

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE
SUBMETIDOS A DIFERENTES PERFIS DE TEMPERATURA NA
INCUBAÇÃO**

NAYANA BORGES DAS MERCÊS

SALVADOR – BAHIA
DEZEMBRO – 2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE
CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES PERFIS DE
TEMPERATURA NA INCUBAÇÃO**

NAYANA BORGES DAS MERCÊS
Médica veterinária

**SALVADOR – BAHIA
DEZEMBRO – 2024**

NAYANA BORGES DAS MERCÊS

**DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE
SUBMETIDOS A DIFERENTES PERFIS DE TEMPERATURA NA
INCUBAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanessa Michalsky Barbosa

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

SALVADOR – BA

DEZEMBRO – 2024

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Mercês, Nayana Borges das.

Desempenho e qualidade óssea de frangos de corte submetidos a diferentes perfis de temperatura na incubação / Nayana Borges das Mercês. - 2024.
214 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Vanessa Michalsky Barbosa.
Coorientador: Prof. Dr. Marcos Barcellos Café.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2024.

1. Zootecnia. 2. Avicultura. 3. Frango de corte - Efeito da temperatura. 4. Ossificação. 5. Ossos - Crescimento. 6. Ossos - Fisiopatologia. I. Barbosa, Vanessa Michalsky. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.5
CDU - 636.5

DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES PERFIS DE TEMPERATURA NA INCUBAÇÃO

Nayana Borges das Mercês

**Tese defendida e aprovada para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia**

Salvador, 13 de dezembro de 2024

Comissão examinadora:

Documento assinado digitalmente

 **VANESSA MICHALSKY BARBOSA**
Data: 17/12/2024 13:34:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Vanessa Michalsky Barbosa
UFBA
Orientadora / Presidente

Documento assinado digitalmente

 **JULIANA CANTOS FAVERI**
Data: 21/12/2024 12:32:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Juliana Cantos Faveri
UFBA

Documento assinado digitalmente

 **LIA MUNIZ BARRETO FERNANDES**
Data: 19/12/2024 16:29:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Lia Muniz Barreto Fernandes
UFBA

Documento assinado digitalmente

 **FABIANA FERREIRA**
Data: 18/12/2024 10:55:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Fabiana Ferreira
UFMG

Documento assinado digitalmente

 **IZABELA LORENA AZEVEDO**
Data: 18/12/2024 21:38:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Izabela Lorena Azevedo
IF Baiano

“O correr da vida embrulha tudo,
a vida é assim: esquenta e esfria,
aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem.”

Guimarães Rosa

Dedico este trabalho a minha família pelo amor e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Gratidão a Deus, ao Universo e a toda espiritualidade que me guia por todas as oportunidades e caminhos que abriram para mim, pelas bênçãos e livramentos, pela minha saúde, por todas as conquistas e por me manterem resiliente mesmo diante dos desafios. Não tenho nada a reclamar, só agradecer!

Ao meu pai Jorge, por proporcionar o melhor para que eu chegasse até aqui, sempre preocupado e amoroso. À minha mãe Ana Rita, que me dá colo, força e esperança para superar as batalhas da vida. Deus não poderia ter me dado pais melhores! Tudo que tenho e conquisto hoje dedico a vocês!

Ao meu irmão Jorginho, pela amizade, companheirismo e conselhos.

Ao meu esposo Luís Fernando, sempre preocupado, se fazendo presente e carinhoso até nos meus dias de estresse ou ansiedade, e a toda a sua família, pelo cuidado e zelo!

À minha avó, Zildete, pelo amor e carinho. Aos meus tios, tias, primos, primas e afilhada pela torcida e apoio.

Às minhas amigas que sempre estão ao meu lado. Sei que estão comigo para chorar e para sorrir.

À minha orientadora Profª Drª Vanessa Michalsky, por ter me proporcionado a oportunidade de fazer este doutorado, por me acolher em sua equipe e por contribuir para o meu crescimento profissional. Agradeço também pela disponibilidade e toda a ajuda durante importantes etapas da minha vida profissional. Os seus ensinamentos e olhar atento foram essenciais para essa conquista! Obrigada pela confiança e todo carinho.

Ao meu grupo de pesquisa NUPIA (Taís, Tayana, Larissa, Izabela e Vanessa) pela troca de conhecimentos e companheirismo.

Ao Professor Luís Vitor Vidal pela contribuição na análise estatística.

Ao Ron Meijerhof, à Poultry Performance Plus e à Universidade de Wageningen pela parceria científica.

À todo o pessoal do IFBaiano de Senhor do Bonfim pela colaboração para execução da pesquisa.

À minha sócia e amiga Carol Passinho por ter pegado na minha mão e encarado empreender. Através da GALI Consultoria avícola pude aprender muito, e hoje tenho uma rica bagagem de experiências a campo com o sistema de criação caipira.

Agradeço também à Universidade Federal da Bahia, que é meu berço de formação, e aos professores da Pós-graduação em Zootecnia, que contribuíram para os meus conhecimentos e foram dedicados mesmo diante dos desafios da pandemia.

Às professoras membros da banca examinadora pelo aceite e por enriquecerem este trabalho com suas contribuições.

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

À FAPESB, pelo financiamento do projeto.

À todas as pessoas que mesmo indiretamente contribuíram de alguma forma para a finalização de mais essa etapa da minha vida.

Que venha a próxima página do livro...

Desempenho e qualidade óssea de frangos de corte submetidos a diferentes perfis de temperatura na incubação

RESUMO GERAL

O objetivo desse estudo foi avaliar se variações de temperatura (acima ou abaixo da recomendada comercialmente), aplicadas de forma constante ou intermitente, influenciam o desenvolvimento ósseo e o desempenho zootécnico dos frangos de corte. Foram realizados dois experimentos utilizando os seguintes tratamentos: 1) TCO-C (Temperatura da casca do ovo controle - 37,8°C durante toda a incubação); 2) TCO-B (36,7°C entre os dias 8 e 18,5 de incubação); 3) TCO-A (38,9°C entre os dias 8 e 18,5); e 4) TCO-MA (39,4°C entre os dias 8 e 18,5). No experimento I, os tratamentos foram aplicados de forma constante durante todo o período de incubação citado, enquanto no experimento II, as temperaturas foram programadas para serem manipuladas durante 6 horas diárias no período de incubação selecionado. 800 pintos machos provenientes da incubação de ovos do mesmo lote de matrizes Cobb® (com 45 semanas no experimento I e 52 semanas no experimento II) foram alojados em galpão experimental convencional, submetidos às condições de manejo padrão recomendada e criados até os 42 dias. As variáveis analisadas foram: perfil sérico mineral (Ca e P), bioquímico (fosfatase alcalina) e hormonal (GH, T₃, T₄, PTH e vitamina D₃); temperatura retal; características minerais (Ca, P e cinzas), morfométricas (peso, comprimento e largura) e mecânicas (força para quebra) da tíbia; desordens ósseas e de locomoção (discondroplasia tibial, pododermatite, deformidade valgo-varo, *latency-to-lie* e *gait score*); desempenho zootécnico (peso, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade); e rendimento de carcaça e partes (peito, asa, coxa e sobrecoxa). No experimento I, todas as TCO modificadas prejudicaram ($p \leq 0,05$): o desempenho das aves; o rendimento de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa; os teores séricos de PTH e FA; os níveis ósseos minerais e morfométrico; e a pontuação VV. TCO alta e muito alta ainda comprometeram o rendimento de asa, temperatura retal, níveis séricos de Ca, P e vitamina D₃, resistência e DT ($p \leq 0,05$). GH e desordens PD e GS demonstraram ser negativamente influenciadas apenas pela TCO muito alta ($p \leq 0,05$). No experimento II, a manipulação térmica (MT) a 36,7°C prejudicou muitas variáveis ($p \leq 0,05$): o desempenho zootécnico geral; o Ca, P, FA, PTH e vitamina D₃ séricos; a temperatura corporal; e morfometria e minerais ósseos. As MT a 38,9°C ou 39,4°C, no entanto, promoveram a melhoria da maioria das características analisadas ($p \leq 0,05$). Dessa forma, o perfil constante de modificação da TCO demonstrou prejudicar as características ósseas e locomotoras, e o desempenho zootécnico de frangos aos 42 dias, sendo as altas temperaturas as mais prejudiciais. Porém, o perfil intermitente utilizando TCO alta e muito alta influenciaram positivamente essas características, sendo, portanto, considerada uma ferramenta viável e eficaz para a indústria avícola.

Palavras-chave: Avicultura. Fisiopatologias ósseas. Sistema locomotor. Temperatura da casca do ovo. Termomanipulação.

Performance and bone quality of broilers subjected to different temperature profiles during incubation

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate whether temperature variations (above or below that of the commercially recommended), applied constantly or intermittently, influence bone development and zootechnical performance of broilers. Two experiments were carried out using the following treatments: 1) TCO-C (Control eggshell temperature - 37.8°C throughout incubation); 2) TCO-B (36.7°C between days 8 and 18.5 of incubation); 3) TCO-A (38.9°C between days 8 and 18.5); and 4) TCO-MA (39.4°C between days 8 and 18.5). In experiment I, the treatments were applied constantly throughout the incubation period, while in experiment II, the temperatures were programmed to be manipulated for 6 hours a day in the selected incubation period. 800 male chicks from the incubation of eggs from the same batch of Cobb® breeder (with 45 weeks in experiment I and 52 weeks in experiment II), were housed in a conventional experimental shed, subjected to the recommended standard management conditions and created up to 42 days. The variables analyzed were: serum mineral (Ca and P), biochemical (alkaline phosphatase) and hormonal (GH, T3, T4, PTH and vitamin D3) profile; rectal temperature; mineral (Ca, P and ashes), morphometric (weight, length and width) and mechanical (breaking force for) characteristics of the tibia; bone and locomotion disorders (tibial dyschondroplasia, pododermatitis, valgus-varo deformity, latency-to-lie and gait score); zootechnical performance (weight, weight gain, feed consumption, food conversion and viability); and carcass yield and parts (chest, wing, thigh and thigh). In experiment I, all modified TCOs harmed ($p \leq 0.05$): the performance of the birds; the yield of carcass, chest, thigh and wing; the serum contents of PTH and FA; the mineral bone levels and morphometric; and the VV score. High and very high TCO still compromised wing yield, rectal temperature, serum levels of Ca, P and vitamin D3, resistance and DT ($p \leq 0.05$). GH and PD and GS disorders have been shown to be negatively influenced only by very high TCO ($p \leq 0.05$). In experiment II, thermal manipulation (MT) at 36.7°C harmed many variables ($p \leq 0.05$): general zootechnical performance; serum Ca, P, FA, PTH and vitamin D3; body temperature; and morphometry and bone minerals. The TM at 38.9°C or 39.4°C, however, promoted the improvement of most of the characteristics analyzed ($p \leq 0.05$). Thus, the constant modification profile of the TOC has been shown to harm the bone and locomotor characteristics, and the zootechnical performance of chickens at 42 days, with high temperatures being the most harmful. However, the intermittent profile using high and very high TCO positively influenced these characteristics, being, therefore, considered a viable and effective tool for the poultry industry.

