dificuldade e apresenta desequilíbrio entre as patas); e 2 – ruim (quase não consegue andar ou anda 1 a 4 passos e senta).

Entretanto, por ser individual e subjetiva essa medida é de difícil comparação entre vários observadores, requerendo cuidado especial principalmente nas medidas intermediárias, uma vez que, tanto o frango normal, como aquele que não consegue andar (extremos) são de fácil detecção.

DAWKINS et al. (2004) escolheram uma única ave ao acaso em dez pontos do galpão e observou cada uma destas aves andar 10 passos e atribuiu o *gait score* de 0 a 2, sendo 0 para aves que andaram 10 passos normalmente, 1 para aves que andaram 10 passos com dificuldade, apresentando desequilíbrio entre as patas e 2 para aves que não conseguiram andar ou andaram de 1 a 4 passos e sentaram.

WEBSTER et al. (2008) compararam o sistema descrito por KESTIN et al. (1992) com o sistema de três pontos e encontraram que os dois são confiáveis e que houve concordância entre diferentes observadores para os dois sistemas. Porém, houve maior concordância para o sistema de três pontos e como ele é mais simples de se realizar, é mais confiável para avaliação no campo.

2.8 Índice de Seedor

Para a determinação do índice de Seedor (indicativo da densidade óssea, onde quanto maior seu valor, mais denso é o osso), os ossos que foram medidos em seu maior comprimento, com o auxílio de paquímetro digital (Digimess) e

tiveram seu peso obtido com o auxílio de balança semi-analítica digital (Shimadzu AUY220). O valor obtido ao se dividir o peso do osso por seu comprimento e denominado índice de Seedor (SEEDOR, 1993).

$$\text{Índice de Seedor} = \text{Peso (g)} / \text{Comprimento (mm)}.$$

Em razão da escassez de informações científicas na literatura, quanto ao uso da alga *Lithothamnium calcareum* para frangos de corte, objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar o calcário marinho produzido por esta fonte, nas rações de frangos de corte até 42 dias de idade, em substituição à fonte de cálcio tradicional (calcário calcítico).

De acordo com Dias (2000), a utilização de materiais marinhos para uso agrícola parece muito antiga. Plínio em sua "Histoire Naturelle" diz que a Bretanha e os gauleses inventaram uma arte de fertilizar o solo por meio de uma certa terra marga. Caudem, em sua obra Britannia no início do século XVII escreveu que "o solo do Condado de Devonshire seria quase estéril se não fosse melhorado por um tipo de areia que se retira do mar e que o torna muito fértil, se impregnando de alguma forma na terra e por esta razão está areia se compra muito caro nos lugares mais afastados da costa".

A indústria de utilização do *Lithothamnium* iniciou-se e desenvolveu-se na França a partir do final da Segunda Guerra Mundial. Foi inicialmente utilizada somente como fertilizante, e a empresa pioneira foi a Timac da França, que em 1956 vendia o fertilizante NPK diferenciando dos demais com a adição da farinha de algas calcáreas *Lithothamnium*, tornando-se assim, o segundo maior fabricante de fertilizantes da Europa e o primeiro da França. Cabioch (1970) cita que desde a antiguidade, as algas calcárias vem sendo utilizadas na Europa para tratamento de solos ácidos.

Além da França, a Irlanda (BOSENCE, 1976) e Inglaterra começaram a produzir para consumo interno, pequenas quantidades voltadas principalmente para a complementação da ração animal, o mesmo acontecendo no Japão. No Brasil, com exceção do petróleo, a exploração de recursos minerais marinhos tem sido pontual e descontínua, restringindo-se à extração de areias para regeneração de praias e extração localizada de conchas e algas calcárias nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo (GOMES, et al., 2000). A utilização do *Lithothamnium* no Brasil se restringia somente na agricultura, e nos últimos anos, com o lançamento de produtos à base de *Lithothamnium calcareum* como suplemento em rações para animais, este vem despertando o interesse de pesquisas de instituições públicas e privadas. A alga calcária é extraída do seu meio por processos manuais e mecânicos, e a matéria prima "in natura" é lavada, desidratada e moída, e em seguida ensacada.

3 A UTILIZAÇÃO DE ALGAS CALCÁRIAS NA PRODUÇÃO ANIMAL

Como fonte alternativa de cálcio, pode ser utilizado a farinha de algas calcárias (*Lithothamnium calcareum*). De acordo com Dias (2000), as algas calcárias são compostas basicamente por carbonato de cálcio e magnésio, além de conter mais de 20 oligoelementos, presentes em quantidades variáveis, tais como Fe, Mn, B, Ni, Cu, Zn, Mo, Se e Sr. O produto pode ser aplicado no estado natural ou após secagem e moagem. As principais características que potencializam a atuação deste produto são atribuídas à maior disponibilidade dos micronutrientes que se encontram adsorvidos nas paredes celulares, sendo assim facilmente assimiláveis pelas plantas e animais e à elevada porosidade das algas (>40%) que propicia maior superfície específica de atuação.

3.1 A Utilização na alimentação de equinos

Os equinos são animais considerados atletas, e segundo Berberian e Lenci (1983) têm-se observado excelentes cavalos que tiveram uma campanha muito curta por apresentarem alterações graves dos ossos e tendões.

Segundo Berberian e Lenci (1983), a utilização do *Lithothamnium calcareum* como suplemento mineral na alimentação de cavalos P.S.I. revelou-se um excelente corretivo mineral e orgânico, melhorando e aumentando a disponibilidade biológica dos nutrientes existentes na ração.

Os mesmos autores Lenci e Berberian (1983) estudaram cinco casos de fraturas ósseas em cavalos P.S.I. de corrida no Jockey Club de São Paulo-Brasil, (onde a recomendação veterinária inicial apontava a cirurgia como melhor

solução), foram adicionados 10 gramas duas vezes ao dia da farinha de algas calcárias *Lithothamnium calcareum* na ração, com cada caso acompanhado com a utilização do raio X e observaram que após trinta dias, as fissuras consolidaram-se. Depois de sessenta dias tendo prosseguido a terapia, os animais já se encontravam em condições de retornarem gradativamente às pistas.

3.2 A utilização na alimentação de codornas e suínos

Trabalhando com codornas japonesas (*Coturnix japonica*) Perali et al. (2003) referenciaram aumento na produção de ovos em 4,16 pontos percentuais em relação à testemunha na adição de 0,25% deste produto. Porém o aumento na produção de ovos não foi observado por Melo et al. (2008a; 2008b), os quais avaliaram a utilização da farinha de algas calcárias *Lithothamnium calcareum* no desempenho e qualidade de ovos de codornas japonesas, e observaram que o suplemento mostrou evidências de melhoria na casca dos ovos e um aumento significativo no peso da gema, porém as características de desempenho não foram influenciadas pela utilização da farinha de algas calcárias.

Fialho et al. (1992), avaliando algumas fontes de suplementação de cálcio para suínos, relataram que as dietas tanto para crescimento como para terminação, podem ser suplementadas com cálcio provenientes do calcário calcítico, farinha de ostras, gesso ou *Lithothamnium calcareum*.

3.3 A utilização na alimentação de outras espécies

De acordo com Dutra et al. (1989), a utilização da alga calcária em rações de escargot *Helix aspersa*, pode ser utilizada como fonte de cálcio com efeitos significativos no crescimento do mesmo, quando comparado com calcário e farinha de ostras. Esses animais em crescimento demandam uma grande quantidade de cálcio para a formação e crescimento da concha, e o *Lithothamnium calcareum* foi capaz de suprir essas necessidades de modo significativamente superior às demais fontes, provavelmente pela sua maior solubilidade em relação às demais.

Em pesquisa com ratos, Assoumani (1997) relatou que a farinha de algas apresentou vantagens em relação ao calcário no crescimento do osso fêmur e na biodisponibilidade de cálcio, sugerindo que provavelmente a concentração de magnésio e a porosidade da alga seriam os responsáveis por estas diferenças, já que a farinha de algas apresenta porosidade (>40%) que propicia maior superfície específica de atuação.

3.4 A utilização na alimentação de ruminantes

Utilizando a farinha de algas marinhas como suplemento para vacas leiteiras, Melo et al. (2004a) estudaram o efeito de diferentes doses e concluíram que 50 g/animal/dia promoveram aumento da produção e do teor de gordura no leite, assim como o teor de cálcio e magnésio no sangue dos animais. É desconhecida a relação da farinha de algas com o aumento na produção e do teor de gordura no leite, porém o aumento do teor de cálcio e

magnésio no sangue dos animais pode estar relacionado à maior biodisponibilidade desses nutrientes.

Melo et al. (2008), relataram que para bovinos de corte, a utilização de 10% de farinha de algas calcárias em substituição à mistura mineral comercial, promoveu aumento de 26% no ganho de peso dos animais, fato também observado por Souza (2002), que avaliou o uso de farinha de algas calcárias na suplementação mineral de bovinos de corte e observou um ganho de peso 23% superior em relação aos animais que não receberam o suplemento, concluindo que o ganho de peso de um único dia é mais do que suficiente para pagar o suplemento usado durante o mês. Estes resultados de melhora no ganho de peso podem estar relacionados com o aumento da digestibilidade aparente da proteína bruta de forragens, fato também observado por Orsine et al. (1989) e Melo et al. (2008) os quais relataram que a adição da farinha de algas calcárias na dieta de bovinos melhorou a qualidade e a produção de leite, promoveu aumento no ganho de peso e melhorou a digestibilidade aparente da proteína bruta de forragens de baixa qualidade.

Em dietas com altos níveis de concentrado TMR (Total Mixed Rations) Cruywagen et al. (2004), observaram que a inclusão de *Lithothamnium calcareum* na dieta como tamponante aumentou o pH ruminal, e que a melhor dose para otimizar a produção de leite foi de 80 gramas por dia do tamponante na dieta. Corroborando com estes resultados, Montañez-Valdez et al. (2007), relataram que a inclusão de *Lithothamnium calcareum* como tamponante em dietas com 70% de concentrado, aumentou o pH ruminal e aumentou o desenvolvimento de protozoários ruminais e não prejudicou a digestibilidade.

4 MATERIAL E MÉTODO

Os ensaios de desempenho foram realizados no segundo semestre de 2019, no Aviário Experimental da UNESP de Araçatuba – SP, no período de 12 de agosto a 23 de setembro de 2019. Durante este período as aves foram criadas em um galpão de alvenaria com orientação Leste-Oeste, climatizado por sistema de resfriamento evaporativo com ventilação de pressão negativa, coberto com telhas especiais constituídas de material isolante e com cortinas nas laterais.

O sistema de iluminação adotado foi o contínuo (natural + artificial) e a temperatura do galpão foi registrada diariamente através de anotações das temperaturas no painel informadas por sensores. A maior temperatura registrada foi 32,9°C e a menor foi 20,2°C.

Para as análises de desempenho foram utilizados 400 pintos de corte machos, com um dia de idade da linhagem comercial Cobb 500. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e oito repetições, totalizando 40 parcelas experimentais, composta por 10 aves cada, sendo assim definido os tratamentos: A - ração referência à base de milho e farelo de soja e quatro dietas com diferentes inclusões de *Lithothamnium calcareum* (0,50%; 1,00%; 1,50%; 2,00%), compondo os demais tratamentos – B, C, D e E, respectivamente.

Para as fases, inicial e crescimento, foram formuladas rações (Tabelas 1,2 e 3), compostas basicamente por milho e farelo de soja, para atender às exigências de acordo com as recomendações do Programa Prático de Formulação de Ração – PPFR (GARCIA-NETO, 2011).

O experimento foi realizado no período de 1 a 42 dias de idade, analisando os seguintes parâmetros de desempenho zootécnico: consumo de ração, ganho

de peso e conversão alimentar e para isso, as aves e as rações foram pesadas a cada 7 dias. Quando houve mortalidade, efetuou-se o registro da data de ocorrência ao longo do período experimental e esse dado foi utilizado para o cálculo do consumo de ração e conversão alimentar corrigida.

Tabela 1 – Composição percentual e calculada da dieta basal e das dietas com *Lithothamnium calcareum* na fase inicial (1-21 dias)

	A	B	C	D	E
Ingredientes	%	%	%	%	%
Soja, farelo 45% PB	49,13	49,14	49,16	49,31	49,51
Milho, grão 7,86% PB	42,15	42,04	41,93	41,15	40,12
Óleo de soja	4,29	4,32	4,36	4,62	4,97
Polimax F - pré inicial (Fatec)*	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79
Fosfato bicálcico	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Cloreto de sódio	0,60	0,59	0,59	0,58	0,57
Calcário calcítico	1,01	0,56	0,12	0,00	0,00
Lisina - HCl	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Ronozyme Hiphos(GT)-broilers/10000 FYT/g	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>Lithothamnium calcareum</i>	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição calculada					
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3000	3000	3000	3000	3000
Proteína bruta (%)	25,31	25,31	25,31	25,31	25,31
Cálcio total (Ca) (%)	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01
P disponível (P disp) (%)	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Relação Ca/P disponível	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Potássio (K) (%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Sódio (Na) (%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Cloro (Cl) (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Ácido linoléico (%)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Proteína bruta dig. ileal est. (%)	22,50	22,50	22,50	22,50	22,50
Lisina dig. ileal est. (%)	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Metionina dig. ileal est. (%)	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Met + cis dig. ileal est. (%)	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Treonina dig. ileal est. (%)	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Triptofano dig. ileal est. (%)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Arginina dig. ileal est. (%)	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43

*Conteúdo/kg – vit. A=13.000.000 UI, vit. D3=3.300.000 UI, vit. E=50.000 mg, vit. B1=3.640 mg, vit. B2=17.900 mg, vit. B6=6.000mg, vit. B12=10.000 mg, ácido pantotênico=18.190 mg, ácido nicotínico=55.000 mg, ácido fólico=1.269.000 mg, biotina=1.269 mg, colina=550 mg, cobre=11.000 mg, ferro=58.000 mg, manganês=81.000 mg, selênio=350 mg, zinco=76.000 mg, iodo=1.185 mg, veículo qsp 1000g.

*Polimix aves de corte - FATEC - Suplemento Vitaminico e Mineral. Cada KG contém: vit. A, 7.500.000 UI; vit. D3 , 1.000.000 UI; vit.E, 7.500 mg; vit. K (bissulfeto de menadiona), 3000 mg; vit. B1 , 250 mg; niacina, 20.000 mg; vit. B12, 7500 mg; ácido fólico, 2500 mg; mn, 30.000 mg; fe, 15.000 mg; co, 75 mg; se, 75 mg; bht, 5000 mg.

Tabela 2 - Composição percentual e calculada da dieta basal e das dietas com *Lithothamnium calcareum* na fase de crescimento (22-35 dias)

	A	B	C	D	E
INGREDIENTES	%	%	%	%	%
Soja, farelo 45% PB	46,23	46,14	45,94	45,04	44,78
Milho, grão 7,86% PB	44,62	44,63	44,64	44,71	44,15
Óleo de soja	6,17	6,20	6,27	6,60	6,92
Polimax F1- inicial (Fatec)*	1,07	1,07	1,07	1,08	1,09
Calcário calcítico	0,82	0,38	0,00	0,00	0,0000
Cloreto de sódio	0,56	0,55	0,55	0,54	0,53
Fosfato bicálcico	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Ronozyme Hiphos(GT)-broilers /10000 FYT/g	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>Lithothamnium calcareum</i>	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição calculada					
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3200	3200	3200	3200	3200
Proteína bruta (%)	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62
Cálcio total (Ca) (%)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
P disponível (P disp) (%)	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Relação Ca/P disponível	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Potássio (K) (%)	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
Sódio (Na) (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cloro (Cl) (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Ácido linoléico (%)	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07
Proteína bruta dig. ileal est. (%)	20,45	20,45	20,45	20,45	20,45
Lisina dig. ileal est. (%)	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23
Metionina dig. ileal est. (%)	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Met + cis dig. ileal est. (%)	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91
Treonina dig. ileal est. (%)	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Triptofano dig. ileal est. (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Arginina dig. ileal est. (%)	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32

*Conteúdo/kg – vit. A=9.000.000 UI, vit. D3=2.400.000 UI, vit. E=26.000 mg, vit. B1=2.590 mg, vit. B2=8.900 mg, vit. B6=2.675 mg, vit. B12=10.000 mg, ácido pantotênico=12.950 mg, ácido nicotínico=39.200 mg, ácido fólico=900.000 mg, biotina=898 mg, colina=392 mg, cobre=8.000 mg, ferro=41.000g, manganês=58.000 mg, selênio=250 mg, zinco=54.000 mg, iodo=843 mg, veículo qsp 1000 g.

*Polimix aves de corte - FATEC - Suplemento Vitamínico e Mineral. Cada KG contém: vit. A, 7.500.000 UI; vit. D3 , 1.000.000 UI; vit.E, 7.500 mg; vit. K (bissulfeto de menadiona), 3000 mg; vit. B1 , 250 mg; niacina, 20.000 mg; vit. B12, 7500 mg; ácido fólico, 2500 mg; mn, 30.000 mg; fe, 15.000 mg; co, 75 mg; se, 75 mg; bht, 5000 mg.

Tabela 3 - Composição percentual e calculada da dieta basal e das dietas com *Lithothamnium calcareum* na fase de terminação (36-42 dias)

	A	B	C	D	E
INGREDIENTS	%	%	%	%	%
Soja, farelo 45% PB	58,00	57,89	57,40	56,37	55,33
Milho, grão 7,86% PB	34,49	34,51	34,60	34,79	34,99
Óleo de soja	4,81	4,84	5,01	5,35	5,70
Polimax F1- Crescimento (Fatec)*	1,27	1,27	1,27	1,27	1,27
Calcário calcítico	0,70	0,26	0,00	0,00	0,00
Cloreto de sódio	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
Fosfato bicálcico	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
Lisina - HCl	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06
Bicarbonato de sódio	0,03	0,02	0,01	0,00	0,00
Ronozyme Hiphos(GT)-broilers /10000 FYT/g	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>Lithothamnium calcareum</i>	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada					
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta (%)	19,54	19,54	19,54	19,54	19,54
Cálcio total (Ca) (%)	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
P disponível (P disp) (%)	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Relação Ca/P disponível	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Potássio (K) (%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Sódio (Na) (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (Cl) (%)	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Ácido linoléico (%)	1,04	1,04	1,04	1,04	1,04
Proteína bruta dig. ileal est. (%)	17,67	17,67	17,67	17,67	17,67
Lisina dig. ileal est. (%)	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07
Metionina dig. ileal est. (%)	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Met + cis dig. ileal est. (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Treonina dig. ileal est. (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano dig. ileal est. (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Arginina dig. ileal est. (%)	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14

*Conteúdo/kg – vit. A=7.000.000 UI, vit. D3=2.000.000 UI, vit. E=25.000 mg, vit. B1=2.120 mg, vit. B2=8.500 mg, vit. B6=2.158 mg, vit. B12=10.000 mg, ácido pantotênico=10.500 mg, ácido nicotínico=33.000 mg, ácido fólico=700.000 mg, biotina=736 mg, colina=320 mg, cobre=6.000 mg, ferro=34.000 mg, manganês=47.000 mg, selênio=204 mg, zinco=44.000 mg, iodo=689 mg, veículo qsp 1000g.

*Polimix aves de corte - FATEC - Suplemento Vitamínico e Mineral. Cada KG contém: vit. A, 7.500.000 UI; vit. D3, 1.000.000 UI; vit. E, 7.500 mg; vit. K (bissulfeto de menadiona), 3000 mg; vit. B1, 250 mg; niacina, 20.000 mg; vit. B12, 7500 mg; ácido fólico, 2500 mg; mn, 30.000 mg; fe, 15.000 mg; co, 75 mg; se, 75 mg; bht, 5000 mg.

Aos 14, 28 e 42 dias do experimento, foi selecionada uma ave por boxe com o peso médio aproximado à média de peso das aves da unidade experimental, para o abate (insensibilização elétrica seguida de sangria) e a coleta das tíbias, para mensuração da densidade destes ossos.

A densidade óssea foi estimada pelo Índice de Seedor, que é o valor obtido ao se dividir o peso do osso por seu comprimento (SEEDOR, 1995). Para isso, os ossos foram medidos em seu maior comprimento (mm) com um paquímetro digital (Digimess) e foram pesados (mg) em uma balança semi-analítica digital (Shimadzu AUY220). A medida da largura das tíbias foi utilizada como covariável na análise estatística. Para essa mensuração, cada tíbia foi medida em três regiões (diáfise, metáfise proximal e metáfise distal) com paquímetro digital.

Em relação à avaliação da locomoção - *gait score* - foram realizadas duas observações nas aves (uma aos 35 dias e outra aos 49 dias de idade).

Para estas avaliações, foi observado o deslocamento das mesmas dentro de seus respectivos boxes, em uma distância de 1 metro. Para avaliação da medida foi adotada uma escala de escores de 0 a 2, em que: uma ave normal, com escore 0 deve andar normalmente, sem claudicação e dar no mínimo 10 passos ininterruptos em um metro; uma ave com escore 1 anda com dificuldade e dá entre 6 a 10 passos em um metro; a ave com escore 2 tem muita dificuldade para andar e dá menos que 6 passos em um metro, conforme quadro abaixo:

Gait score	Parâmetros de avaliação
0	Caminha um metro sem dificuldade. A marcha é suave. O pé enrola quando levantado, e a ave parece bem equilibrada. A ave dá 10 passos sem dificuldade.
1	A ave caminha com alguma dificuldade. Manca claramente ou anda de forma desajeitada. Dá de 6 a 10 passos ininterruptos.
2	A ave não é capaz de percorrer um metro. Caminha com muita dificuldade, apóia as asas e dá menos de 6 passos ininterruptos.

Adaptado de Webster et al., 2008; Fernandes et al., 2012

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificar a existência de diferenças significativas entre as amostras, enquanto a comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o pacote estatístico SAS (SAS, 2009). Além disso, os resultados foram submetidos à análise de variância para verificar os efeitos dos tratamentos e, posteriormente, de acordo com os procedimentos do PROC RSREG do sistema SAS, estudados os efeitos dos fatores utilizando a análise de superfície de resposta (RODRIGUES & IEMMA, 2009).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Na alimentação de aves o cálcio possui um importante papel, principalmente para poedeiras, pois necessitam de grande concentração de cálcio disponível para formação da casca dos ovos e também frangos de corte, por possuírem uma alta taxa de crescimento em pouco tempo, acarretando problemas na formação dos ossos, principalmente displasia tibial.

Pelícia et al. (2006) estudaram o efeito da combinação de fontes de cálcio sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais, e concluíram que é possível a inclusão de cálcio marinho *Lithothamnium* na dieta de poedeiras em até 45% de substituição do calcário calcítico, sem que ocorram prejuízos ao desempenho e a qualidade dos ovos, desde que economicamente viável.

Em frangos de corte, nos estudos realizados por Zanini et al. (2000a), utilizando farinha de algas calcárias como fonte de cálcio na ração de frangos de corte, concluíram que o uso de farinha de algas pode substituir totalmente o calcário sem prejudicar o desempenho dos animais, porém devemos nos atentar sobre o custo final desta substituição. De acordo com Airhart et al. (2002), o cálcio proveniente do *Lithothamnium calcareum* apresentou maior biodisponibilidade do que aquele proveniente do calcário, resultando em melhor conversão alimentar em frangos de corte. Efeitos de melhora na conversão alimentar também foram observados por Pope et al. (2002), em frangos de corte suplementados com *Lithothamnium calcareum*, os quais apresentaram maior ganho de peso e melhor rendimento de peito, devido a melhora na conversão alimentar.

Estes resultados de melhora na conversão alimentar podem estar relacionadas à maior solubilidade do cálcio proveniente *Lithothamnium calcareum*, fato observado por Melo et al. (2008), onde avaliaram a solubilidade *in vitro* de diversas fontes de cálcio e observaram que a farinha de algas calcárias *Lithothamnium calcareum* apresentou valores maiores de solubilidade do que as demais fontes estudadas.

Sobre características de carcaça de frangos, não foram verificados efeito significativo do uso de farinha de algas calcárias sobre a composição da carcaça de frangos de corte (ZANINI et al., 2002). Anteriormente, Zanini et al. (2000b) observou que a utilização de farinha de algas calcárias também não influenciou a deposição de gordura abdominal na carcaça de aves.

Pela análise dos resultados deste experimento verificou-se que o modelo estatístico foi altamente significativo para todas as variáveis de desempenho estudadas, o que demonstra sua confiabilidade e consistência. As variáveis foram altamente influenciadas pelo nível de inclusão de *Lithothamnium calcareum* na ração das aves, e também pela idade dos animais. A interação entre as variáveis “nível de inclusão de *Lithothamnium calcareum*” e “idade das aves” não foi significativa para a conversão alimentar e peso. Verificou-se que o peso e o consumo aumentam com a idade das aves, e a conversão alimentar piora, ficando mais alta (ROSTAGNO et al., 2005), conforme Tabela 4.

Quanto aos resultados da densidade óssea, observou-se que no momento de maior crescimento das aves, é favorecida pelo nível de suplementação de 1% de *Lithothamnium calcareum* na ração.

Tabela 4 – Desempenho produtivo das aves alimentadas com ração contendo níveis crescentes de *Lithothamnium calcareum* (de 0 a 2%), de acordo com a idade.

Tratamento			
<u>% Lothar®</u>	Peso	Consumo	Conv. Alim.
0	1.612,80 ^b	2.514,81	1,34 ^a
0,5	1.668,39 ^a	2.556,38	1,33 ^{ab}
1,0	1.685,23 ^a	2.560,76	1,28 ^c
1,5	1.611,18 ^b	2.396,92	1,30 ^{bc}
2,0	1.574,63 ^b	2.330,94	1,33 ^{ab}
<u>Idade (d)</u>			
1	40,45 ^f	-	-
14	497,90 ^e	532,98	1,07 ^e
21	1.060,76 ^d	1.218,11	1,17 ^d
28	1.837,18 ^c	2.228,68	1,33 ^c
35	2.709,08 ^b	3.452,78	1,41 ^b
42	3.641,53 ^a	4.927,25	1,62 ^a
CV (%)	5,16	4,97	5,22
ANOVA		Pr > F	
Modelo	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
% Lothar® (L)	< 0,0001	< 0,0001	0,0004
Idade (I)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
(L) x (I)	0,1800	0,0008	0,9907

^aMédias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

CV: coeficiente de variação

O importante, ao analisar o efeito da idade, é comparar com as metas de desempenho preconizadas pela empresa - Cobb Vantress -, para a linhagem. A Tabela 5 apresenta as metas de desempenho para os parâmetros peso,

consumo e conversão alimentar, conforme o manual de nutrição e desempenho da linhagem Cobb 500 (COBB-VANTRESS, 2013).

Tabela 5 - Metas de desempenho para lotes de machos da linhagem Cobb 500, segundo a idade (COBB-VANTRESS, 2013).

<u>Idade</u>	Peso (kg)	Consumo (kg)	Conversão Alimentar
14 dias	0,475	0,475	1,000
21 dias	0,938	1,106	1,179
28 dias	1,531	2,085	1,362
35 dias	2,217	3,435	1,549
42 dias	2,953	4,994	1,691

Comparando as médias observadas neste experimento com as metas de desempenho da linhagem Cobb 500, é possível concluir que as condições de criação das aves foram adequadas, uma vez que o desempenho do lote cumpriu e, em alguns pontos, até superou as metas preconizadas pela empresa responsável pela linhagem.