Keywords: Bone physiopathologies. Eggshell temperature. Locomotor system. Poultry. Thermomanipulation.

LISTA DE FIGURAS

	Página
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1 Desenvolvimento ósseo pré e pós-eclosão de frangos de corte: minerais e hormônios envolvidos	
Figura 1. Estrutura de um osso longo.....	29
Figura 2. Ossificação endocondral.....	30
Diagrama demonstrando a organização das zonas da placa de crescimento, local onde os condrócitos se dividem, aumentam de tamanho, morrem e são substituídos por osteócitos.....	33
3. CAPÍTULO 1 - Perfis de temperaturas constantes durante a incubação e seus efeitos no sistema locomotor e desempenho de frangos de corte	
Figura 1. Teores sanguíneos de cálcio e fósforo (mg/dL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	111
Figura 2. Teor sanguíneo de Fosfatase Alcalina (U/L) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	113
Figura 3. Teores sanguíneos de GH, T ₃ , T ₄ (ng/mL), PTH e vitamina D ₃ (pg/mL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	114
Figura 4. Temperatura retal (°C) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	117
Figura 5. Composição mineral (%) e cinzas (%) da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	118
4. CAPÍTULO 2 – Manipulação térmica pré-natal e seus efeitos no desenvolvimento ósseo e no desempenho de frangos de corte em idade de abate	

Figura 1.	Teores sanguíneos de cálcio e fósforo (mg/dL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	155
Figura 2.	Fosfatase alcalina (U/L) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	157
Figura 3.	Teores sanguíneos de GH, T3, T4 (ng/mL), PTH e vitamina D3 (pg/mL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	161
Figura 4.	Temperatura retal (°C) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	162
Figura 5.	Composição mineral (%) e cinzas (%) da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	165

LISTA DE TABELAS

	Página
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1 Desenvolvimento ósseo pré e pós-eclosão de frangos de corte: minerais e hormônios envolvidos	
Tabela 1. Valores de referência encontrados na literatura dos parâmetros sanguíneos mais utilizados para avaliar o desenvolvimento ósseo em frangos de corte com 42 dias de idade.....	58
2.2 Temperatura constante e intermitente durante a incubação e seus efeitos na criação de frangos de corte	
Tabela 1. Compilação de estudos sobre os efeitos significativos da temperatura de incubação nos parâmetros ósseos e locomotores, e desempenho de aves de corte.....	93
3. CAPÍTULO 1 – Perfis de temperaturas constantes durante a incubação e seus efeitos no sistema locomotor e desempenho de frangos de corte	
Tabela 1. Composição percentual da ração inicial, de crescimento e final, e seus respectivos níveis nutricionais.....	101
Tabela 2. Descrição dos sistemas de pontuação da marcha usados para avaliar a capacidade de caminhar de frangos de corte em idade comercial....	103
Tabela 3. Desempenho dos frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em temperatura controle (TCO-C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	108
Tabela 4. Rendimento de carcaça e cortes (%) de frangos de corte com 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (TCO-C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	109
Tabela 5. Características morfológicas e mecânicas da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	120

Tabela 6.	Desordens ósseas e locomotoras de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.....	124
4. CAPÍTULO 2 – Manipulação térmica pré-natal e seus efeitos no desenvolvimento ósseo e no desempenho de frangos de corte em idade de abate		
Tabela 1.	Composição percentual da ração inicial, de crescimento e final, e seus respectivos níveis nutricionais.....	144
Tabela 2.	Descrição dos sistemas de pontuação da marcha usados para avaliar a capacidade de caminhar de frangos de corte em idade comercial....	146
Tabela 3.	Desempenho dos frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	151
Tabela 4.	Rendimento de carcaça e cortes (%) de frangos de corte com 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	152
Tabela 5.	Características morfométricas e mecânicas da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	167
Tabela 6.	Desordens ósseas e locomotoras de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.....	169

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
CA	Conversão Alimentar
Ca	Cálcio
CO ₂	Gás carbônico
CRF	Fator liberador de corticotropina
Cu	Cobre
DP	Dermatite Plantar
DJ	Dermatite de jarrete
DT	Discondroplasia tibial
DVV	Deformidade valgo-varo
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fosfatase Alcalina
Fe	Ferro
GC	Hormônios glicocorticóides
GH	Hormônio do crescimento
GRF	Fator liberador de hormônio de crescimento
HHT	Eixo hipotálamo-hipófise-tireóide
Hsps	Proteínas de choque térmico
HT	Hormônios tireoidianos
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
K	Potássio
LTL	<i>Latency-to-lie</i>
MCA	Membrana corioalantoide
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MT	Manipulação Térmica
Na	Sódio
NCF	Necrose da cabeça femoral
O ₂	Oxigênio
P	Fósforo

PC	Peso Corporal
PTH	Hormônio da paratireoide/Paratormônio
SCF	Separação da cabeça femoral
SCFL	Separação da cabeça femoral com lacerações
SEM	Erro padrão da média
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
TCO	Temperatura da Casca do Ovo
TNAP	Fosfatase Alcalina Inespecífica de Tecido
TRH	Hormônio liberador de tireotropina
TSH	Hormônio tireoestimulante
UE	União Europeia
UR	Umidade Relativa do ar
YFBM	<i>Yolk Free Body Mass</i>
Zn	Zinco

SUMÁRIO

DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES PERFIS DE TEMPERATURA NA INCUBAÇÃO

	Página
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1 Desenvolvimento ósseo pré e pós-eclosão de frangos de corte: minerais e hormônios envolvidos.....	26
Resumo.....	26
2.1.1 Introdução.....	27
2.1.2 O osso: composição e estrutura.....	27
2.1.3 Formação e mineralização pré-eclosão.....	29
2.1.4 Crescimento e remodelação pré e pós-eclosão.....	32
2.1.5 Minerais envolvidos.....	35
2.1.6 Hormônios envolvidos.....	39
2.1.7 Considerações finais.....	47
Referências.....	47
Apêndice.....	58
2.2 Temperatura constante e intermitente durante a incubação e seus efeitos na criação de frangos de corte.....	59
Resumo.....	59
2.2.1 Introdução.....	59
2.2.2 Reflexo da temperatura alta e constante no período de criação.....	62
2.2.3 Reflexo da manipulação térmica alta e intermitente no período de criação.....	69
2.2.4 Reflexo da temperatura baixa e constante no período de criação.....	76
2.2.5 Reflexo da manipulação térmica baixa e intermitente no período de criação.....	80
2.2.6 Considerações finais.....	83
Referências.....	83

Apêndice.....	93
3. CAPÍTULO 1 – Perfis de temperaturas constantes durante a incubação e seus efeitos no sistema locomotor e desempenho de frangos de corte.....	95
Resumo.....	96
3.1 Introdução.....	96
3.2 Material e Métodos.....	97
3.3 Resultados e discussão.....	107
3.4 Conclusão.....	127
Referências.....	127
4. CAPÍTULO 2 – Manipulação térmica pré-natal e seus efeitos no desenvolvimento ósseo e no desempenho de frangos de corte em idade de abate.....	137
Resumo.....	138
4.1 Introdução.....	138
4.2 Material e Métodos.....	140
4.3 Resultados e discussão.....	150
4.4 Conclusão.....	170
Referências.....	171
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES.....	180
ANEXOS.....	182
CARTILHA – Principais fisiopatologias do sistema locomotor de frangos.....	183

1. INTRODUÇÃO GERAL

Na tentativa de abastecer a alta demanda mundial, a indústria avícola tem buscado, ao longo dos anos, melhorar geneticamente a taxa de crescimento, o ganho de massa muscular das aves e a eficiência alimentar, junto a um abate mais precoce (AYGUN; NARINC, 2016; VAN DER SLUIS et al., 2022). Porém, apesar dessas características estarem sendo adquiridas, o desenvolvimento ósseo não conseguiu acompanhar essa evolução genética (RATH et al., 2000; APPLEGATE; LILBURN, 2002; SUCHÝ et al., 2009; YAIR et al., 2017). Juntamente com alterações ambientais e nutricionais desfavoráveis, isso tem provocado o surgimento de ossos frágeis, imaturos e menos compactos e, consequentemente, diversos problemas locomotores (TORRES; KORVER, 2018), sendo altamente prevalentes a discondroplasia tibial, raquitismo e necrose da cabeça femoral (DINEV, 2012). Essa condição traz prejuízos econômicos, devido à queda no bem-estar e no desempenho dos lotes, e promove mortalidade e condenações na linha de abate (SHIM et al., 2012; PINES; RESHEF, 2015; SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019; HALGRAIN et al., 2022; KETTRUKAT et al., 2023).

Apesar de apontarem a genética, nutrição e ambiente como as principais causadoras de doenças ou alterações locomotoras e ósseas nos frangos de corte, a indústria não pode negligenciar que esses problemas também podem ser originados em uma das principais fases de vida da ave: a embriogênese ou fase pré-eclosão (OVIEDO-RONDÓN et al., 2008; 2009; GROVES; MUIR, 2011; 2014; YAIR et al., 2012; KETTRUKAT et al., 2023). É nesse período que o desenvolvimento, crescimento e diferenciação dos ossos se iniciam. Participam desse processo diversos minerais adquiridos da casca e/ou gema, como cálcio, fósforo, manganês e magnésio; hormônios importantes para a manutenção desse processo, como paratormônio, calcitonina, tireoideanos (T_3 e T_4) e vitamina D₃; e enzimas, que também possuem papel direto na regularização da ossificação, como a fosfatase alcalina (PIZAURO JÚNIOR et al., 2017a,b; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020; KAMANLI et al. 2021).