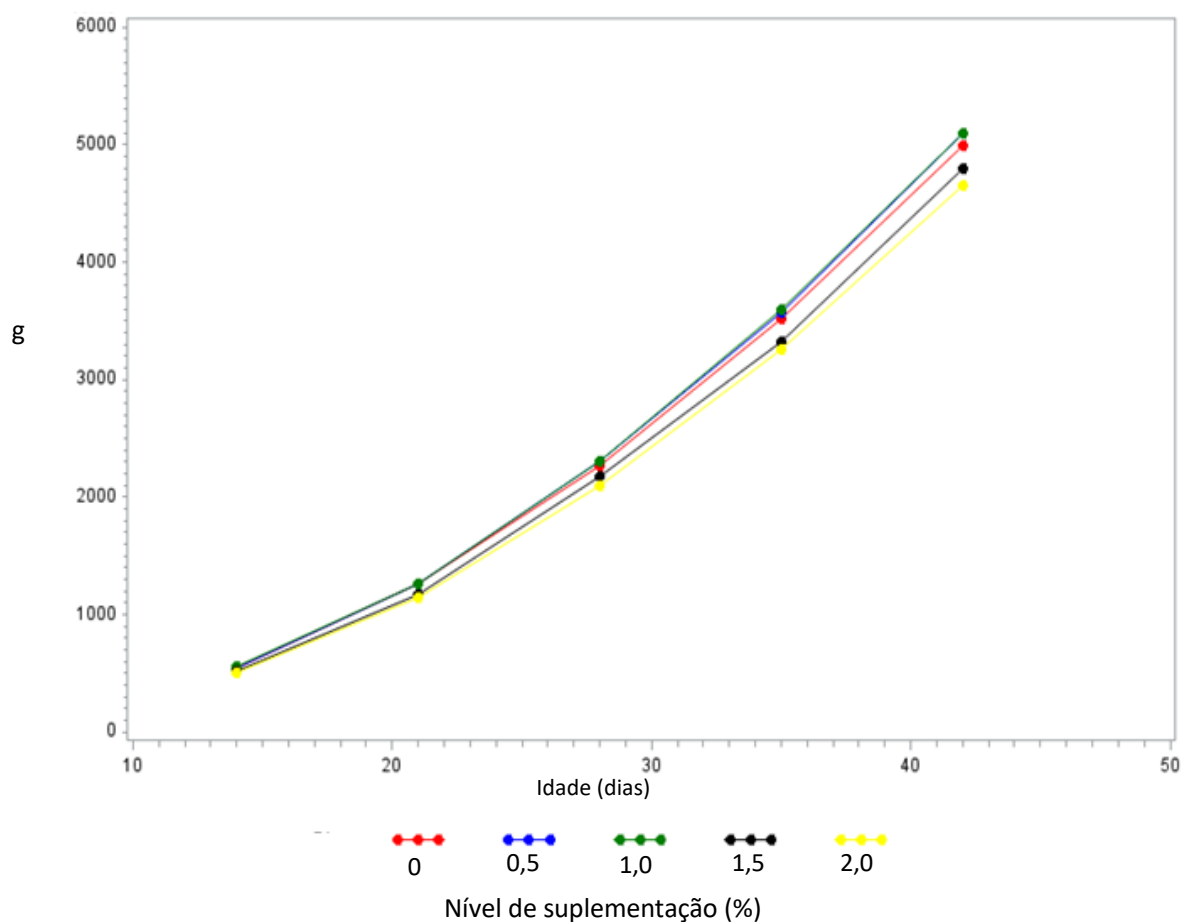
A conversão alimentar foi melhor (ou seja, menor) nos grupos alimentados com ração contendo 1 e 1,5% de *Lithothamnium calcareum*, diferindo dos lotes que receberam ração sem *Lithothamnium calcareum*. Os grupos que receberam rações adicionadas de 0,5 ou 2% de *Lithothamnium calcareum* apresentaram conversão alimentar mais elevada (aumentando o consumo de ração em 5%), não diferindo das aves que não receberam *Lithothamnium calcareum*. Essa observação indica que o nível ideal de inclusão na ração de frangos de corte é entre 1 e 1,5%.

Na análise do parâmetro consumo, não é possível considerar as médias apresentadas na Tabela 4, uma vez que houve interação significativa entre as

variáveis “nível de inclusão de *Lithothamnium calcareum* na ração” e “idade das aves”, sendo necessário fazer o desdobramento das variáveis.

Em relação ao parâmetro peso, é possível observar que não houve diferença entre as médias de peso dos grupos que receberam 1 e 1,5% de *Lithothamnium calcareum* na ração após os 21 dias. Considerando as médias de peso aos 14 e 21 dias, que é o período em que a formação óssea – e, portanto, a demanda de cálcio pelas aves – é maior, os resultados indicam melhor desempenho das aves que receberam 1% de *Lithothamnium calcareum* na ração.

Figura 3 – Comportamento do consumo de ração com a idade das aves, segundo o nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



Foi necessário fazer o desdobramento das variáveis devida à interação entre elas, conforme Tabela 6.

Tabela 6 - Desdobramento da interação estatística entre % de *Lithothamnium calcareum* na ração e idade das aves para a variável CONSUMO.

% <i>Lithothamnium calcareum</i>	Idade das aves (dias)				
	14	21	28	35	42
0	547,38 ^a	1.259,77 ^a	2.261,76 ^{ab}	3.514,71 ^a	4.990,40 ^a
0,5	549,63 ^a	1.255,09 ^a	2.311,11 ^a	3.569,11 ^a	5.097,00 ^a
1,0	550,50 ^a	1.258,19 ^a	2.302,08 ^a	3.596,33 ^a	5.096,70 ^a
1,5	515,00 ^{ab}	1.174,36 ^b	2.170,01 ^{bc}	3.328,73 ^b	4.796,50 ^{ab}
2,0	502,38 ^b	1.143,16 ^b	2.098,46 ^c	3.255,03 ^b	4.655,70 ^b

^a Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

O consumo parece não diferir muito entre os tratamentos até 28 dias. Depois, aos 35 e 42 dias, as curvas se distanciam um pouco. Aparentemente, o consumo das rações com os maiores níveis de suplementação – 1,5 e 2,0% - foi menor que das demais.

Figura 4 – Comportamento do peso das aves com a idade, segundo o nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.

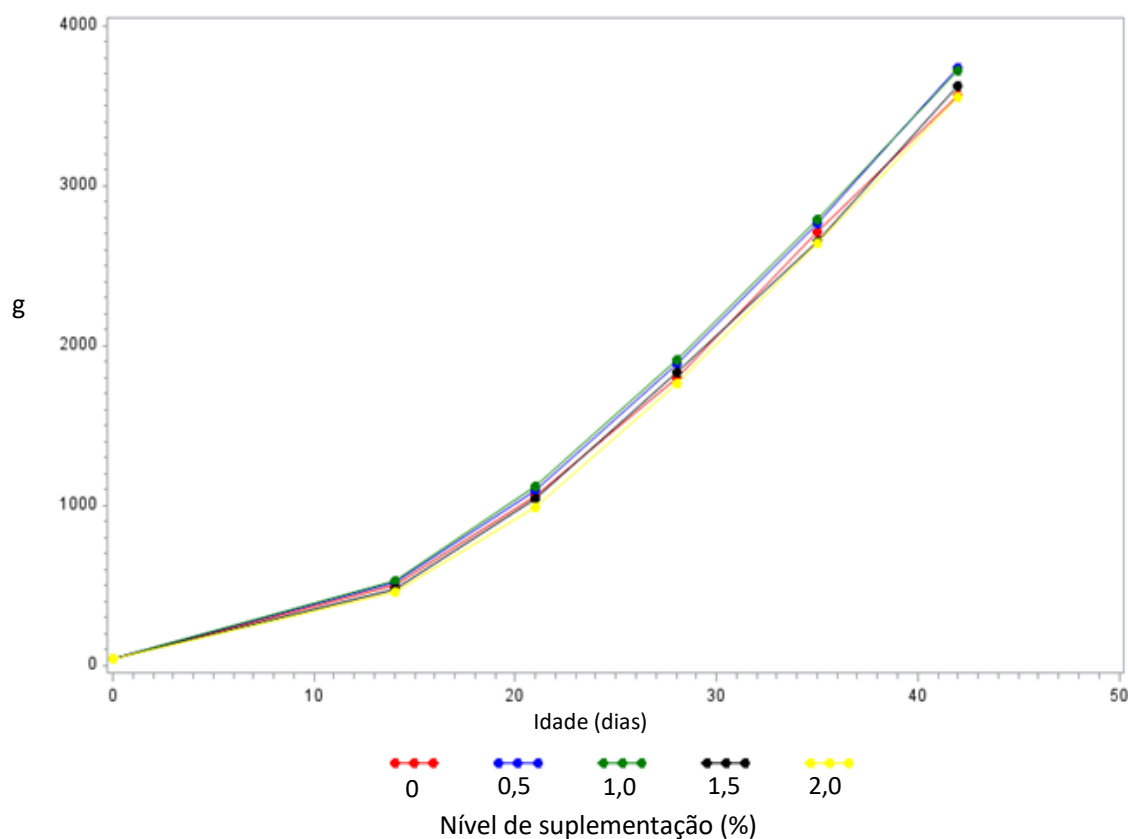


Tabela 7 - Comparação das médias de PESO das aves para cada faixa de idade, segundo a % de *Lithothamnium calcareum* na ração.

% <i>Lithothamnium calcareum</i>	Idade das aves (dias)					
	1	14	21	28	35	42
0	40,63	502,75 ^{bc}	1.058,35 ^b	1.800,44 ^{ab}	2.708,31	3.566,35 ^{bc}
0,5	40,50	518,38 ^{ab}	1.092,92 ^{ab}	1.885,02 ^{ab}	2.759,53	3.741,05 ^a
1,0	40,50	530,38 ^a	1.121,53 ^a	1.909,95 ^a	2.787,23	3.721,81 ^{ab}
1,5	40,38	478,88 ^{cd}	1.039,97 ^{bc}	1.830,52 ^{ab}	2.649,84	3.627,52 ^{abc}
2,0	40,25	459,13 ^d	991,04 ^c	1.765,95 ^b	2.640,48	3.550,91 ^c

^a Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

A Tabela 7 foi disponibilizada para dar maior visibilidade à variável PESO, uma vez que o desdobramento não seria necessário, pois não houve interação significativa entre as variáveis para este parâmetro.

Figura 5 – Comportamento da Conversão Alimentar (CA) com a idade das aves, segundo o nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.

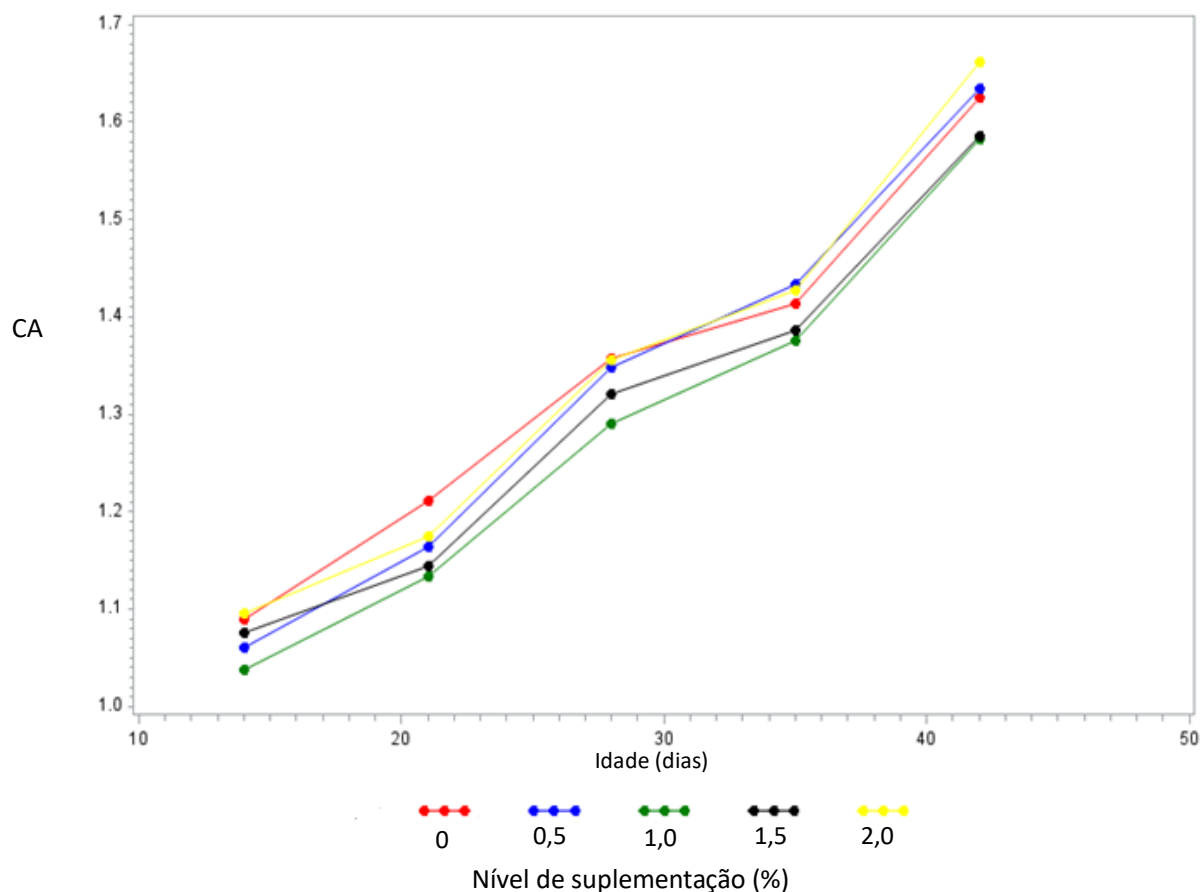


Tabela 8 - Comparação das médias de CONVERSÃO ALIMENTAR (CA) das aves para cada faixa de idade, segundo a % de *Lithothamnium calcareum* na ração.

<u>% <i>Lithothamnium calcareum</i></u>	Idade das aves (dias)				
	14	21	28	35	42
0	1,09	1,21 ^a	1,36	1,41	1,62
0,5	1,06	1,16 ^{ab}	1,35	1,43	1,63
1,0	1,04	1,13 ^b	1,29	1,38	1,58
1,5	1,08	1,14 ^b	1,32	1,39	1,59
2,0	1,09	1,17 ^{ab}	1,36	1,43	1,66

^a Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

Observou-se que os níveis de suplementação de 1% e 1,5% de *Lithothamnium calcareum* favoreceram a CA, embora a diferença em relação ao controle só tenha se evidenciado estatisticamente aos 21 dias de idade. Apesar de não ser necessário o desdobramento, este foi disponibilizado (Tabela 8) para melhorar a visualização do comportamento das variáveis.

Os dados foram também analisados pela metodologia de superfície de resposta, visando definir o nível de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum* que otimizasse os parâmetros de desempenho estudados.

A metodologia de superfície de resposta também foi empregada para estudar o efeito da dieta na densidade óssea das aves.

O resultado dessa análise pode ser visto em gráficos de contornos, numa representação bidimensional (figuras 6,8,10 e 12), e em representações gráficas tridimensionais, nas figuras 7, 9, 11 e 13.

Nos gráficos de contorno, cada faixa de resposta é representada por um símbolo, e corresponde a uma determinada altura da superfície de resposta.

Na sequência da análise, foi determinada a região de resposta ótima, que, dependendo da variável estudada, pode ser a região de resposta mínima (como no caso da conversão alimentar) ou máxima (como peso, por exemplo).

Nesse estudo de modelo da equação, foram avaliadas as significâncias das interações e dos termos quadráticos. Os termos quadráticos (idade x idade ou nível de suplementação x nível de suplementação) revelaram-se significativos para todas as variáveis estudadas – peso, consumo, conversão alimentar e densidade óssea – indicando que o efeito da idade e da dieta sobre essas variáveis apresenta um comportamento não linear, sendo melhor representado por uma curva. Para a variável “consumo”, a interação entre idade das aves e nível de suplementação também foi significativo, mostrando a dependência entre os fatores estudados. Em termos práticos, significa que, para determinar qual o melhor nível de suplementação, é preciso levar em conta qual é a idade ou a fase de vida das aves.

A etapa seguinte da análise de superfície de resposta foi a determinação do ponto estacionário (ponto que otimiza a resposta estimada) para os parâmetros estudados (peso, consumo, conversão alimentar e densidade óssea). Esses pontos poderiam ser representados por um valor máximo, mínimo ou por um “ponto de sela”.

Essa determinação pode ser feita pelos gráficos de contornos do modelo de regressão para cada parâmetro (Figuras 6, 8, 10 e 12). Mas foi também realizada uma análise canônica, na qual os eixos do sistema são rotacionados para que fiquem paralelos aos eixos principais da superfície de resposta ajustada, para facilitar a interpretação dos resultados. Dessa forma, se os autovalores (eigenvalues) são positivos, há um ponto de resposta mínima, se ambos são

negativos, caracteriza um ponto de resposta máxima e se um é positivo e outro negativo, há um ponto de sela.

Dentre as variáveis estudadas, a conversão alimentar apresentou um ponto de mínimo, e os demais parâmetros: consumo, peso e densidade óssea, apresentaram ponto de sela (saddle point).

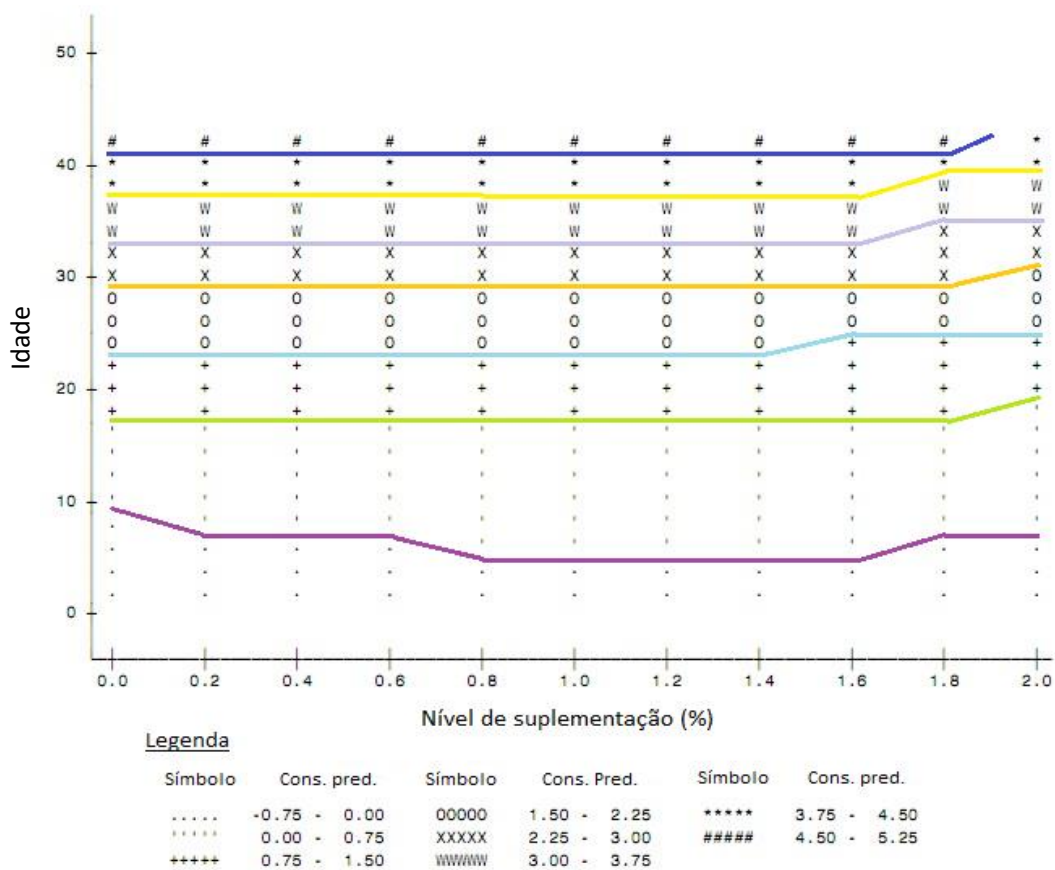
No caso da conversão alimentar, onde foi atingido um ponto de mínimo, é possível estabelecer um “vale” no gráfico tridimensional, onde, ao longo da vida do animal, a conversão alimentar prevista é mínima. Esse vale é representado numericamente na tabela 13 e 14.

Já quando o resultado é um ponto de sela (saddle point), é difícil estabelecer os níveis das variáveis para otimizar a resposta. Os valores podem estar espalhados pela faixa que foi avaliada. Nesses casos, utilizar os “ridge points” passa a ser uma solução bastante útil (FREUND & LITTELL, 1991).

Pelo gráfico de contornos, é possível observar que níveis de suplementação entre 0,8 e 1,2% proporcionaram, em todas as fases, valores mais baixos de conversão alimentar.

Mesmo nesse caso, onde a resposta obtida pela análise de Superfície de Resposta foi um ponto de mínimo, os “ridge points” permitem uma visualização numérica dos valores desse “vale”.

Figura 6 – Gráfico de contornos para a variável CONSUMO em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



Para a variável CONSUMO, a análise pela metodologia de superfície de resposta originou um ponto de sela (saddle point), ficando difícil estabelecer os níveis das variáveis, onde os valores podem estar espalhados em uma “região”. Neste caso, o resultado de regressão “ridge” se fez necessário (Tabela 9).

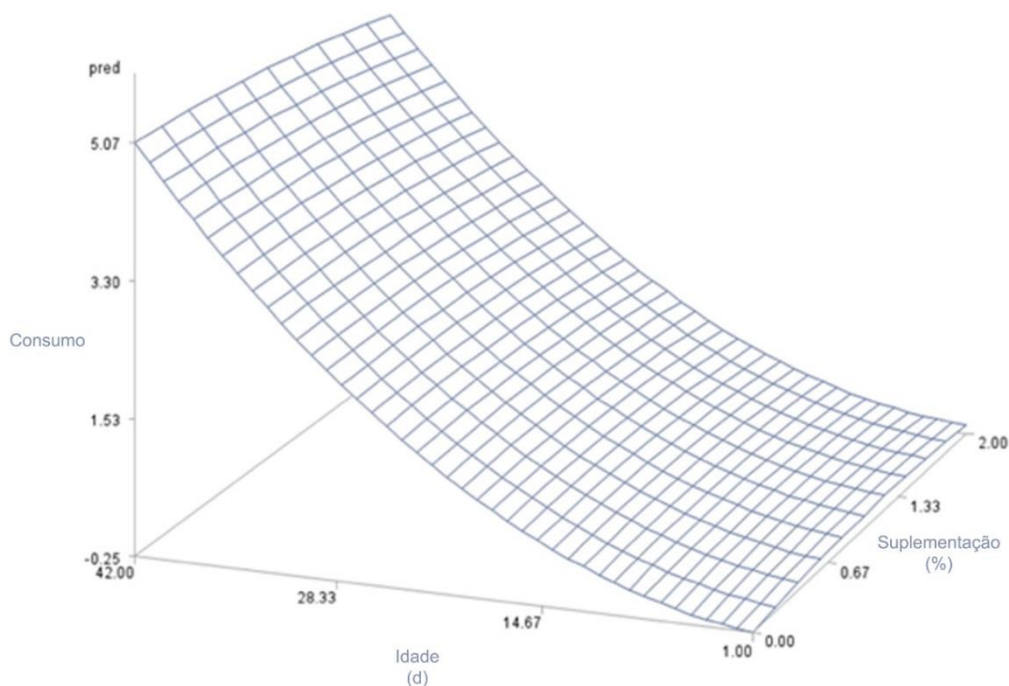
Tabela 9 - Valores estimados para resposta máxima para CONSUMO – “Ridge”.

Resposta estimada (CONSUMO)	Erro padrão	Idade	Nível de Suplementação
2,270694	0,017617	28,000000	1,000000
2,496557	0,017534	29,398327	0,995112
2,732716	0,017296	30,796516	0,990027
2,979171	0,016947	32,194585	0,984772
3,235922	0,016562	33,592548	0,979371
3,502969	0,016257	34,990415	0,973844
3,780314	0,016191	36,388199	0,968207
4,067956	0,016550	37,785907	0,962472
4,365896	0,017513	39,183547	0,956653
4,674134	0,019204	40,581126	0,950757
4,992669	0,021668	41,978650	0,944794

Tabela 10 - Parâmetros da equação de superfície de respostas do CONSUMO de ração.

Parâmetro	Estimativa	p-valor
Intercepto	-0,265392	0,0032
Idade (I)	0,017278	0,0069
Nível de suplementação(S)	0,284536	< 0,0001
Idade·Idade (I ²)	0,002613	< 0,0001
Idade·Nível (I·S)	-0,006105	< 0,0001
Nível·Nível (S ²)	-0,109520	< 0,0001
R ²	0,9938	
CV	5,13	
Pr>F	< 0,0001	

Figura 7 – Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando o consumo em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



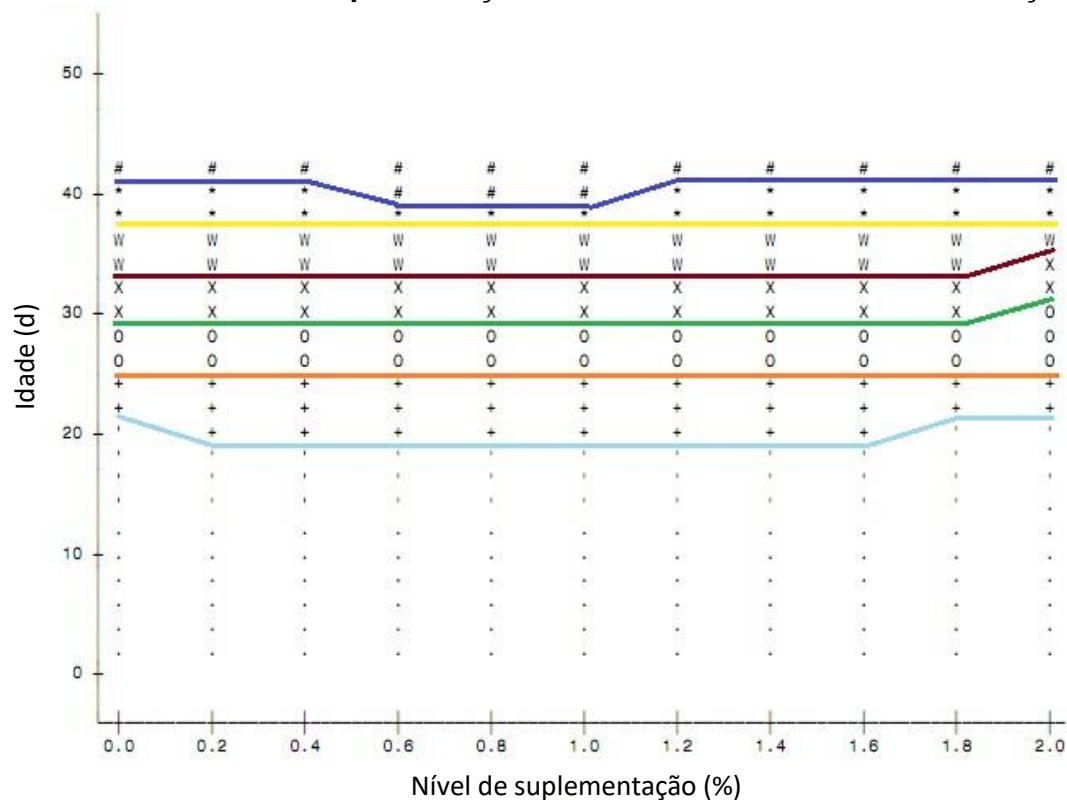
Os resultados foram também analisados pela metodologia de Superfície de Resposta, a fim de obter uma representação gráfica tridimensional.

A superfície de resposta seguiu a seguinte equação de regressão:

$$C = -0,265392 + 0,017278 \cdot I + 0,284536 \cdot S + 0,002613 \cdot I^2 - 0,006105 \cdot I \cdot S - 0,109520 \cdot S^2$$

Onde "C" = consumo de ração; "I" = idade das aves e "S" = nível de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*.

Figura 8 – Gráfico de contornos para a variável PESO das aves em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



Legenda

Símbolo	Peso pred.	Símbolo	Peso pred.	Símbolo	Peso pred.
.....	-0.036 - 0.436	00000	1.378 - 1.849	*****	2.792 - 3.263
.....	0.436 - 0.907	XXXXX	1.849 - 2.320	#####	3.263 - 3.734
+++++	0.907 - 1.378	WWWWW	2.320 - 2.792		

A variável PESO também originou um ponto de sela (saddle point) e, mais uma vez, para a análise dos parâmetros ótimos de suplementação para otimizar o peso, fez-se necessário utilizar os resultados de regressão “ridge”, apresentados na Tabela 11.