Nos ossos longos das pernas, grande parte da formação do tecido ósseo ocorre na placa epifisária, também chamada de placa de crescimento. É nesse local onde há a proliferação, manutenção, hipertrofia e diferenciação dos condróцитos, células responsáveis pela matriz cartilaginosa do osso, as quais darão lugar para os osteoblastos e osteócitos formarem o tecido ósseo (YALCIN et al. 2007; OZNURLU et al., 2016).

Quando há desvios no padrão de incubação, principalmente alterações de temperatura, o metabolismo do embrião é alterado, o que pode comprometer ou promover o desenvolvimento ósseo, a depender dos métodos aplicados. Respectivamente, isso pode causar o surgimento ou a diminuição de anormalidades ósseas e locomotoras na fase de criação, o que consequentemente reflete no desempenho zootécnico e rendimento de abate (GÜZ et al., 2020; MORITA et al., 2020; KETTRUKAT et al., 2023).

Apesar disso, ainda são necessárias pesquisas que demonstrem os efeitos de diferentes perfis de temperaturas de incubação sobre características observadas na fase de criação das aves. Os estudos existentes utilizaram metodologias diferentes e realizaram análises pontuais e não abrangentes (JOSEPH et al., 2006; YALÇIN et al., 2007; OVIEDO-RONDÓN et al., 2008; 2009; SHIM; PESTI, 2011; LOYAU et al., 2013; VAN DER POL et al., 2014; SOZCU; IPEK, 2015; IPEK; SOZCU, 2016; GROVES; MUIR, 2017; MUIR; GROVES, 2019; GÜZ et al., 2020; AGYEKUM et al., 2022), e por isso há a necessidade de explorar aspectos considerados importantes de serem observados em idade de abate.

Dessa forma, nosso objetivo com essa pesquisa foi avaliar se a temperatura de incubação, acima ou abaixo da considerada padrão, aplicada em um perfil constante ou intermitente a partir da segunda semana de embriogênese, interferem nas características fisiológicas, ósseas, locomotoras e no desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade. Ao determinar esses dados, as práticas de incubação utilizadas atualmente pela indústria avícola poderão ser aprimoradas, obtendo-se melhores resultados produtivos dos frangos e, consequentemente, maiores índices econômicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGYEKUM, G.; OKAI, M. A.; TONA, J. K.; DONKOH, A.; HAMIDU, J. A. Impact of incubation temperature profile on chick quality, bone, and immune system during the late period of incubation of Cobb 500 broiler strain. *Poultry Science*, v. 101, 2022.
- APPLEGATE, T. J.; M. S. LILBURN. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry Science*, v. 8, p. 1289–1294, 2002.
- AYGUN, A.; NARINC, D. **The Effects of Thermal Manipulations During Embryogenesis of Broiler Chicks on Growth of Embryo and Skeletal Traits.** Anais da Conferência AIP, v. 1726, n. 1, 2016.
- DINEV, I. Pathomorphological investigations on the incidence of clinical spondylolisthesis (kinky back) in different commercial broiler strains. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v. 163, n.11, p.511-515, 2012.
- FAO, 2024. **Food Outlook – Biannual Report on Global Food Markets.** Disponível em: Food Outlook – Biannual report on global food markets. Acesso em: 10 de nov. de 2024.
- GROVES, P. J.; MUIR, W. I. INCUBATION CAN AFFECT BROILER LEG STRENGTH. *Australian Poultry Science Symposium*, 2011.
- GROVES, P.; MUIR, W.A. Meta-analysis of experiments linking incubation conditions with subsequent leg weakness in broiler chickens. *PLoS One*, v. 9, n. 7, 2014.
- GROVES, P. J.; MUIR, W. I. Earlier hatching time predisposes Cobb broiler chickens to tibial dyschondroplasia. *Animal*, v. 11, n.1, p.112–120, 2017.
- GÜZ, B. C.; MOLENAAR, R.; DE JONG, I. C.; KEMP, B.; VAN KRIMPEN, M.; VAN DEN BRAND, H. Effects of eggshell temperature pattern during incubation on tibia characteristics of broiler chickens at slaughter age. *Poultry Science*, v. 99, p. 3020-3029, 2020.
- HALGRAIN, M.; BERNARDET, N.; CREPEAU, M.; MEME, N.; NARCY, A.; HINCKE, M.; RÉHAULT-GODBERT, S. Eggshell decalcification and skeletal mineralization during chicken embryonic development: defining candidate genes in the chorioallantoic membrane. *Poultry Science*, v. 101, 2022.
- IPEK; A.; SOZCU, A. The effects of egg-shell temperature fluctuations during incubation on welfare status and gait score of broilers. *Poultry Science*, v. 95, p.1296–1303, 2016.
- JOSEPH, N. S.; LOURENS, A.; MORAN JR, E. T. The Effects of Suboptimal Eggshell Temperature During Incubation on Broiler Chick Quality, Live Performance, and Further Processing Yield. *Poultry Science*, v.85, p. 932–938, 2006.
- KAMANLI, S.; YALÇIN, Z. S.; TASDEMIR, A. N.; TARIM, B.; TLEK, E.; AYGÖREN, H.; MERAL, O.; KARSLI, B.; ANSAL BALCI, T.; BOZKURT, M. Effect of eggshell temperatures on hatching performance, egg production, and bone

morphology of laying hens. **Turkey Journal Veterinary Animal Science**, v. 45, p.11-20, 2021.

KETTRUKAT, T.; GROCHOWSKA, E.; THERKILDSEN, M. The effect of incubation temperature on the development of the locomotory system and welfare in broiler chickens: A review. **Livestock Science**, v. 276, 2023.

MENDONÇA JÚNIOR, C. X.; FURLAN, R. L.; AMOROSO, L.; ALMEIDA, E. A. Fisiopatologia do sistema locomotor. In: ANDREATTI FILHO, R. L.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; BACK, A. FABIO, J.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 3 ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, p. 245-267, 2020.

MUIR, W. I.; GROVES, P. J. The length strength of two commercial strains of meat chicken subjected to different incubation profiles. **Animal**, n. 13, v. 7, p. 1489-1497. 2019.

LOYAU, T.; BERRI, C.; BEDRANI, L.; MÉTAYER-COUSTARD, S.; PRAUD, C.; DUCLOS, M. J.; TESSERAUD, S.; RIDEAU, N.; EVERAERT, N.; YAHAV, S.; MIGON-GRASSTEAU, S.; COLLIN, A. Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality. **Journal of Animal Science**, v.91, p.3674-3685, 2013.

MORITA, V. S.; ALMEIDA, A. R.; MATOS JR, J. B.; VICENTINI, T. I.; ZANIRATO, G. L.; BOLELI, I. C. Neither altered incubation temperature during fetal development nor preferred rearing temperature improves leg bone characteristics of broilers. **Journal of Thermal Biology**, v. 93, 102726, 2020.

OVIEDO-RONDÓN, E. O., J. SMALL, M. J. WINELAND, V. L. CHRISTENSEN, J. L. GRIMES, S. V. L. FUNDERBURK, D. T. ORT; K. M. MANN. Effects of incubator temperature and oxygen concentration during the plateau stage of oxygen consumption on turkey embryo long bone development. **Poultry Science**, v. 87, p. 1484–1492, 2008.

OVIEDO-RONDÓN, E. O., M. J. WINELAND, J. SMALL, H. CUTCHIN, A. MCELROY, A. BARRI; S. MARTIN. Effect of incubation temperatures and chick transportation conditions on bone development and leg health. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, p. 671–678. 2009.

OZNURLU, Y., E. SUR, T. OZAYDIN, I. CELIK; D. ULUISIK. Histological and histochemical evaluations on the effects of high incubation temperature on the embryonic development of tibial growth plate in broiler chickens. **Microscopy Research and Technique**, v. 79, p. 106–110, 2016.

PINES, M.; RESHEF, R. Poultry bone development and bone disorders. In: **Sturkie's Avian Physiology**, Elsevier Inc., 2015.

PIZAURO JUNIOR, J. M.; SANTOS, L. F. J.; GONÇALVES, A. M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: Funep, p. 492-513. 2017a.

PIZAURO JUNIOR, J. M.; GONÇALVES, A. M.; SANTOS, L. F. J. Regulação do metabolismo ósseo por hormônios e íons inorgânicos. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: Funep, p. 516-530. 2017b.

RATH, N. C.; BALOG, J. M.; HUFF, G. R; KULKARNI, G. B.; TIERCE, J. F. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- and seventy-two-ween-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v. 78, p. 1232-1239, 2000.

SHIM, M. Y.; PESTI, G. M. Effects of incubation temperature on the bone development of broilers. **Poultry Science**, v. 90, p.1867–1877, 2011.

SHIM, M. Y.; KARNUAH, A. B.; ANTHONY, N. B.; PESTI, G. M.; AGGREY, S. E. The effects of broiler chicken growth rate on valgus, varus, and tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 91, p. 62–65, 2012.

SOZCU, A.; IPEK, A. Acute and chronic eggshell temperature manipulations during hatching term influence hatchability, broiler performance, and ascites incidence. **Poultry Science**, v. 94, p.319–327, 2015.

SUCHÝ, P.; STRAKOVÁ, E.; HERZIG, I.; STEINHAUSER, L.; KRÁLIK, G.; ZAPLETAL, D. Chemical composition of bone tissue in broiler chickens intended for slaughter. **Czech Journal of Animal Science**, v. 54, n.7, p. 324–330, 2009.

TORRES, A. C.; KORVER, D. R. Influences of trace mineral nutrition and maternal flock age on broiler embryo bone development. **Poultry Science**, v.97, p.2996–3003, 2018.

VAN DER POL, C. W., I. A. M. VAN ROOVERT-REIJRINK, C. M. MAATJENS, I. VAN DEN ANKER, B. KEMP; H. VAN DEN BRAND. Effect of eggshell temperature throughout incubation on broiler hatching leg bone development. **Poultry Science**, v. 93, p. 2878–2883. 2014.

VAN DER SLUIS, M.; ASHER, L.; BAS RODENBURG, T.; DE HAAS, Y.; DE KLERK B.; ELLEN, E. D. Early locomotor activity in broilers and the relationship with body weight gain. **Poultry Science**, v. 101, 2022.