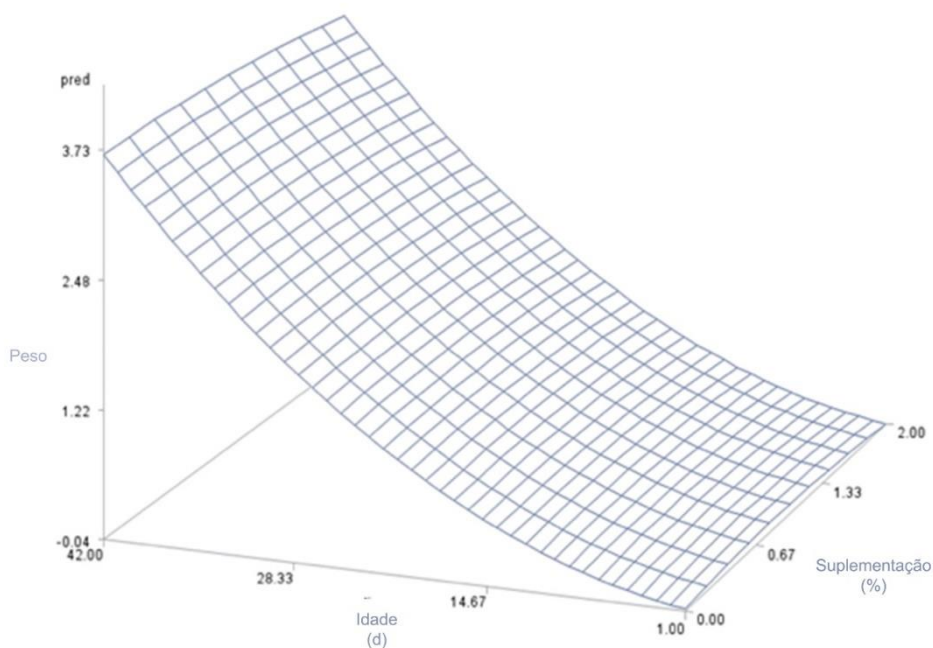
Tabela 11 - Valores estimados para resposta máxima para PESO – “Ridge”.

Resposta estimada (PESO)	Erro padrão	Idade	Nível de Suplementação
1,171289	0,011987	21,500000	1,000000
1,362264	0,011870	23,549806	0,998626
1,567641	0,011665	25,599628	0,997307
1,787420	0,011406	27,649462	0,996033
2,021602	0,011149	29,699305	0,994793
2,270186	0,010983	31,749156	0,993583
2,533173	0,011027	33,799012	0,992397
2,810562	0,011410	35,848874	0,991231
3,102354	0,012250	37,898740	0,990082
3,408549	0,013615	39,948609	0,988947
3,729146	0,015517	41,998481	0,987826

Tabela 12 - Parâmetros da equação de superfície de respostas do PESO das aves.

Parâmetro	Estimativa	p-valor
Intercepto	-0,034286	0,1747
Idade (I)	0,016741	< 0,0001
Nível de suplementação(S)	0,149873	< 0,0001
Idade*Idade (I ²)	0,001713	< 0,0001
Idade*Nível (I*S)	-0,000780	0,2369
Nível*Nível (S ²)	-0,079474	< 0,0001
R ²	0,9941	
CV	5,98	
Pr>F	< 0,0001	

Figura 9 – Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando o peso em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.

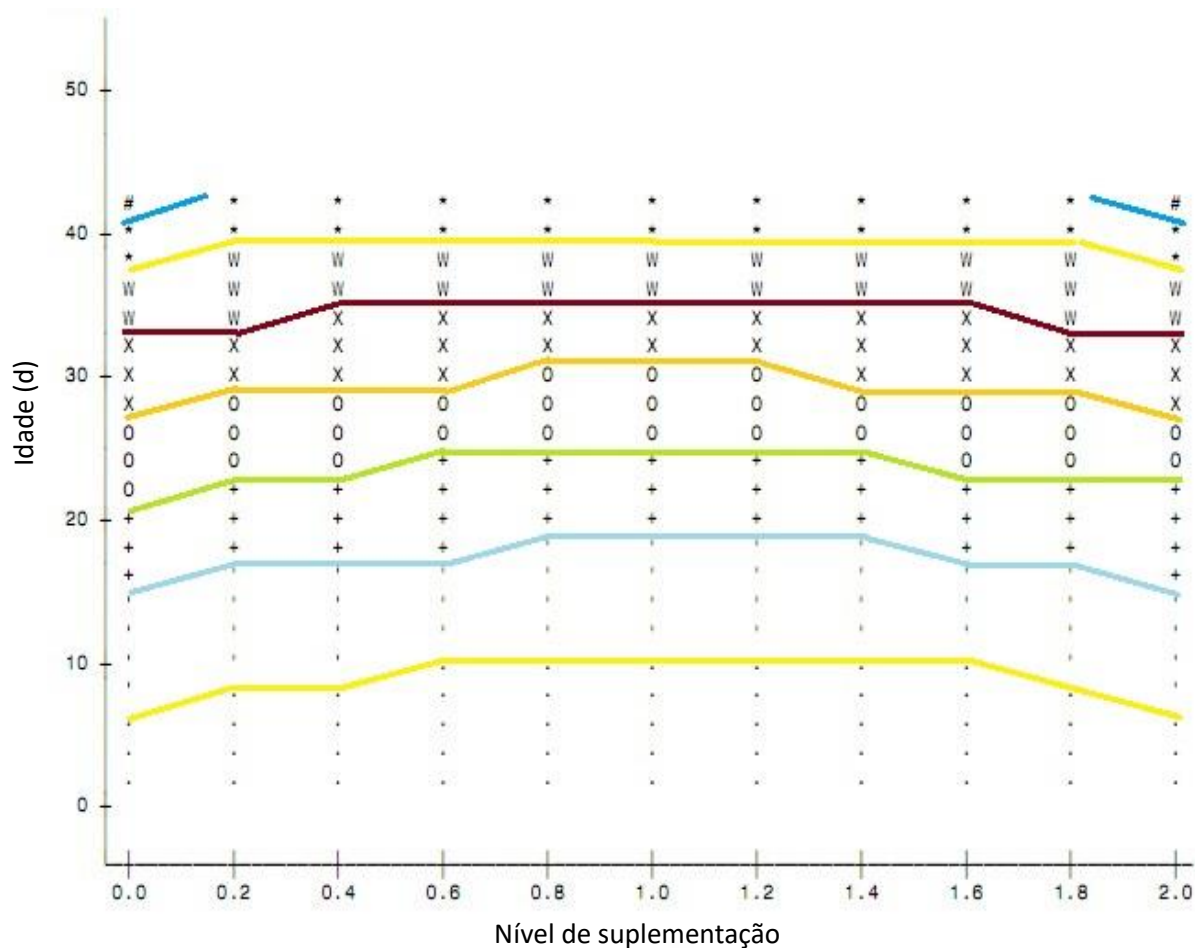


Os resultados do peso, analisados pela metodologia de Superfície de Resposta, originaram o gráfico tridimensional segundo a seguinte equação de regressão:

$$P = -0,034286 + 0,016741 \cdot I + 0,149873 \cdot S + 0,001713 \cdot I^2 - 0,000780 \cdot I \cdot S - 0,079474 \cdot S^2$$

Onde "P" = peso das aves; "I" = idade das aves e "S" = nível de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*.

Figura 10 – Gráfico de contornos para a conversão alimentar (CA) das aves em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



Legend

Símbol	Peso	Símbol	Peso	Símbol	Peso	Símbol	Peso
.....	0.9 - 1.0	+++++	1.1 - 1.2	XXXXX	1.3 - 1.4	*****	1.5 - 1.6
.....	1.0 - 1.1	00000	1.2 - 1.3	WWWWW	1.4 - 1.5	#####	1.6 - 1.7

Tabela 13 - Valores estimados para resposta mínima para CA – “Ridge”.

Resposta estimada (CA)	Erro padrão	Idade	Nível de Suplementação
1,276586	0,009914	28,000000	1,000000
1,250321	0,009872	26,600170	1,001556
1,224825	0,009742	25,200374	1,003271
1,200099	0,009548	23,800617	1,005141
1,176142	0,009333	22,400898	1,007163
1,152955	0,009162	21,001220	1,009335
1,130538	0,009124	19,601585	1,011653
1,108890	0,009323	18,201993	1,014117
1,088012	0,009862	16,802447	1,016722
1,067903	0,010811	15,402948	1,019467
1,048563	0,012196	14,003497	1,022349

A resposta de “ridge” da análise de superfície de resposta gerou apenas valores para a faixa de idade de 14 a 28 dias. No entanto, considerando que houve um ponto de mínimo para a variável conversão alimentar, é possível, aplicando a equação de regressão que gera o gráfico tridimensional de superfície de resposta, determinar os valores numéricos aproximados correspondentes ao “vale”, que representa a linha de valores de CA mais baixos de acordo com a idade do animal.

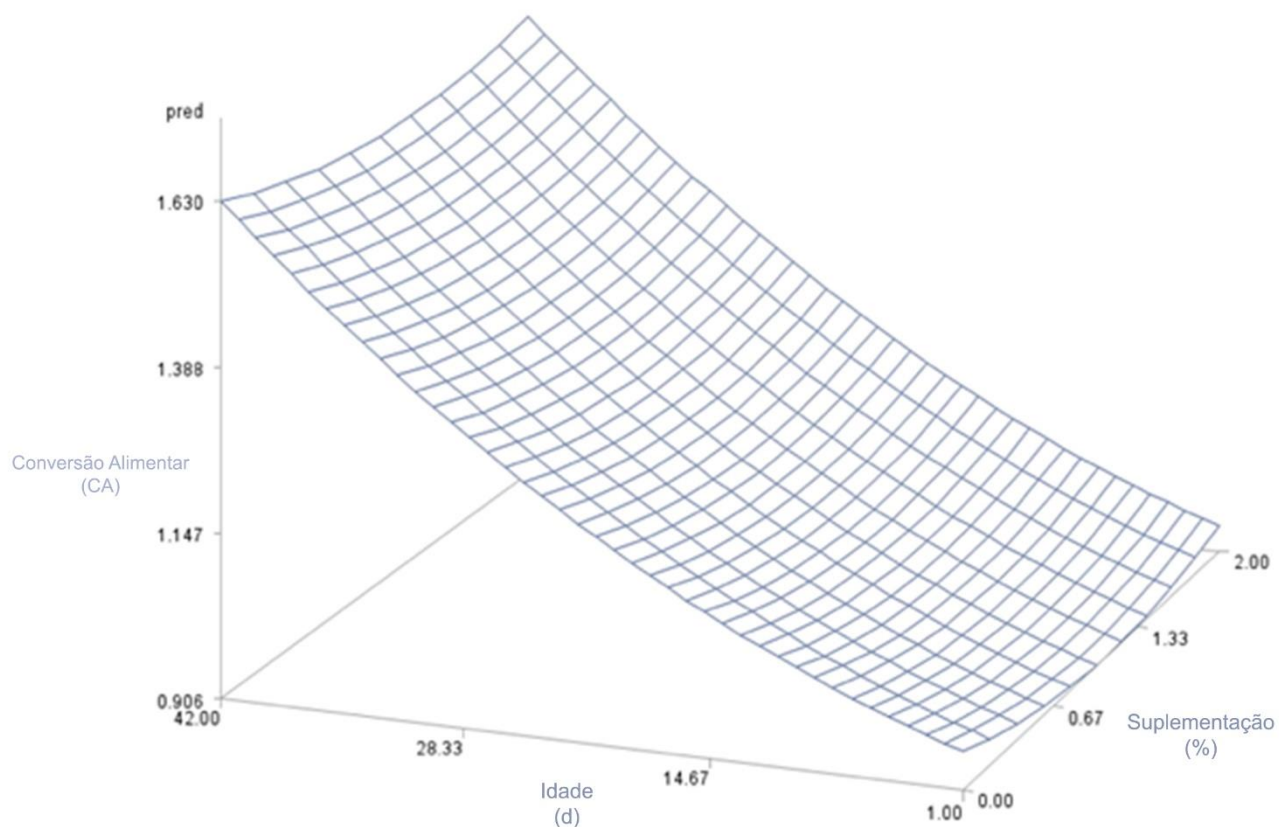
É possível observar que até 23 dias de idade da ave, o nível de suplementação de 1,1% promove os menores valores de CA, e do 24º ao 42º dia de idade, o melhor nível de suplementação para otimizar a CA é de 1% (Tabela 14). Esses resultados dão uma ideia mais precisa do resultado que pode ser extraído do gráfico de contornos (Figura 10) e do gráfico tridimensional (Figura 11).

Tabela 14 - Valores numéricos aproximados da linha de conversão alimentar mais baixa de acordo com a idade do animal.