YAIR, R.; UNI, Z.; SHAHAR, R. Bone characteristics of late-term embryonic and hatching broilers: Bone development under extreme growth rate. **Poultry Science**, v. 91, p. 2614-2620, 2012.

YAIR, R.; CAHANER, A., UNI, Z.; SHAHAR, R. Maternal and genetic effects on broiler bone properties during incubation period. **Poultry Science**, v. 96, p. 2301-2311, 2017.

YALÇIN, S.; MOLAYOGLU, H. B.; BAKA, M.; GENIN, O.; PINES, M. Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the Incidence of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v.86, p.1772-1783, 2007.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Diante do exposto e para melhor entendimento a respeito do tema, a presente revisão de literatura foi organizada em forma de dois artigos e uma cartilha (Anexo 1), abaixo intitulados:

2.1. Artigo 1 – Desenvolvimento ósseo pré e pós-eclosão de frangos de corte: minerais e hormônios envolvidos.

2.2. Artigo 2 – Temperatura constante e intermitente durante a incubação e seus efeitos na criação de frangos de corte.

Anexo. Cartilha – Principais fisiopatologias do sistema locomotor de frangos de corte.

2.1 Desenvolvimento ósseo pré e pós-eclosão de frangos de corte: minerais e hormônios envolvidos

Resumo

O osso é um tecido considerado dinâmico e altamente especializado, com papel de sustentação, locomoção, proteção e equilíbrio do organismo. É formado por células incorporadas em uma matriz extracelular abundante, responsáveis pela produção e manutenção da matriz, assim como pela reabsorção para homeostase ou manutenção da arquitetura óssea. O crescimento dos ossos ocorre tanto em largura quanto em comprimento, porém o mais complexo envolve a placa de crescimento, que é dividida em zonas com diferentes estágios de maturação de condrócitos. O processo de ossificação envolve a absorção e deposição de minerais presentes nos compartimentos do ovo, sendo que grande quantidade deles parte principalmente da casca e da gema. O cálcio e o fósforo são os mais importantes, pois conferem a rigidez ao tecido ósseo, no entanto, minerais traços como zinco, cobre, manganês e magnésio são essenciais para a atividade estrutural e enzimática do processo. Além disso, a osteogênese está sob o controle de mecanismos endócrinos, envolvendo hormônios e fatores de crescimento, os quais participam direta e indiretamente do metabolismo, crescimento e remodelação óssea. Essa revisão descreve o desenvolvimento, crescimento e mineralização do tecido ósseo tanto antes quanto após a eclosão da ave, apontando os minerais envolvidos e suas funções, e a regulação hormonal responsável pelo processo de formação e reabsorção.

Palavras-chave: Avicultura. Sistema esquelético. Osteogênese. Mineralização óssea. Controle hormonal.

1. Introdução

De acordo com Pines e Reshef (2015), a formação e crescimento ósseo se iniciam durante o desenvolvimento embrionário, sendo ele um processo considerado complexo, que envolve o controle de mecanismos celulares e moleculares precisos, e a interação de diversos agentes reguladores. Na primeira semana de incubação das aves, ocorre a modulação óssea, em que o esqueleto é inteiramente cartilaginoso, e aos 5 a 6 dias já se vê os membros anteriores e posteriores. A partir da segunda semana de incubação, os ossos crescem rapidamente e progressivamente são mineralizados, o que se estende até

o período pós-natal (Bellairs e Osmond, 2005; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Barbosa, 2011). Além disso, durante toda a vida do indivíduo, os ossos passam por constantes remodelações (Clarke, 2008).

O processo de mineralização óssea do embrião aviário consiste na deposição de minerais oriundos do ovo (casca, gema e albúmen) (Yair e Uni, 2011). A principal forma mineral depositada sobre as fibrilas de colágeno da matriz orgânica óssea é o fosfato de cálcio (hidroxiapatita), formado pelos minerais cálcio (Ca) e fósforo (P). Além deles, minerais traços como zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e magnésio (Mg), são essenciais para a formação e manutenção adequada desse tecido, por participarem de metaloenzimas com funções estruturais e/ou catalíticas (Oviedo-Rondón e Ferket, 2005; Dibner *et al.*, 2007; Pizauro Júnior *et al.*, 2017a). Com isso, aproximadamente 70% do tecido ósseo é constituído de fontes minerais, sendo essa proporção maior em aves do que em mamíferos, o que aumenta a susceptibilidade a fraturas (Rath *et al.*, 2000).

No metabolismo, crescimento e remodelação óssea também participam fatores endócrinos. De acordo com Rath *et al.* (2000) e Dibner *et al.* (2007), uma das causas de anormalidades no desenvolvimento ósseo é o desequilíbrio (excesso ou deficiência) de hormônios específicos, como andrógenos, estrógenos, o sistema hormônio do crescimento-fator de crescimento semelhante à insulina-I (GH - IGF-1), hormônios da paratireoide e da tireoide, e aqueles relacionados ao estresse, como os glicocorticoides.

O objetivo dessa revisão é descrever o processo de desenvolvimento ósseo pré e pós-eclosão da ave, abordando os minerais envolvidos na estrutura óssea e suas funções na osteogênese, bem como a dinâmica de regulação hormonal nesse processo.

2. O osso: composição e estrutura

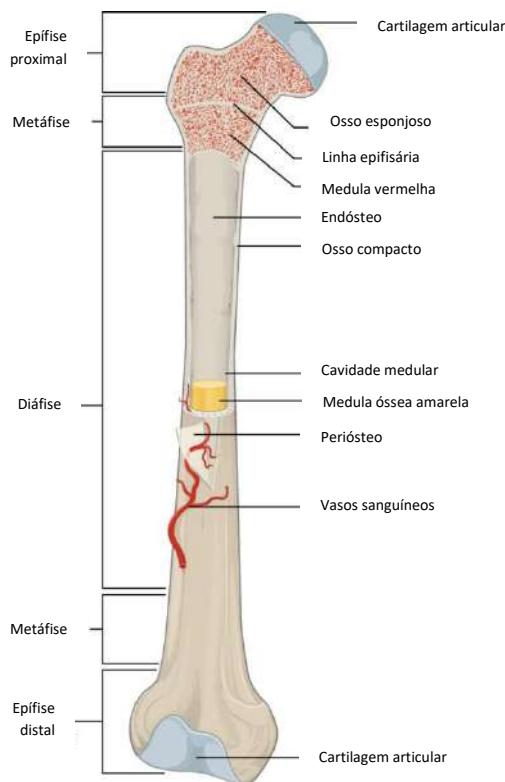
O osso é um tecido conjuntivo dinâmico e altamente especializado formado por células incorporadas em uma matriz extracelular abundante. Basicamente é constituído por 20 a 40% de matriz orgânica, formada por colágeno tipo I (cerca de 90%) e proteoglicanos, lipídeos e proteínas não colágenas; 50 a 70% de matriz inorgânica, formada em sua maioria por Ca e P, que formam a hidroxiapatita; e 5 a 10% de água. Além das funções de suporte, rigidez, resistência, locomoção e proteção, o osso participa da homeostase do cálcio no organismo (Rath *et al.*, 2000; Marks e Odgren, 2002; Clarke, 2008; Lefebvre e Bhattaram, 2010).

As quatro categorias gerais de ossos são ossos longos (por exemplo, fêmur, tíbia e metatarso), ossos curtos (carpo, tarso, dentre outros), ossos chatos (crânio, costelas, dentre outros) e ossos irregulares (vêrtebras) (Clarke, 2008). As aves ainda possuem ossos classificados como pneumáticos (crânio, esterno, úmero, clavícula e algumas vértebras), que são mais leves que os outros ossos e têm função de auxiliar a mecânica respiratória (Pizauro Júnior *et al.*, 2017a). Os ossos longos são divididos em partes (Figura 1): diáfise, que é todo o comprimento do osso; metáfises, que são as partes mais largas próximas das extremidades e abaixo da placa de crescimento; e epífises, que são as extremidades, acima da placa de crescimento (Clarke, 2008; Mendonça Júnior *et al.*, 2020).

Em relação à classificação morfológica, existem duas formas de osso, com diferenças estruturais e funcionais. O osso compacto (ou cortical) possui fibrilas de colágeno compactadas que formam lamelas bem organizadas, tem função mecânica e de proteção e estão presentes na diáfise. Já o osso esponjoso, a matriz é porosa e pouco organizada, tem função metabólica, é encontrado na maioria dos ossos chatos e nas epífises dos ossos longos (Rath *et al.*, 2000; Marks e Odgren, 2002; Pizauro Júnior *et al.*, 2017a).

O osso é composto por três tipos de células: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. As duas primeiras são provenientes de células osteoprogenitoras, também chamadas de células mesenquimais multipotentes, que se originam do ectoderma e do mesoderma, enquanto a última surge da fusão de monócitos e macrófagos, células do tecido hematopoiético. Os osteoblastos são responsáveis pela produção da matriz óssea e regulam a mineralização; os osteócitos são osteoblastos maduros responsáveis pela manutenção do tecido; e os osteoclastos têm função de reabsorção óssea (Marks e Odgren, 2002; Clarke, 2008; Berendsen e Olsen, 2015). As células mesenquimais também se diferenciam em condrócitos, que formam a base cartilaginosa (Lefebvre e Bhattaram, 2010).