Idade	Nível de suplementação										
	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5
1	0,9219	0,9168	0,9127	0,9095	0,9073	0,9060	0,9056*	0,9061	0,9076	0,9100	0,9133
2	0,9304	0,9254	0,9213	0,9181	0,9159	0,9146	0,9142	0,9148	0,9163	0,9187	0,9220
3	0,9393	0,9343	0,9302	0,9271	0,9249	0,9236	0,9232	0,9238	0,9253	0,9278	0,9311
4	0,9486	0,9436	0,9396	0,9365	0,9343	0,9330	0,9327	0,9332	0,9348	0,9372	0,9406
5	0,9584	0,9534	0,9493	0,9462	0,9440	0,9428	0,9425	0,9431	0,9446	0,9471	0,9505
6	0,9685	0,9635	0,9595	0,9564	0,9542	0,9530	0,9527	0,9533	0,9549	0,9574	0,9608
7	0,9790	0,9740	0,9700	0,9669	0,9648	0,9636	0,9633	0,9639	0,9655	0,9680	0,9715
8	0,9899	0,9849	0,9809	0,9779	0,9758	0,9746	0,9743	0,9749	0,9765	0,9791	0,9825
9	1,0012	0,9962	0,9923	0,9892	0,9871	0,9859	0,9857	0,9864	0,9880	0,9905	0,9940
10	1,0128	1,0080	1,0040	1,0010	0,9989	0,9977	0,9975	0,9982	0,9998	1,0023	1,0058
11	1,0249	1,0200	1,0161	1,0131	1,0110	1,0099	1,0096	1,0104	1,0120	1,0146	1,0181
12	1,0374	1,0325	1,0286	1,0256	1,0236	1,0224	1,0222	1,0230	1,0246	1,0272	1,0307
13	1,0503	1,0454	1,0415	1,0385	1,0365	1,0354	1,0352	1,0359	1,0376	1,0402	1,0438
14	1,0635	1,0587	1,0548	1,0518	1,0498	1,0487	1,0486	1,0493	1,0510	1,0536	1,0572
15	1,0772	1,0724	1,0685	1,0656	1,0635	1,0625	1,0623	1,0631	1,0648	1,0674	1,0710
16	1,0912	1,0864	1,0826	1,0797	1,0777	1,0766	1,0765	1,0773	1,0790	1,0817	1,0852
17	1,1057	1,1009	1,0971	1,0941	1,0922	1,0911	1,0910	1,0918	1,0936	1,0962	1,0999
18	1,1205	1,1158	1,1119	1,1090	1,1071	1,1060	1,1059	1,1068	1,1085	1,1112	1,1149
19	1,1357	1,1310	1,1272	1,1243	1,1224	1,1214	1,1213	1,1221	1,1239	1,1266	1,1303
20	1,1514	1,1466	1,1429	1,1400	1,1381	1,1371	1,1370	1,1379	1,1397	1,1424	1,1461
21	1,1674	1,1627	1,1589	1,1561	1,1542	1,1532	1,1531	1,1540	1,1558	1,1586	1,1622
22	1,1838	1,1791	1,1754	1,1725	1,1706	1,1697	1,1696	1,1705	1,1724	1,1751	1,1788
23	1,2006	1,1959	1,1922	1,1894	1,1875	1,1866	1,1865	1,1875	1,1893	1,1921	1,1958
24	1,2178	1,2131	1,2094	1,2066	1,2048	1,2038	1,2039	1,2048	1,2067	1,2095	1,2132
25	1,2354	1,2308	1,2271	1,2243	1,2224	1,2215	1,2215	1,2225	1,2244	1,2272	1,2309
26	1,2534	1,2488	1,2451	1,2423	1,2405	1,2396	1,2396	1,2406	1,2425	1,2453	1,2491
27	1,2718	1,2672	1,2635	1,2608	1,2589	1,2581	1,2581	1,2591	1,2610	1,2639	1,2677
28	1,2905	1,2860	1,2823	1,2796	1,2778	1,2769	1,2770	1,2780	1,2799	1,2828	1,2866
29	1,3097	1,3051	1,3015	1,2988	1,2970	1,2962	1,2963	1,2973	1,2992	1,3021	1,3059
30	1,3293	1,3247	1,3211	1,3184	1,3167	1,3158	1,3159	1,3170	1,3189	1,3218	1,3257
31	1,3492	1,3447	1,3411	1,3384	1,3367	1,3359	1,3360	1,3371	1,3390	1,3420	1,3458
32	1,3696	1,3651	1,3615	1,3588	1,3571	1,3563	1,3565	1,3575	1,3595	1,3625	1,3663
33	1,3903	1,3858	1,3823	1,3796	1,3779	1,3772	1,3773	1,3784	1,3804	1,3834	1,3872
34	1,4115	1,4070	1,4034	1,4008	1,3991	1,3984	1,3986	1,3997	1,4017	1,4047	1,4086
35	1,4330	1,4286	1,4250	1,4224	1,4207	1,4200	1,4202	1,4213	1,4234	1,4263	1,4303
36	1,4549	1,4505	1,4470	1,4444	1,4427	1,4420	1,4422	1,4434	1,4454	1,4484	1,4524
37	1,4773	1,4728	1,4693	1,4668	1,4651	1,4644	1,4646	1,4658	1,4679	1,4709	1,4749
38	1,5000	1,4956	1,4921	1,4895	1,4879	1,4872	1,4875	1,4886	1,4907	1,4938	1,4977
39	1,5231	1,5187	1,5152	1,5127	1,5111	1,5104	1,5107	1,5119	1,5140	1,5170	1,5210
40	1,5466	1,5422	1,5388	1,5363	1,5347	1,5340	1,5343	1,5355	1,5376	1,5407	1,5447
41	1,5705	1,5661	1,5627	1,5602	1,5586	1,5580	1,5583	1,5595	1,5617	1,5648	1,5688
42	1,5948	1,5904	1,5870	1,5845	1,5830	1,5824	1,5827	1,5839	1,5861	1,5892	1,5932

* O destaque corresponde aos valores mais baixos de CA

Figura 11 – Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando a conversão alimentar (CA) em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



Os resultados de conversão alimentar pela metodologia de Superfície de Resposta seguem a seguinte equação de regressão:

$$CA = 0,952996 + 0,007857 \cdot I - 0,101832 \cdot S + 0,000197 \cdot I^2 + 0,000170 \cdot I \cdot S + 0,046565 \cdot S^2$$

Onde “CA” = conversão alimentar; “I” = idade das aves e “S” = nível de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*.

Tabela 15 - Parâmetros da equação de superfície de respostas de CONVERSÃO ALIMENTAR (CA) das aves.

Parâmetro	Estimativa	p-valor
Intercepto	0,952996	< 0,0001
Idade (I)	0,007857	0,0294
Nível de suplementação(S)	-0,101832	0,0020
Idade*Idade (I ²)	0,000197	0,0017
Idade*Nível (I*S)	0,000170	0,8156
Nível*Nível (S ²)	0,046565	0,00021
R ²	0,8788	
CV	5,41	
Pr>F	< 0,0001	

Densidade Óssea

Quanto aos resultados da densidade óssea, observou-se que no momento de maior crescimento das aves, é favorecida pelo nível de suplementação de 1% de *Lithothamnium calcareum* na ração.

Tabela 16 - Resumo da ANOVA para os valores de densidade óssea avaliada pela metodologia de Seedor, em aves de diferentes idades, alimentadas com ração suplementada com níveis crescentes de *Lithothamnium calcareum*, utilizando as medidas da espessura da tíbia como covariável

	GL	F	p-valor
Modelo	15	275,51	<0,0001
<u>Fonte de variação</u>			
Nível de suplementação (%) - S	4	8,49	<0,0001
Idade (d) - I	2	92,03	<0,0001
S x I	8	5,24	<0,0001
Covariável (medidas das tíbias)	1	42,49	<0,0001
CV	9,49		
R ²	0,98		

Visualiza-se pela Tabela 16 que o modelo é altamente significativo. As duas variáveis, nível de suplementação e idade das aves, também foram altamente significativas. A interação entre elas foi altamente significativa, o que desautoriza

a avaliação das médias considerando as duas variáveis. Por isso, as médias foram desdobradas para segunda variável, conforme apresentado na Tabela 17.

Tabela 17 - Médias de densidade óssea (Índice de Seedor) em cada idade, segundo o nível de suplementação com *Lithothamnium calcareum* (desdobramento da interação entre suplementação e idade)

Suplementação (%)	Idade (d)		
	15	30	45
0 (controle)	39,08 ¹ ± 2,92 ^A	90,59 ± 3,78 ^B	183,70 ± 29,42 ^A
0,5	42,32 ± 4,66 ^A	92,32 ± 3,33 ^B	192,14 ± 21,69 ^A
1,0	44,00 ± 5,69 ^A	97,75 ± 6,84 ^B	171,35 ± 12,39 ^A
1,5	38,73 ± 1,27 ^A	110,20 ± 7,43 ^A	185,76 ± 10,92 ^A
2,0	40,40 ± 5,27 ^A	80,70 ± 10,22 ^C	176,79 ± 9,26 ^A
p-valor	0,0014	<0,0001	0,0017
CV	10,93	6,67	8,47

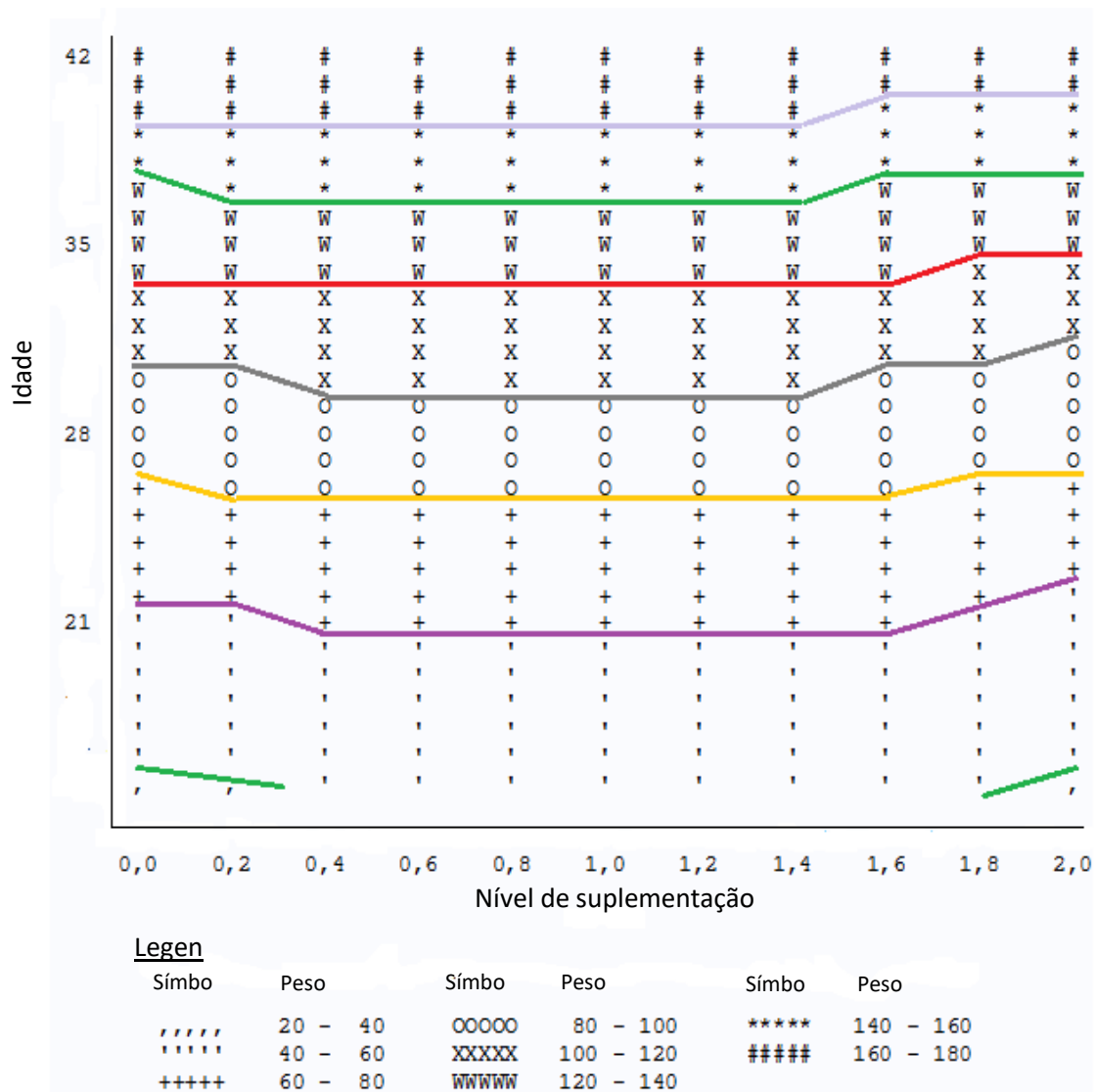
¹ Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias baseadas no Índice de Seedor.

O efeito da suplementação é evidenciado aos 30 dias de idade das aves, quando as aves alimentadas com ração suplementada com 1,5% do produto apresentaram densidade óssea significativamente superior às demais. Acima disso, com 2% de suplementação, o efeito foi prejudicial para a densidade óssea.

Um experimento utilizando a metodologia de Seedor mostrou menores valores para as aves que foram afetadas com discondroplasia tibial, retratando um comprometimento da ossificação intramembranosa. Pelos resultados pode-se verificar que os valores de peso, comprimento, perímetro da epífise proximal, diáfise e epífise distal, índice de Seedor, densitometria total do osso e espessura do tecido ósseo compacto do tibiotarso e metatarso foram menores nas aves afetadas em relação às aves normais. Ao analisar a densitometria dos tibiotarsos e metatarsos pode-se verificar que ambos apresentam uma mineralização menor nas aves afetadas, porém foi mostrado que a mineralização dos tibiotarsos é maior em relação aos metatarsos indicando que estes são mais sensíveis a mineralização em relação aos tibiotarsos. Sugere-se que os metatarsos podem

ser considerados um ponto vulnerável nas pernas dos frangos e podem ser os responsáveis pelos problemas locomotores dos frangos (TAVARES et al.,2013).

Figura 12 – Gráfico de contornos para a densidade óssea das aves em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



A resposta para densidade óssea também foi um ponto de sela (saddle point), indicando que os valores de suplementação ideais para otimizar a densidade, óssea podem estar espalhados pelo gráfico, dificultando a interpretação. Aqui, uma vez mais, faz-se necessário a análise de regressão *ridge* para uma interpretação mais conclusiva.

Tabela 18 - Valores estimados para resposta máxima para DENSIDADE ÓSSEA – “Ridge”

Resposta estimada (DENSIDADE ÓSSEA)	Erro padrão	Idade	Nível de Suplementação
97,412721	2,520447	29,000000	1,000000
104,637828	2,507739	30,399630	0,997703
112,205896	2,470789	31,799191	0,995191
120,116949	2,413297	33,198688	0,992502
128,371008	2,342021	34,598129	0,989662
136,968086	2,267629	35,997521	0,986695
145,908197	2,205645	37,396868	0,983618
155,191351	2,176773	38,796176	0,980447
164,817556	2,205248	40,195447	0,977193
174,786819	2,314136	41,594687	0,973866
185,099147	2,519155	42,993897	0,970477

Esses resultados e, ainda, a observação do gráfico de superfície de resposta (Figura 13), reforçam o que foi demonstrado na análise das médias, quando foi observado que a densidade óssea, no momento de maior crescimento das aves, é favorecida pelo nível de suplementação da ração de 1%, decrescendo quando esse nível aumenta para 2%.