Figura 1 – Estrutura de um osso longo



Fonte: Openstax College (2012)

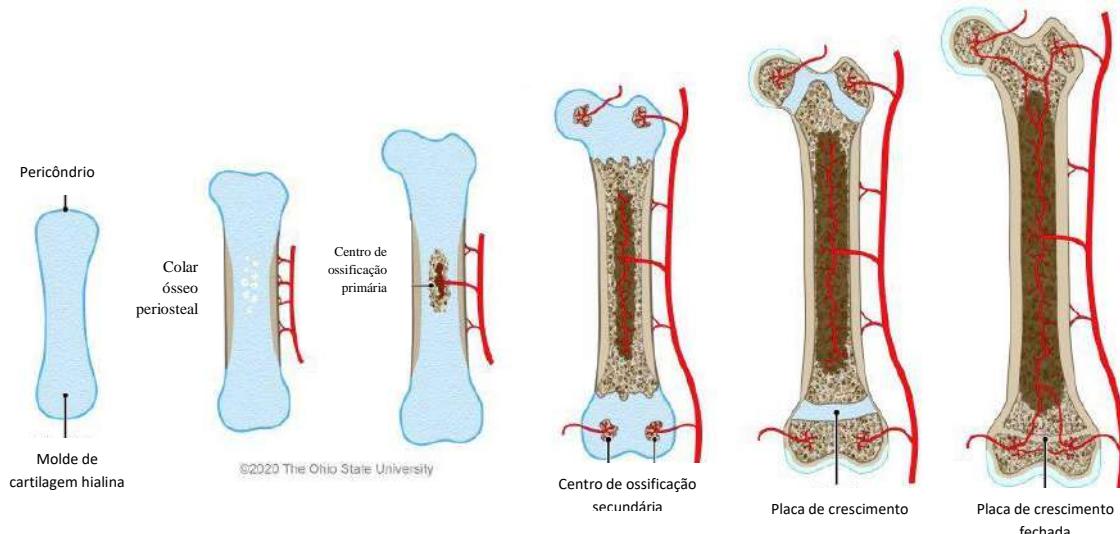
3. Formação e mineralização pré-eclosão

A esqueletogênese se inicia no embrião vertebrado a partir da migração de células mesenquimais para locais específicos, dando origem a um molde que será o futuro esqueleto axial, que abrange crânio, coluna, esterno e costelas, e apendicular, que são os ossos das extremidades (Karaplis, 2002; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Berendsen e Olsen, 2015). A partir disso, a ossificação ocorre através de dois processos: intramembranosa e endocondral (Long e Ornitz, 2013).

Na ossificação intramembranosa, também chamada de processo direto, as células mesenquimais se diferenciam em osteoblastos, os quais produzem uma matriz orgânica não mineralizada (osteóide) e depois a calcificam através da diferenciação em osteócitos. Assim se formam espículas ósseas que se fundem formando trabéculas e lamelas compactas. Ela ocorre na abóboda craniana, ossos da face e em parte da clavícula e mandíbula (Marks e Odgren, 2002; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Berendsen e Olsen, 2015).

A ossificação endocondral, por sua vez, é considerada o processo indireto, pois ocorre a partir da diferenciação de células mesenquimais em condrócitos, formando um molde de cartilagem que dará origem aos futuros ossos (Figura 2). Este é o principal responsável pela formação de grande parte do esqueleto, presente na parte posterior do crânio, e no esqueleto axial e apendicular (Long e Ornitz, 2013; Berendsen e Olsen, 2015). Inicialmente, ocorre uma proliferação de condrócitos que formam um molde de cartilagem hialina e o pericôndrio (camada mais externa do osso em formação), surgindo o centro primário de ossificação. Na circunferência dessa formação, partindo inicialmente do centro e progredindo em direção às extremidades, ocorre a invasão de vasos sanguíneos que trazem osteoblastos que mineralizam a matriz, formando o periôsteo (camada externa definitiva do osso). Toda a diáfise vai sendo mineralizada, formando o osso esponjoso e a cavidade medular (onde fica a medula óssea), que posteriormente se torna osso compacto. O colar ósseo cresce e a cartilagem vai ficando apenas nas epífises, onde é formado o centro de ossificação secundário. A partir do mesmo processo, toda a cartilagem é substituída por osso, exceto as placas epifisárias ou placas de crescimento e a superfície articular (Marks e Odgren, 2002). Esse tipo de ossificação não ocorre apenas durante a esqueletogênese, mas também é parte integrante do crescimento pós-natal, da modelagem óssea e do reparo de fraturas (Karaplis, 2002).

Figura 2 – Ossificação endocondral.



Fonte: The Ohio State University (2020)

O processo de mineralização consiste, principalmente, na deposição de cálcio (Ca) e fósforo (P), e de outros minerais traços como o zinco (Zn), cobre (Cu), manganês

(Mn) e magnésio (Mg) no osso em formação (Oviedo-Rondón e Ferker, 2005; Dibner *et al.*, 2007).

Segundo Kirsch *et al.* (1997), a biomíneralização tem um papel fundamental na substituição normal do esqueleto cartilaginoso pelo esqueleto ósseo definitivo através da ossificação endocondral durante o pré-natal e o início da vida pós-natal. Assim, a associação mineral-matriz é crítica à formação óssea, em que o mineral proporciona rigidez e resistência para suportar carga, enquanto a matriz orgânica proporciona elasticidade e flexibilidade (Rath *et al.*, 2000; Clarke, 2008).

O processo de mineralização mais estudado é o da placa de crescimento dos ossos longos, que é mediada por vesículas minerais ligadas às membranas de condrócitos hipertrofiados, as quais possuem todas as características necessárias para a indução da calcificação. No fenômeno denominado de nucleação, ocorre um arranjo mineral de cálcio e fosfato para o interior dessas vesículas. Dentro delas, ainda há fosfolipídeos e enzimas como a fosfatase alcalina (FA), ATPase alcalina e pirofosfatase. O aumento de cálcio e fosfato no interior da vesícula provoca a formação do fosfato de cálcio não cristalino que, por meio de processos ainda não muito esclarecidos, se convertem em microcristais, formando o precursor da hidroxiapatita. Todo esse processo caracteriza a fase 1 da nucleação. Na fase 2, os cristais de hidroxiapatita rompem a membrana vesicular e extravasam o conteúdo para o meio extracelular, ocorrendo a sua infiltração e expansão nas fibrilas de colágeno presentes. Esta expansão da hidroxiapatita necessita de cálcio e fosfatos suficientes fora das vesículas da matriz (Marks e Popoff, 1988; Kirsch *et al.*, 1997; Pizauro Júnior *et al.*, 2017a).

A FA está no intestino, cérebro, placenta, fígado, ossos e rins, sendo para esses três últimos chamada de fosfatase alcalina inespecífica de tecido (ou basicamente TNAP, sigla em inglês). É encontrada não só nas vesículas de condrócitos, como também naquelas localizadas nas membranas e mitocôndrias de osteoblastos (Vimalraj, 2020). Essa enzima hidrolisa o pirofosfato inorgânico (produto da hidrólise do ATP e inibidor da formação da hidroxiapatita) para produzir fosfato inorgânico, precursor da hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (Clarke, 2008; Vimalraj, 2020). Apesar de todas essas descobertas, os mecanismos pelos quais as vesículas são criadas e movidas, e porquê os mecanismos pelo qual a mineralização se restringe aos componentes longitudinais da placa de crescimento segue incerto (Marks e Popoff, 1988; Kirsch *et al.*, 1997).

Acredita-se que os condrócitos hipertróficos induzem fatores angiogênicos no pericôndrio para estimular a invasão de vasos sanguíneos. Isso leva osteoblastos até a

região da matriz cartilaginosa mineralizada, os quais passam a secretar matriz extracelular óssea (formando os osteóides ou camadas de colágeno tipo I), resultando em centros de ossificação primária, que se mineralizam pela deposição dos cristais de hidroxiapatita (Olsen *et al.*, 2000; Dibne *et al.*, 2017; Torres e Korver, 2018).

Applegate e Lilburn (2002) analisaram ossos longos de linhagens de frango de corte demonstrando que a mineralização da diáfise do fêmur foi menor do que na tíbia, sugerindo que o fêmur pode ser a origem das anormalidades esqueléticas de ossos longos durante os últimos períodos de crescimento dos frangos de corte.

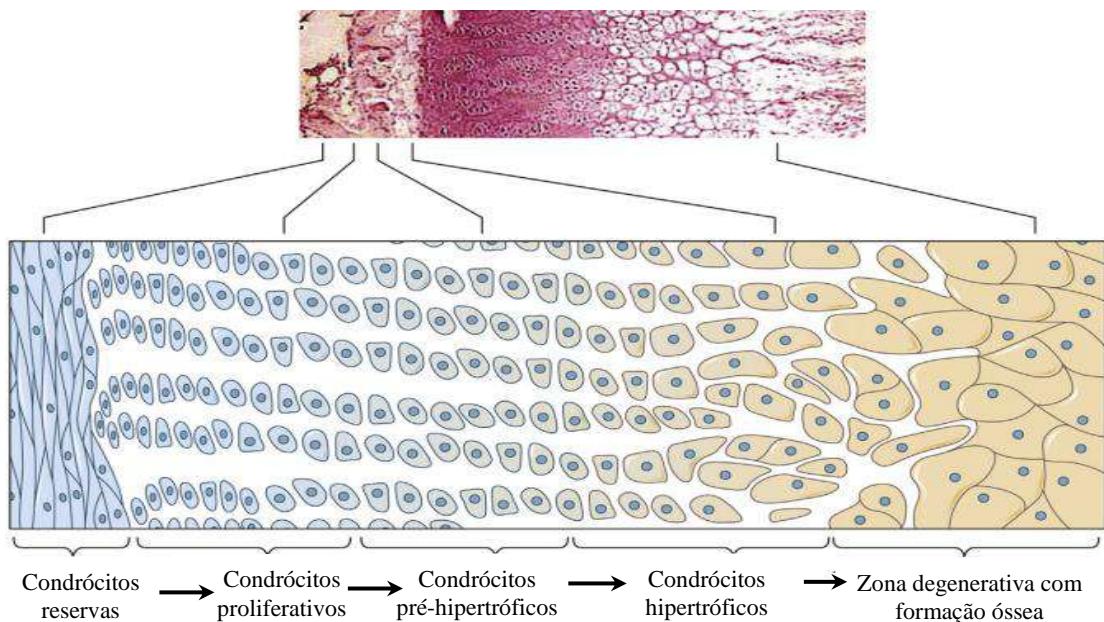
4. Crescimento e remodelação pré e pós-eclosão

O processo de crescimento, modelação e remodelação óssea ocorre durante toda a vida. Se iniciam durante o desenvolvimento embrionário, mas se acentuam no período pós-nascimento (Yalçin *et al.*, 2007; Clarke, 2008).

De acordo com Whitehead (2004), dois processos provocam o crescimento ósseo: o crescimento intersticial (longitudinal/comprimento) e o crescimento aposicional (radial/largura/espessura/diâmetro). O crescimento longitudinal dos ossos longos ocorre por ossificação endocondral através da expansão das epífises proximal e distal, na placa de crescimento. Enquanto o crescimento radial ocorre na diáfise óssea através da ossificação intramembranosa (Torres e Korver, 2018).

A placa de crescimento, ou também chamada de placa/disco epifisário dos ossos longos, pode ser dividida em cinco zonas: zona germinativa ou reserva, zona proliferativa, zona pré-hipertrófica, zona hipertrófica e zona degenerativa com formação óssea (Figura 3). Ou seja, os condrócitos vão passando por um processo de maturação ordenado à medida que vão progredindo linearmente das extremidades articulares (epífises) até a diáfise do osso (Pines e Hurwitz, 1990; Van Der Eerden *et al.*, 2003; Long e Ornitz, 2013).

Figura 3 – Diagrama demonstrando a organização das zonas da placa de crescimento, local onde os condrócitos se dividem, aumentam de tamanho, morrem e são substituídos por osteócitos.



Fonte: modificado de Pines e Reshef (2015)

O processo de crescimento se inicia com divisão das células mesenquimais no topo de cada coluna para produzir os condrócitos da zona reserva. Na zona de reserva, eles ainda são pequenos, com formato quase esféricos, relativamente inativos. Embora partes desta zona sejam mitoticamente inertes, outras funcionam como fontes de células-tronco. Eventualmente, esses condrócitos se tornam discoides e são organizados em colunas bastante regulares formando assim a zona de proliferação (Pines e Hurwitz, 1990; Karaplis, 2002; Berendsen e Olsen, 2015). À medida que se multiplicam na zona proliferativa, os condrócitos vão passando de morfologia redonda para morfologia achatada compactada, formando colunas paralelas dispostas em matriz extracelular secretada contendo alto teor de colágeno tipo II. A formação da coluna se deve em parte à divisão característica dos condrócitos, pois seu eixo mitótico é perpendicular ao longo do eixo do osso. Após isso, começam a se diferenciar em um estado pré-hipertrófico ou de maturação. Na zona pré-hipertrófica os condrócitos deixam de se dividirem mitoticamente e começam a aumentar de tamanho. Com o amadurecimento da diferenciação, ficam mais arredondados, aumentam ainda mais de tamanho, se tornando hipertrófios e caracterizando a nova zona, a de hipertrófia. Nela, eles secretam uma matriz rica em colágeno tipo X, proteoglicanos e fatores de crescimento, e ainda condiz com um aumento intracelular de cálcio, que ajuda na produção das vesículas. Nessa

fase, os condrócitos secretam a FA, a qual ajuda a iniciar a formação dos cristais de hidroxiapatita (Karaplis, 2002; Whitehead, 2004; Berendsen e Olsen, 2015). Na zona hipertrófica, a matriz cartilaginosa começa a ser degradada, pois os condrócitos hipertróficos sofrem apoptose, liberando as vesículas e expressando os fatores angiogênicos. As lacunas deixadas pelos condrócitos mortos permitem a invasão vascular, trazendo os osteoblastos, que depositam o osteóide e formam o tecido ósseo. Essa apoptose é regulada principalmente pelos elevados níveis de cálcio intracelular que ativam enzimas e outras substâncias promotoras. Acredita-se também que essas células sobrevivem e se diferenciam em osteoblastos. Apesar disso, os mecanismos causadores dessa apoptose permanecem incertos, mas sabe-se que ela não ocorre se a formação óssea estiver prejudicada por algum motivo (Olsen *et al.*, 2000; Karaplis, 2002; Van Der Eerden *et al.*, 2003; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Pizauro Junior *et al.*, 2017a).

À medida que o osso se alonga devido a esse processo, os osteoclastos reabsorvem o tecido ósseo e o substituem por osso trabecular para formar a cavidade medular. Com a invasão vascular, células hematopoiéticas e estromais geram a medula óssea (Whitehead, 2004; Lefebvre e Bhattaram, 2010). Esse processo perdura durante a vida pós-eclosão e, com a idade, a placa de crescimento vai ficando mais fina, chegando à fusão dos centros primários e secundários, causando a ossificação por completa. Geralmente isso ocorre na maturação sexual, que nas aves é por volta das 24 semanas. Porém, como frangos de corte são abatidos, em média, aos 42 dias de idade, o desenvolvimento completo não ocorre (Yalçin *et al.*, 2007; Crespo e Shivaprasad, 2008; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Berendsen e Olsen, 2015).

O osso cortical tem, além do periôsteo como superfície de revestimento externo, o endôsteo, que é a superfície interna. O crescimento em largura/espessura/diâmetro normalmente acontece com o envelhecimento, em resposta à aposição periosteal do osso novo e à reabsorção endosteal do osso antigo (Marks e Odgren, 2002). Como se sabe, os osteoblastos se desenvolvem no pericôndrio e produzem espículas ósseas que se fundem para produzir a rede óssea. Enquanto isso, na superfície endosteal, os osteoclastos reabsorvem osso de modo que ele se alarga como um anel em expansão. Assim, novos ósteons são formados, dando origem a novas camadas concêntricas de osso lamelar (Whitehead, 2004). Normalmente, a deposição é maior do que a remodelação, no entanto, como descrito por Yair *et al.* (2012), em aves de crescimento rápido esse processo pode ser alterado, fazendo com que a remodelação seja mais rápida, originando ossos menos mineralizados.

Entre os dias 14 e 19 de incubação, esses ossos chegam a dobrar de comprimento, espessura e quantidade de minerais presentes (Bellairs e Osmond, 2005; Angel, 2017).

Ao longo do tempo o osso precisa preservar a sua resistência mecânica, substituindo o osso mais velho e microdanificado (realizado pelos osteoclastos), por um osso mais novo e saudável (realizado pelos osteoblastos), o que é chamado de remodelação óssea. Além disso, também é responsável pela homeostase do cálcio e do fósforo no organismo. Esse processo começa antes do nascimento e continua por toda a vida do indivíduo (Väänänen e Zhao, 2002).

Como citado por Clarke (2008), de acordo com a lei de Wolff, os ossos longos mudam com o tempo de forma a acomodar as tensões colocadas sobre eles. Por isso, durante todo o período de crescimento, os ossos da perna de frangos de corte sofrem adaptações e modificações de suas propriedades morfológicas (por exemplo, peso, comprimento, espessura e índice de robustez), biofísicas (por exemplo, volume, conteúdo e densidade mineral) e mecânicas (por exemplo, resistência, rigidez, força para fratura e de elasticidade), com o intuito de resistir aos efeitos do rápido aumento de peso corporal. Todas essas características, inclusive, determinam a qualidade óssea (Yair *et al.*, 2012; Güz, 2022).

5. Minerais envolvidos

Como relatado por Yair e Uni (2011), a casca do ovo é a principal fonte de Ca para o embrião de ave, podendo também ser encontrado o Mg; e o saco vitelino é a fonte destacada de P, Zn, Cu, Mn e Fe; e do albúmen se absorve principalmente Na e K. A transferência desses oligoelementos da matriz para o ovo pode ocorrer por duas rotas: do ovário para a gema; e do oviduto para o albúmen, membranas da casca e casca. Em geral, a maior porção de oligoelementos é depositada na gema, enquanto quantidades muito menores são depositadas no albúmen. Por isso, a transferência ovariana é claramente uma via importante para abastecer o ovo com reservas desses nutrientes essenciais (Richards, 1997). Vale destacar a importância da nutrição correta da matriz para repassar os minerais para a progénie (Dibner, 2005; Halgrain *et al.*, 2022).

A partir do oitavo dia de incubação, o CO₂ juntamente com a enzima anidrase carbônica promovem uma acidez permitindo a dissolução da casca e a transferência de Ca para a circulação do embrião através da membrana corioalantoide (MCA) (Richards, 1997; Barbosa, 2011; Halgrain *et al.*, 2022). Essa mobilização é auxiliada pela vitamina

D₃, que leva o Ca para a gema, e só então é absorvido pelo embrião através da membrana vitelínica. Na última semana, esse mineral é bastante notável no plasma e na gema, enquanto diminui na casca, facilitando a eclosão do embrião (Tuan *et al.*, 1987), ao mesmo tempo em que ocorre o pico de mineralização óssea nessa fase (Yair *et al.*, 2012). Halgrain *et al.* (2022) utilizaram coloração azul Alcian e vermelho Alizarin em embriões de frangos de corte, demonstrando que os ossos longos já se apresentavam parcialmente mineralizados no 12º dia de incubação. Apesar de a quantidade de Ca disponível ser o suficiente até mesmo para o período pós-eclosão, devido ao seu acúmulo na gema residual, com o P isso não acontece. A sua quantidade na gema não é o suficiente, devendo a dieta suprir essa necessidade para o esqueleto de rápido crescimento e mineralização (Dibner, 2005; Angel, 2017).

O cálcio e o fósforo são um dos constituintes plasmáticos mais importantes em aves e mamíferos, sendo essenciais para o desenvolvimento e mineralização óssea. Aproximadamente 99% do Ca e 80% do fósforo total do organismo estão no tecido ósseo na forma de hidroxiapatita, e o restante intracelular e extracelular (Patterson *et al.*, 2005; De Matos, 2008; Veum, 2010; Matuszewski *et al.* 2020). O osso está sujeito a constantes mudanças nos níveis de Ca e P, que são liberados através da reabsorção na corrente sanguínea e em outros locais do corpo, como nos tecidos moles. Isso é muito importante para animais altamente produtivos, nos quais a demanda é maior do que em outros animais (Matuszewski *et al.* 2020). A deficiência dietética desses minerais pode dificultar a formação óssea e prejudicar a obtenção do pico de massa óssea (Zhang *et al.*, 2019).

O cálcio se apresenta em três frações no fluido extracelular: Ca ionizado, considerada a fração fisiologicamente ativa, que desempenha o papel na homeostase óssea (através do Ca do esqueleto e do periósteo), na regulação da permeabilidade das membranas, na condução muscular e nervosa, na coagulação sanguínea, na secreção de hormônios e regulação de enzimas; a fração de Ca ligado a proteínas (como albumina), considerada fisiologicamente inativa; e a fração Ca complexado, ligado a uma variedade de ânions (fosfato, citrato e bicarbonato) (Stanford, 2006; Matuszewski *et al.* 2020).

Além do seu papel já conhecido no desenvolvimento do esqueleto, o fósforo é essencial na formação de compostos orgânicos envolvidos no metabolismo de carboidratos, lipídeos e aminoácidos. Está envolvido na composição de ácidos nucleicos; no armazenamento e transporte de energia, na forma de compostos fosforilados e de alta energia; no transporte de ácidos graxos e outros lipídios; no

metabolismo do tecido nervoso; na composição dos fosfolipídeos da membrana celular; e é essencial para a bioquímica normal do sangue (Patterson *et al.*, 2005; Veum, 2010; Pizauro Junior *et al.*, 2017b; Matuszewski *et al.* 2020). Ele é absorvido nos tecidos, principalmente, na forma de fosfato (Rodehutscord, 2013).