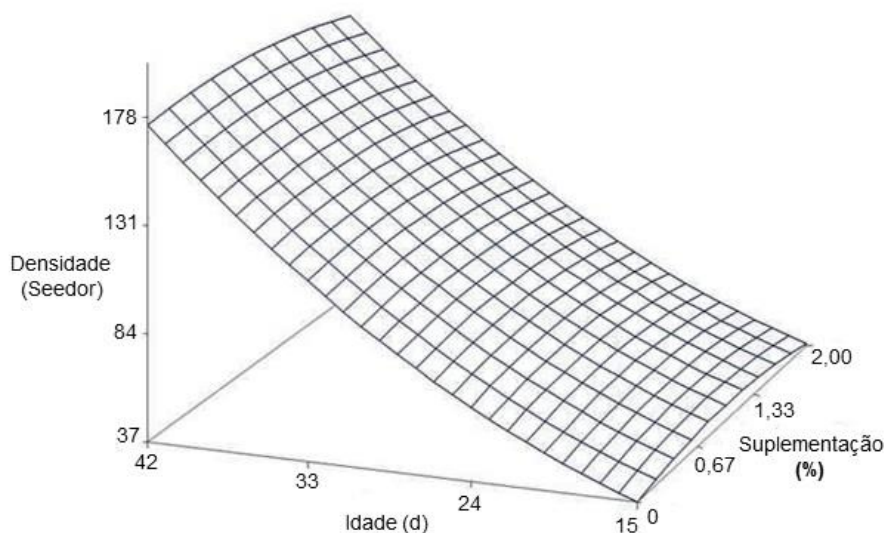
Os resultados foram também analisados pela metodologia de Superfície de Resposta, a fim de obter uma representação gráfica tridimensional.

Tabela 19 - Parâmetros da equação de superfície de respostas da densidade óssea das aves.

Parâmetro	Estimativa	p-valor
Intercepto	16,115334	0,1421
Idade (I)	0,109939	0,8872
Nível de suplementação(S)	14,865295	0,0457
Idade*Idade (I ²)	0,087325	< 0,0001
Idade*Nível (I*S)	-0,137655	0,3549
Nível*Nível (S ²)	-6,204236	0,0323
R ²	0,9540	
CV	12,4101	
Pr>F	< 0,0001	

O modelo é altamente significativo. Tanto a idade como o nível de suplementação apresentaram significância para o efeito quadrático. A interação entre idade e nível de suplementação não foi significativa.

Figura 13 – Representação tridimensional da Superfície de Resposta estimando a densidade óssea em função da idade das aves e do nível de suplementação de *Lithothamnium calcareum* na ração.



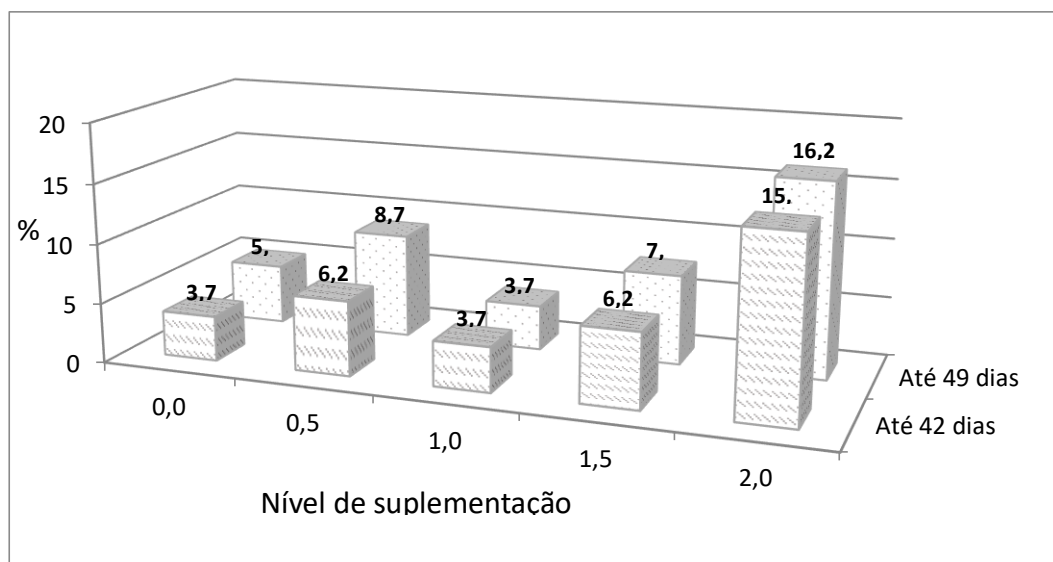
A superfície de resposta seguiu a seguinte equação de regressão:

$$D = 16,115334 + 0,109939 \cdot I + 14,865295 \cdot S + 0,087325 \cdot I^2 - 0,137655 \cdot I \cdot S - 6,204236 \cdot S^2$$

Onde “D” = densidade óssea, estimada pelo Índice de Seedor; “I” = idade das aves e “S” = nível de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*.

Mortalidade

Figura 14 – Taxa de mortalidade, segundo os diferentes níveis de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*, aos 42 e aos 49 dias de idade (a taxa de mortalidade inclui os refugos).



Gait Score

Figura 15 – Gait Score, segundo os diferentes níveis de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*, avaliado aos 35 dias de idade.

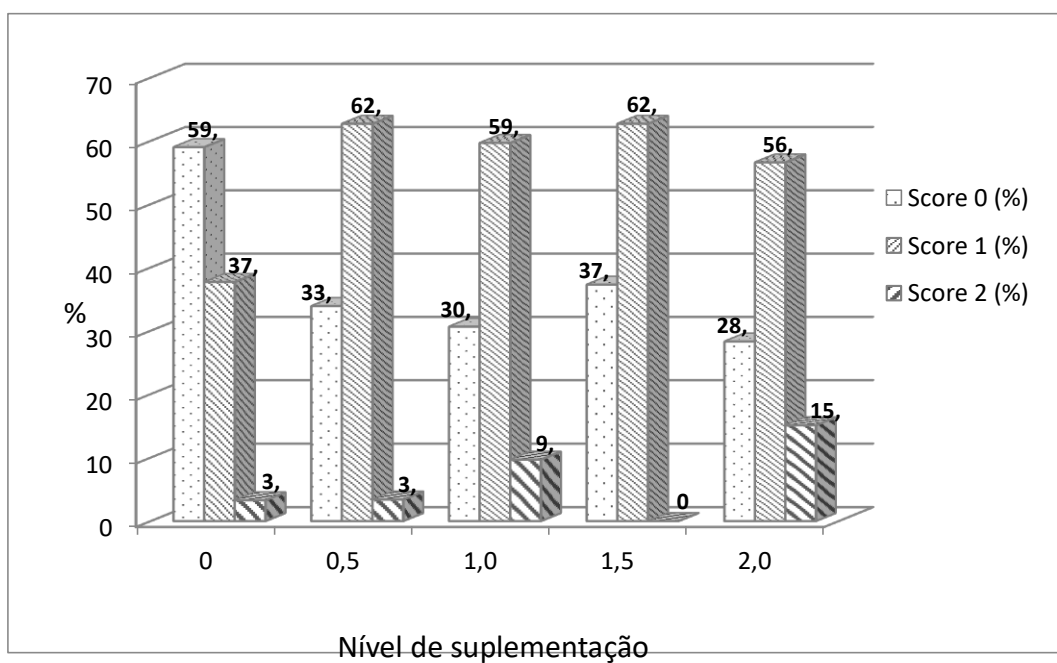
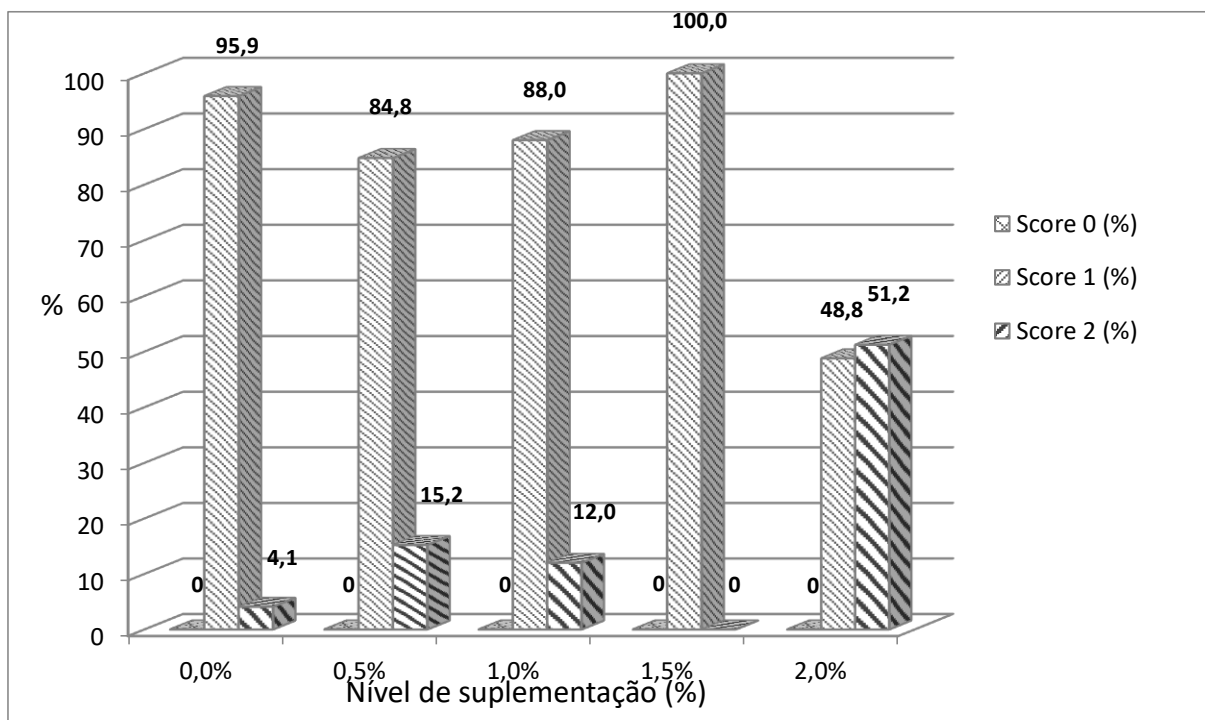


Figura 16 – Gait Score, segundo os diferentes níveis de suplementação da ração com *Lithothamnium calcareum*, avaliado aos 49 dias de idade.



6 CONCLUSÃO

A adição de *Lithothamnium calcareum* (Lothar®) na ração de frangos de corte na proporção de 1% otimizou os parâmetros de desempenho zootécnico: consumo, ganho de peso e conversão alimentar, do mesmo modo que proporcionou uma densidade óssea superior nas aves alimentadas com este nível de suplementação.

REFERÊNCIAS

AIRHART, J.C., S.J. TAYLOR e K.W. PURSER. 2002. **The bioavailability in chicks of calcium in a product derived from calcified seaweed (Marigro)**. Disponível em: www.poultryscience.org/meet/spss/spss2.pdf. Acesso em 15/07/2008.

ARRUDA. A. B.; BORGES. A. P. C.; OLIVEIRA. J. C. Deformidades Ósseas causadas pela carência de cálcio em aves de corte. **Revista Científica, N1. V2 – Ano 2015.**

ASSOUMANI, M.B. Aquamin, a natural calcium supplement derived from seaweed. **Agro-Food-Industry Hi Tech**, v.9/10, p.46-47, 1997.

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.

BARROS, R. V.; ABAD, C. C. C.; KISS, M. A. P. D. et al. Massa óssea e atividade física na infância e adolescência. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v.7, n.1, p.109-118, 2008.

BERBERIAN, A. AND O. LENCI. 1983. **Emprego do suplemento mineral de alga LC-325 como nutriente de cavalos**. Palestra proferida na semana do cavalo. Brasília, DF.

BERGLUND, M.; AKESSON A.; BJELLERUP P.; VAHTER M. *Metal: bone interactions*. **Toxicology Letters**, v.112-113, p.219-225, 2000.

BOSENCE, D. 1976. **Ecological studies on two unattached coralline algae from western Ireland**. **Paleontology**, 19: 365-395.

CABIOCH. J. 1970. **Le maerl des côtes de Bretagne et le probleme de sa survie**. *Pen ar Bed*, 7: 421-429.

CARLOS, A. C.; SAKOMURA, N. K.; PINHEIRO, S. R. F.; TOLEDANO, F. M. M.; GIACOMETTI, R.; SILVA JÚNIOR, J. W. Uso da alga *lithothamnium calcareum* como fonte alternativa de cálcio nas rações de frangos de corte. **Ciência**

agrotecnica, v.35, n. 4, p. 833-839, jul./ago., 2011. Disponível em: <<http://sis.gnius.com.br>>. Acesso em: 29 Jul. 2016.

CHRISTENSON, R.H. **Biochemical markers of bone metabolism: an overview. Clinical Biochemistry**, v.30, n.8, p.573-593, 1997.

COBB VANTRESS. Suplemento: **Desempenho e nutrição para frangos de corte**. Cobb Vantress, 2013. 14p. Disponível em: http://www.cobb-vantress.com/languages/guidefiles/793a16cc-5812-4030-9436-1e5da177064f_pt.pdf. Acesso em 10 de março de 2020.

COMPARIN, M. A. S.; MORAIS, M. da G.; ALVES, F. V.; COUTINHO, M. A. da S.; FERNANDES, H. J.; FEIJÓ, DIAS, G. L. D.; OLIVEIRA, L. O. F.de; COELHO, R. G. Desempenho, características qualitativas da carcaça e da carne de novilhas Brangus suplementadas em pastagem recebendo diferentes aditivos nutricionais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v.14, n.3, p.574-586 jul./set., 2013.

COSTA NETO, J.M. et al. Farinha de algas marinhas ("*Lithothamnium calcareum*") como suplemento mineral na cicatrização óssea de autoenxerto cortical em cães. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.11, n.1, p.217-230, 2010.