O zinco é um micronutriente que desempenha inúmeras funções na formação, mineralização, metabolismo, bem como no funcionamento do sistema esquelético. Ele desempenha não apenas funções catalíticas ou reguladoras, mas também estruturais. Apesar desse conhecimento, a sua ação no tecido ainda não está totalmente esclarecida. Dentre o que já se sabe, o Zn atua como cofator de várias enzimas, como fosfatase alcalina e colagenase, estimulando assim a diferenciação de condróцитos na placa de crescimento e a produção de colágeno, respectivamente; afeta positivamente a proliferação e diferenciação de osteoblastos, protegendo-os da apoptose desencadeada por estresses oxidativos; desempenha papel fisiológico importante cooperando com o hormônio do crescimento e fatores de crescimento IGF-1; e inibe ou regula vias de reabsorção óssea pelos osteoclastos. Portanto, a deficiência de zinco está associada a muitos tipos de anormalidades esqueléticas no desenvolvimento pré e pós-embriônário (Yamaguchi, 1998; Dibner, 2005; Naz *et al.*, 2016; O'Connor *et al.*, 2020; Molenda e Kolmas, 2023).

O cobre também é um oligoelemento indispensável para a formação e manutenção dos ossos, assim como para a integridade do tecido conjuntivo. Já foi demonstrado que a sua deficiência causa desenvolvimento retardado, anormalidades ou fraturas ósseas em embriões ou aves recém-nascidas, a exemplo de hipoplasia de ossos longos, ataxia e paralisia espástica. A cartilagem epifisária se apresenta espessa e a penetração vascular é reduzida. A justificativa para isso é que uma das enzimas que participa da formação das fibrilas de colágeno (lisil oxidase) é dependente desse mineral. Sabe-se que ligações cruzadas de colágeno fornecem resistência ao osso (Dollwet e Sorenson, 1988; Dibner, 2005; Dibner *et al.*, 2007; Mir *et al.*, 2007; Palacios, 2006; Leeson, 2009; Mroczeck-Sosnowska *et al.*, 2017). O cobre também é componente da hemoglobina e outras proteínas do sangue, como a eritrocupreína, encontrada nos eritrócitos, envolvida no metabolismo do oxigênio. Além disso, tem impacto sobre sistemas enzimáticos que o dependem como cofator, como é o caso das monoamina oxidases, envolvidas na formação da cartilagem (Leeson, 2009).

O manganês é necessário para a síntese de mucopolissacarídeos e está envolvido na formação de proteoglicanos, logo é importante para a matriz extracelular dos ossos;

sua deficiência causa diminuição significativa de FA no tecido ósseo, resultando em perose nas aves; acarreta também na diminuição de condroitina sulfato, componente da cartilagem hialina dos ossos; e causa alterações no metabolismo do IGF-1, afetando assim o crescimento dos ossos (Leach, 1976; Palacios, 2006; Pizauro Junior *et al.*, 2017b).

O magnésio, por sua vez, não é um elemento nutricional muito investigado, provavelmente porque os alimentos comuns contêm níveis suficientes que suprem as necessidades das aves (Suttle, 2010). Porém, Shastak e Rodehutscord (2015) abordaram em uma revisão de literatura, os efeitos da deficiência do Mg no organismo das aves, que vai desde alterações bioquímicas a sintomáticas, como: baixo crescimento e empenamento; baixo tônus muscular; incoordenação, tremores e convulsão. No tecido ósseo, sabe-se que ele regula a função e diferenciação dos osteoblastos e osteócitos, bem como dos osteoclastos. Além disso, receptores sensíveis ao cálcio, que regulam a secreção do hormônio da paratireóide (PTH), requerem Mg para sua ação, e por isso a sua deficiência reforça hipocalcemia. Por esse motivo, a osteoporose pode estar associada a depleção do Mg. O metabolismo do Mg está ligado ao Ca e P, e quando fornecido em altas quantidades perturba o equilíbrio entre esses minerais, prejudicando a formação óssea ideal (Rude *et al.*, 1998; Martini, 1999; Morii, 2007; Shastak e Rodehutscord, 2015).

Resumidamente, o embrião inicia a mineralização óssea a partir da segunda semana de incubação e utiliza os minerais oriundos da casca (Ca e Mg), albúmen (Na e K) e gema (P, Zn, Cu, Mn e Fe) do ovo para esse processo. Em condições normais, esses minerais são mobilizados através da MCA, transportados até a gema e absorvidos pela circulação do embrião por meio da membrana do saco vitelino. A partir disso, são convertidos em cristais de hidroxiapatita e depositados no osso. Além dessa função, muitos dos minerais citados têm papel de compor determinadas enzimas importantes para a ossificação, como a FA, e de participar da estrutura molecular e do metabolismo como um todo. No entanto, caso haja alterações nos fatores físicos da incubação, principalmente na temperatura, todo esse processo pré-eclosão pode ser comprometido, afetando a formação do tecido ósseo e a continuidade do seu desenvolvimento no período pós-eclosão. Para avaliar essa questão, as pesquisas realizam análises sanguíneas, em que os minerais comumente investigados são o Ca e o P, além da enzima FA. Na Tabela 1 são apresentados alguns valores de referência encontrados na literatura desses parâmetros sanguíneos em frangos de corte com 42 dias de idade.

6. Hormônios envolvidos

De acordo com Rath et al. (2000) e Dibne et al. (2007), uma das causas de anormalidades no desenvolvimento ósseo é o desequilíbrio (excesso ou deficiência) de hormônios específicos. Todos têm efeitos profundos no metabolismo, no crescimento e na remodelação óssea.

Dentre eles, o GH é o hormônio que mais se destaca com relação à importância para o crescimento ósseo longitudinal pós-natal (Ohlsson *et al.*, 1998). Após o hipotálamo produzir o hormônio liberador de tireotropina (TRH) e o fator liberador de hormônio de crescimento (GRF), a hipófise é estimulada a secretá-lo. Ao mesmo tempo, a somatostatina, também produzida e liberada pelo hipotálamo, inibe a sua secreção pela hipófise. Por isso, é possível que alguns dos efeitos do GH no crescimento possam ser mediados por alterações induzidas na concentração dos hormônios tireoidianos (Scanes e Harvey, 1984; Shao *et al.*, 2007). O GH atua no crescimento estimulando a síntese hepática de um fator intermediário, a somatomedina C, ou comumente chamada de fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I). Ambos estimulam condrócitos em diferentes estágios de maturação na placa de crescimento. O GH estimula condrócitos jovens, ou seja, aqueles na zona de repouso, enquanto o IGF-1 estimula as células em estágio de posterior maturação, na zona de proliferação (Robson *et al.*, 2002; Van Der Eerden *et al.*, 2003; Scanes, 2009). Além disso, o GH e o IGF-I estimulam a proliferação de osteoblastos, o que também contribui para o crescimento ósseo (Pines e Hurwitz, 1990; Ohlsson *et al.*, 1998; Van Der Eerden *et al.*, 2003).

A concentração plasmática de GH varia durante o crescimento e desenvolvimento; é alto no estágio inicial de crescimento rápido pós-nascimento e baixo nos últimos estágios de crescimento (Scanes e Harvey, 1984). No desenvolvimento embrionário das aves, Scanes (1997) apontou que o GH surge a partir do 9º dia de incubação, com pico aos 15. Posteriormente, outros autores abordaram que o início da produção ocorre entre os dias 12 a 14 (Zheng *et al.*, 2006), com um aumento significativo a partir do dia 16 (Wang *et al.*, 2006). Foi relatado que a ausência de GH prejudica o desenvolvimento normal de aves jovens, sendo ele um pré-requisito para esse processo, já que quando hipofisectomizadas (remoção cirúrgica da hipófise) ou imunoneutralizadas, elas têm a taxa de crescimento afetada, tanto o ganho de peso quanto do tecido esquelético. Por outro lado, quando submetidas a uma terapia de reposição hormonal, o problema consegue ser restaurado (Scanes *et al.*, 1977; Decuypere e Buyse, 2005; Harvey, 2013).

Também já foi demonstrado os efeitos da injeção *in ovo* de GH (Kocamis *et al.*, 1999) e IGF-I (Kocamis *et al.*, 1999; 2000) sobre o desenvolvimento de ossos longos de frangos com 42 dias de idade. Quando o GH foi aplicado nos dias 11 e 16 de incubação, houve aumento da área transversal da tíbia em frangos fêmeas, além de não alterar a porcentagem de cinzas, densidade, peso, comprimento, espessura do osso cortical e força de ruptura da tíbia em qualquer dia de aplicação. O IGF-I quando injetado entre os dias 1 a 4 de incubação, promoveu nos frangos maior peso das pernas e os fêmures tenderam a ter uma menor carga de fratura em relação ao aumento do peso corporal, constatando que houve melhoria no desenvolvimento do tecido ósseo.

Segundo Gouveia *et al.* (2018), os hormônios tireoidianos (HT) também desempenham diversos efeitos no desenvolvimento, crescimento e metabolismo do esqueleto. A glândula tireoide aviária é controlada principalmente pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (HHT), portanto, como abordado anteriormente, o hipotálamo secreta o TRH e a somatostatina, estimulando e inibindo a hipófise, respectivamente. Com isso, a hipófise anterior estimulada, secreta o hormônio tireoestimulante (TSH), que é o principal controlador da síntese e liberação dos HT pela tireoide. Da mesma forma, o *feedback* negativo é exercido pelos HT na hipófise e no hipotálamo (McNabb, 2000; Ha-Young e Subburaman, 2013; Wojcicka *et al.*, 2013). Os HT são aminoácidos tirosina contendo iodo, sendo a tiroxina (T₄) composta por quatro iodos e a triiodotironina (T₃), formada por três iodos. Apesar de uma pequena quantidade de T₃ ser produzida diretamente pela tireoide, a maioria resulta da desiodação de T₄ em T₃ ativo, pela enzima iodo-tironina deiodinase (Glass e Holloway, 1990; Okubo e Hari Reddi, 2003; Gogakos *et al.*, 2010; Ha-Young e Subburaman, 2013). Ambos têm papel na regulação da taxa metabólica basal, do metabolismo intermediário, no consumo de oxigênio e são essenciais para a manutenção da temperatura corporal (Glass e Holloway, 1990; Darras *et al.*, 2000).