CURREY, J. D. **Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone**. Osteoporosis International, v.14, n.5, p.29-36, 2003a.

CURREY, J. D. **The mechanical adaptations of bones**. In: STEVENSON, J. C.; LINDAY, R. Osteoporosis. Princeton University Press. CHAPMAN & HALL MEDICAL. 1998.

CURREY, J.D. The many adaptations of bone. **Journal of Biomechanics**, v.36, n.10,p.1487-1495, 2003b.

DAMASCENO, F.A. et al. Avaliação do bem-estar de frangos de corte em dois galpões comerciais climatizados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.4,p.1031-1038, jul./ago. 2010.

DAWKINS, M.S.; DONNELLY, C. A. e JONES, T. A. **Chicken welfare is influenced more by housing conditions than by stocking density**. Nature, v. 427, 2004.

DELL'ISOLA, A. T. P. ; VELOSO, J. A. F.; BAIÃO, N. C. et al. Efeito do óleo de soja em dietas com diferentes níveis de cálcio sobre a absorção e retenção óssea de cálcio e de fósforo em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, p.461-466, 2003.

DIAS, G.T.M. Granulados bioclásticos: algas calcárias. **Brazilian Journal of Geophysics**, São Paulo, v.18, n.3, p.1-19, p. 307-318, 2000.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D.; KITCHELL, M. L. et al. Metabolic challenges and early bone development. **Poultry Science**, v.16, n.1, p.126–137, 2007.

DUPLOMB, L.; DAGOUASSAT, M.; JOURDON, P.; HEYMANN, D. **Concise review: embryonic stem cells: a new tool to study osteoblast and osteoclast differentiation**. *Stem Cells* v.25 n.3, p.544 -552. 2007.

EMBRAPA - **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. Suínos e Aves. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/frangos/brasil>. Acesso em: 27 out. 2020.

EULER, A.C.C. et al. Desempenho, digestibilidade e morfometria da vilosidade ileal de coelhos alimentados com níveis de "*Lithothamnium*". **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.11, n.1, p.91- 103, 2010.

FALCONE, CLEIDE. (2007). **Manejo e bem-estar em frangos de corte: grau de alteração no andar e incidência de deformidades ósseas, e seus efeitos sobre a atividade locomotora**. Tese de Doutorado – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo. 139p.

FASSANI, E. J.; BERTECHINI, A. G. KATO, R. K., FIALHO, GERALDO, E. T.A. Composição e solubilidade in vitro de calcários calcíticos de Minas Gerais. **Ciência Agrotecnica**, v. 28, n3, p. 913-918. 2008. GOETZ, P. Phytothérapie de l'ostéoporose. *Phytothérapie*, v.6, p.33-38, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Adriano_Geraldo/publication/262464142_Composition_and_in_vitro_solubility_of_Minas_Gerais_limestones/links/0deec53a9a61b32caf000000.pdf. Acesso: 29 Jul. 2016.

FEITOSA, F.A.N.; BASTOS, R.B. Produtividade fitoplanctônica e hidrologia do ecossistema costeiro de Maracajaú, RN. **Arquivo de Ciências do Mar**, Maracajaú, v.40, n.2, p.26-36, 2007.

FIALHO, E.T. et al. Avaliação nutricional de algumas fontes de suplementação de cálcio para suínos: biodisponibilidade e desempenho. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.21, n.5, p.891-905, 1992.

FREUND, R.J.; LITTELL, R.C. **SAS System for regression**, SAS Inst., 2nd ed., 1991, 232 p.

[GARCIA-NETO, M.](http://www.fmva.unesp.br/ppfr) **Programa Prático de Formulação de Ração PFR**

(<http://www.fmva.unesp.br/ppfr>). 2011.

GARNER JP, FALCONE C, WAKENELL P, MARTIN M, MENCH JA. 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.

GOETZ, P. Phytothérapie de l'ostéoporose. **Phytothérapie**, v.6, p.33-38, 2008.

GOMES, A.S., J.J.C. PALMA E C.G. SILVA. 2000. Causas e conseqüências do impacto ambiental da exploração dos recursos minerais marinhos. **Braz. J. Geophys.**, 18: 447-454.

GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 11.ed. Rio de Janeiro: GuanabaraKOOGAN, 1997. 1014p.

HAILEY, D.; SAMPIETRO-COLOM, L.; MARSHALL, D.; RICO, R.; GRANADOS, A.; ASUA, J. The effectiveness of bone density measurement and associated treatments for prevention of fractures: An International Collaboration Review. **International Journal for Technology Assessment in Health Care**, v.14, n.2, p.237-254, 1996. HAILEY, D.; SAMPIETRO-COLOM, L.; MARSHALL, D.; RICO, R.; GRANADOS,

HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18ªed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1995. 1678p. <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=640125&indexSearch=ID>. Acesso em: 20 de Jun. 2016.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 488p, 2004.

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, p. 190-194, 1992.

LANGWINSKI, D. e H. OSPINA. 2001. A nutrição de ruminantes e os complexos orgânicos de minerais. **Tortuga Companhia Zootécnica Agrária**. Porto Alegre. 52 p.

LOPES, N. M. **Suplementação de vacas leiteiras com farinha de algas (*Lithothamnium calcareum*)**. Dissertação (mestrado), UFL, Lavras, MG. 61 p.: il. 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br>. Acesso em: 27 Jul. 2016.

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

MAZZUCO, H. Osteoporose em poedeiras comerciais: uso da densitometria óssea e outras técnicas. **Revista Avicultura Industrial**, v.96 n.1136, p.16-34, 2005

MELO, T.V.; FERREIRA, R.A.; CARNEIRO, J.B.A. et al. **Rendimiento de codornices japonesas utilizando harina de algas marinas y fosfato monoamónico**. Archivos de Zootecnia., v.57, p.381-384, 2008. Disponível em: http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/22_11_49_19NotaRendimientoMelo.pdf. Acesso em: 20 Jul. 2016.

MELO, T.V.; MOURA, A.M.A. Utilização da farinha de algas calcáreas na alimentação animal. Archivos de Zootecnia, v.58, p.99-107, 2009. DIAS, G.T.M. Granulados bioclásticos: algas calcárias. **Brazilian Journal of Geophysics**, São Paulo, v.18, n.3, p.1-19, 2000.

MONTAÑEZ-VALDEZ, O.D., E.O. GARCIA-FLORES, J.R. BARCENA-GAMA, S.S. GONZALEZ-MUÑOZ, M.E. ORTEGA-CERRILLA, J.G. PERALTA-ORTIZ E

J.H. AVELLANEDA-CEVALLOS. 2007. **Effect of two buffers on nutrient digestibilities and ruminal fermentation in Holstein steers.**

MUNDY, G. R. Cellular and molecular regulation of bone turnover. Departments of Medicine and Endocrinology, **University of Texas Health Science Center**, San Antonio, TX, USA, v. 24, n. 5S, p. 355-385, 1999.

MUNIZ, E. B. et al. **Avaliação de fontes de cálcio para frangos de corte.** Revista Caatinga (Mossoró,Brasil), v.20, n.1, p.05-14, 2007.

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

NÄÄS, I. A.; PAZ, I. C. L. A.; BARACHO, M. S.; MENEZES, A. G.; BUENO, L. G.F.; ALMEIDA, I. C. L.; MOURA, J. D. **Impact of lameness on broiler well-being** *Journal Applied of Poultry Research*, v.18, p.432-439, 2009.

ORSINE, G.F., C.P. COSTA, B. OLIVEIRA, D.O. RODRIGUES E C.R. OLIVEIRA. 1989. Efeito da fonte de cálcio (calcário vs *Lithothamnium calcareum*) na digestibilidade aparente do feno de capim *Brachiaria decumbens* Stach cv. Basiliski. **Anais Esc. Agron. e Vet.**, 19: 49-58.

PELICIA, K. , E. A. GARCIA, M. R. SCHERER, C. MORI, J.A. DALANEZI, A.B.G. FAITARONE, E.S.P.B. SALDANHA, C.C PIZZOLANTE, A.M. BRITO E D. BERTO. 2006. **Efeito da combinação de fontes de cálcio sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais.** In: 43ª Reunião Anual da SBZ, 2006. João Pessoa-PB.

PEREIRA, M. V.; SANTANA, M. J.; INÁCIO, V. V. Análise da exportação brasileira do frango de corte. Anais do II Encontro Científico de Gestão Portuária: **Redes de Empresas e Cadeias Produtivas.** Anais...Santos (SP) FATECRL, 2018.

PIZAURO JR, J. M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; FURLAN,R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte.** Jaboticabal:FUNEP/UNESP, p.247-265, 2002.

PRIMASEA. Nutrição animal e vegetal. Disponível em: <http://primasea.com.br/Lithothamnium_calcareum.html#aves>. Acesso em: 06/05/2018. (EMBRAPA. Central de inteligência de suínos e aves. Santa Catarina, 2018).

RATH, N. C.; HUFF, G. R.; BALOG, J. M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1024-1032, 2000.

POPE, H.R., C.M. OWENS, L.C. CAVITT, J.L. EMMERT E S.J. TAYLOR. 2002. Efficacy of marigro in supporting growth, carcass yield and meat quality of broilers. 91st Annual Meeting Abstracts. **The Southern Poultry Science Society**.

PRICE, J. S.; RUSSEL, S. G. Bone remodeling: regulation by systemic and local factors. In: Whitehead, C. C. (Ed.). Bone biology and skeletal disorders in poultry. **Poultry Science Symposium 23**. Carfax Publishing Co., 1992. p.38-60,

RATH, N. C.; BALOG, J. M.; HUFF, W. E. et al. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae 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.; BALOG, J. M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1024-1032, 2000.

RHO, J.-Y.; KUHN-SPEARING, L.; ZIOUPOS, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. **Medical Engineering & Physics**, v.20, n.1, p.92–102, 1998.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**, Campinas, SP, Caritá Editora, 2009, 238p.

ROSE, N.; CONSTANTIN, P.; LETERRIER, C. **Sex differences in bone growth of broiler chickens. Growth, Development and Aging**, v.60, n.2, p.49-59, 1996.

ROSS, M. H., ROWRELL, L. J. **Histologia- Texto e Atlas 2ª ed**. São Paulo: MédiaPanamericana, 779p, 1993.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 186.

SARAIVA, G. L.; LAZARETTI-CASTRO, M. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v.46, n.1, p.72-78, 2002.

SCHLEGEL P.; GUTZWILLER A. Effect of dietary calcium level and source on mineral utilisation by piglets fed diets containing exogenous phytase. **Journal of Animal Physiology and Animal nutrition**, vol 101, issue 5, page e165-e174, 2017.

SCHREIWEIS, M. A.; ORBAN, J. I.; LEDUR, M. C.; HESTER, P. Y. The use of densitometry to detect differences in bone mineral density and content of live White Leghorns fed varying levels of dietary calcium. **Poultry Science**, v.82, n.8, p.1292- 1301, 2003.

SEEDOR, J.G. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats (2005). **J. Bone Miner. Res.**, v.4, p.265.

SEEDOR, J.G. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibite bone loss due to ovariectomy in rats. **J. Bone Miner. Res.**, v.4, p.265-270, 1993.

SEEMAN, E. Bone quality: the material and structural basis of bone strength. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 26, n.1, p. 1-8, 2008.

SILVA, L. K. Avaliação tecnológica em saúde: densitometria óssea e terapêuticas alternativas na osteoporose pós-menopausa. **Caderno de Saúde Pública**, v.19, n.4, p.987-1003, 2003.

SIMÕES, A. F. **Influência da atividade física no tratamento da osteoporose**. Disponível em: www.cdof.com.br/fisio5 acessado em 06 de maio de 2009.

SMITH, R.C. Kind of litter and breast blister on broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.35, p.593-595, 1956.

SOMMERFELDT, D. W.; RUBIN, C. T. **Biology of bone and how it orchestrates**

SOUZA, E.F. 2002. **Relatório sobre experimento com o uso de farinha de algas marinhas na suplementação mineral de bovinos de corte.**

SPEARS, J.W. 1996. Organic trace minerals in ruminant nutrition. ***Anim. Feed Sci. Techn.***, 58:151-163.

TADDEI, S. R. A. et al. Effect of *Lithothamnium* sp and calcium supplements in strain- and infection-induced bone resorption. **The Angle Orthodontist**: novembro de 2014, vol. 84, n° 6, pp. 980-988.

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

TAVARES M. R.; SANTANA S. N. S.; ALVA J. C. R.; MAZARO R.; PACHECO M. R.; LOUSADA M. J. Q.; ARTONI S. M. B. Avaliação morfológica e densitométrica do tibiotarso e metatarso de frangos de corte normais e com discondroplasia tibial. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 1, p. 74-74, 11, 2013.

UBA. **União Brasileira de Avicultura. Norma Técnica de Produção Integrada de Frango**. Coordenadores: MENDES, A. A.; PAZ, I. C. L. – São Paulo: União Brasileira de Avicultura, 2009. 64 p.

UCRÓS, N. S., FERREIRA, W. M., TORRES, R.C.S., BORGES, N. F., SILVEIRA, S.S., *Lithothamnium calcareum* no tratamento de osteotomia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64,n.3,p.615-622,2012. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=640125&indexSearch=ID>. Acesso em: 20 de Jun. 2016.

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

WALDROUP, P.W. 1996. **Bioassays remain necessary to estimate phosphorus, calcium bioavailability**. *Feedstuffs*, 68: 13-20.

WATKINS, B. A.; SEIFERT, M. F. Conjugated Linoleic Acid and Bone Biology. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 4, p. 478S-486S, 2000.

WEBER, P. The role of vitamins in the prevention of osteoporosis: a brief status report. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 69, n.3 p.194–197,1999.

WEBSTER, A.B.; FAIRCHILD, B.D.; CUMMINGS, T.S.; STAYER, P.A. Validation of a three. Point gait scoring system for field assessment de walking ability of commercial broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, p. 529-539, 2008.

ZANINI, S.F., M.A.G. CARVALHO, G. COLNAGO E R. QUILULA. 2000a. **Uso de farinha de algas como fonte de cálcio na ração de frangos de corte.**