De acordo com Christensen *et al.* (2005), os HT têm importância significativa no crescimento embrionário das aves, assim como na maturação dos órgãos no período tardio da incubação. Além disso, Piestun *et al.* (2009) apontaram que o T₄ e T₃ aumentam à medida que o embrião se desenvolve, atingindo um pico aos 18 dias de incubação até a bicagem interna. Isso sugere que eles suplementam demandas energéticas durante o período crítico do embrião. Acredita-se que as matrizes depositam os HT na gema do ovo, disponibilizando-os para o embrião antes mesmo da tireoide embrionária estar ativa, o que contribui para um desenvolvimento prévio. Dessa forma,

o T₄ é detectável no plasma aos 6,5 dias de incubação (Mcnabb e Wilson, 1997). Após o período peri-eclosão, com alguns dias de idade, o T₄ e o T₃ circulantes diminuem acentuadamente e depois aumentam moderadamente para atingir os níveis adultos. As concentrações plasmáticas de HT em aves juvenis e adultas são caracteristicamente mais baixas do que aquelas do pico peri-eclosão (Mcnabb, 2007).

Também há muitas evidências de que os HT são necessários para o desenvolvimento, diferenciação e modulação dos ossos (Scanes e Harvey, 1984; Stern, 2002; Ha-Young e Subburaman, 2013), embora a sua deficiência afete minimamente o desenvolvimento ósseo do embrião nas fases inicial e intermediária de incubação (até dia 16,5), sendo eles significativamente relevantes para essa função no período pós-natal (Capelo *et al.*, 2008). Eles estimulam a expansão de células progenitoras de condrócitos na zona de reserva; desencadeiam a diferenciação da cartilagem na placa de crescimento, estimulando a hipertrofia de condrócitos e posterior apoptose; estimulam a distribuição normal dos componentes da matriz extracelular; induzem a organização dessas células em um padrão colunar; estimulam a diferenciação de osteoblastos, e a expressão e atividade da FA; e induzem a reabsorção óssea de forma indireta, através de mecanismos mediadores (Wakita *et al.*, 1998; Mcnabb, 2000; Okubo e Hari Reddi, 2003; Shao *et al.*, 2006; Gogakos *et al.*, 2010; Wojcicka *et al.*, 2013; Gouveia *et al.*, 2018). Dessa forma, a deficiência desses hormônios resulta em atraso tanto da ossificação endocondral, pois altera a placa de crescimento (menor espessura; colunas desorganizadas; compromete diferenciação), quanto da intramembranosa, por não promover a osteoblastogênese (Gouveia *et al.*, 2018). Já o excesso, em adultos, pode resultar em aumento do número e atividade de osteoclastos, levando à perda óssea (Shao *et al.*, 2006; Gogakos *et al.*, 2010; Wojcicka *et al.*, 2013); em jovens, o fechamento prematuro da placa de crescimento; e em embriões, o aparecimento precoce de centros de ossificação (Van Der Eerden *et. al.*, 2003).

Os HT também parecem atuar de forma permissiva ou indireta com outros hormônios do eixo do crescimento, como o GH, IGFs, glicocorticoides e sexuais (Van Der Eerden *et. al.*, 2003; Mcnabb, 2000; 2007; Gouveia *et al.*, 2018). Os HT modulam a produção e liberação do GH pela hipófise, além de estimularem a produção do IGF-1 no fígado. Juntos promovem a proliferação celular pós-natal. O GH também influencia a fisiologia da tireoide por seus efeitos nas vias de desiodação (Wakita *et al.*, 1998; Mcnabb, 2000), controlando a atividade/expressão da iodoftironina deiodinase no fígado (Scanes, 2009). Entretanto, Gouveia *et al.* (2018) destacaram que os HT são

dependentes e independentes do eixo GH/IGF-1 para regular o crescimento ósseo. Os HT são cruciais para a organização colunar e diferenciação terminal dos condrócitos, porém o eixo é essencial para o alongamento ósseo induzindo principalmente a proliferação dessas células. Assim, a interação complexa HT-GH/IGF-1 é necessária para o crescimento ósseo linear completo.

Outro hormônio que também influencia a fisiologia da cartilagem e dos ossos, particularmente no embrião, é a insulina. Isto pode ser sugerido com base em seus efeitos anabólicos e semelhanças químicas com as somatomedinas (Scanes e Harvey, 1984; Verhaeghe e Bouillon, 2002). Nas aves, a sua síntese se inicia por volta do terceiro a quarto dia de incubação (Hamburguer e Hamilton, 1951), sendo ela secretada pelas células β -pancreáticas em resposta ao aumento da glicemia sanguínea, promovendo glicólise, síntese de glicogênio e captação de aminoácidos. Ao mesmo tempo, suprime processos que liberam energia armazenada, inibindo a lipólise, cetogênese, glicogenólise, proteólise e gliconeogênese, sendo assim considerada um regulador central da homeostase energética (Fulzele e Clemens, 2012). Os osteoblastos expressam receptores de insulina, permitindo a ligação desse hormônio à célula, estimulando efeitos anabólicos, como: diferenciação e crescimento da placa epifisária; síntese de colágeno; produção de FA; captação de glicose para energia; e síntese de proteínas da matriz, a exemplo da osteocalcina, que também se caracteriza como um hormônio capaz de estimular a proliferação de células β -pancreáticas, tornando o metabolismo da glicose mais eficiente (Pun *et al.*, 1989; Verhaeghe e Bouillon, 2002; Lu *et al.*, 2003; Fulzele e Clemens, 2012; Klein, 2014). Dessa forma, a hiperglicemia provoca o comprometimento tanto da ossificação intramembranosa quanto endocondral, demonstrada pela quantidade reduzida de células mesenquimais diferenciadas; consequentemente há a diminuição da formação de osteóides e da aposição mineral óssea (Lu *et al.*, 2003; Gandhi *et al.*, 2005; Retzepi e Donos, 2010; Saito *et al.*, 2014; Jiao *et al.*, 2015; Cignachi *et al.*, 2020).

Quanto aos hormônios sexuais, estrogênio e testosterona, além de contribuírem para o dimorfismo sexual, também estão ligados ao crescimento longitudinal, remodelação e homeostase do esqueleto em humanos e animais, principalmente durante o período de maturidade sexual (Rickard *et al.*, 2002; Van Der Eerden *et al.*, 2003; Almeida *et al.*, 2017; Noirrit-Esclassan *et al.*, 2021). Nos embriões de aves, o estrogênio começa a ser produzido a partir do quarto dia de incubação. A partir do 6,5º dia inicia-se a diferenciação sexual e a produção de testosterona nos machos (Hamburguer e

Hamilton, 1951; Barbosa, 2011). Em humanos jovens, mais particularmente no início da puberdade, níveis mais baixos desses hormônios sexuais estimulam a liberação do GH-IGF-1, causando o chamado surto de crescimento. No final dessa fase, os níveis mais elevados de estrogênio interrompem o crescimento longitudinal estimulando o fechamento das placas epifisárias, sendo este um efeito nos condrócitos em proliferação (Van Der Eerden *et al.*, 2003; Almeida *et al.*, 2017; Khosla e Monroe, 2017). Na fase adulta, eles têm efeitos específicos em nível de órgão, tecido e célula do osso. Em nível de órgão, eles ajudam a conservar a massa óssea; em nível tecidual, diminuem a renovação e mantém o equilíbrio entre reabsorção e formação de osso; e em nível celular, controlam a geração, tempo e atividade de osteoclastos e osteoblastos (Riggs *et al.*, 2002). Basicamente, a reabsorção por parte dos osteoclastos é diminuída nas superfícies trabeculares e endocorticais, o que resulta em menor diferenciação e maior apoptose dessas células. Enquanto a apoptose de osteoblastos e osteócitos é atenuada (Rickard *et al.*, 2002; Almeida *et al.*, 2017). Normalmente, a testosterona estimula o crescimento periosteal, o que contribui para que machos tenham ossos maiores. Enquanto o estrogênio inibe esse aumento periosteal, mantendo a massa e estrutura óssea (Riggs *et al.*, 2002; Ferlin *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2017; Noirrit-Esclassan *et al.*, 2021). No caso dos frangos de corte, como são aves geneticamente produzidas para serem abatidas por volta das seis semanas de idade, a maturidade sexual não consegue ser atingida, e por isso os hormônios sexuais se apresentam muito baixos.

Os hormônios glicocorticoides (GC) são secretados após a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Hartmann *et al.*, 2016). Nos embriões de aves a sua síntese se inicia no quinto dia de incubação, com aumento da produção a partir do 13º dia, que é quando esse eixo se estabelece (Hamburguer e Hamilton, 1951). Basicamente, o hipotálamo libera o fator liberador de corticotropina (CRF), o qual induz a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise anterior, que desencadeia a secreção dos corticosteróides pelo córtex da adrenal (glândulas suprarrenais). Essa secreção é regulada por mecanismos de *feedback* negativo, permitindo um controle desses hormônios no organismo, assim como uma regulação de fonte energética (glicose) em situações necessárias. Portanto, são considerados mediadores da resposta ao estresse e do ritmo circadiano, e também influenciam a homeostase de todo o corpo, modulando resposta imunológica, funções cerebrais e a integridade dos tecidos, incluindo o tecido ósseo (Hartmann *et al.*, 2016). Quando em altas quantidades no organismo, por exemplo, em situações de estresse crônico, os GC promovem o

prolongamento da sobrevivência dos osteoclastos, fazendo com que haja um aumento desenfreado da reabsorção óssea. Junto a isso, esses hormônios inibem a diferenciação e a função dos osteoblastos, pois reprimem fatores genéticos essenciais para a formação normal dessas células, contribuindo inclusive para o aumento da apoptose, tanto de osteoblastos quanto de osteócitos. Consequentemente, a reposição óssea não é realizada e a qualidade do tecido se torna prejudicada. Além disso, os GC deprimem a síntese da matriz óssea extracelular, como colágeno tipo I e osteocalcina (Kream e Lukert, 2002; Robson *et al.*, 2002; Hofbauer e Rauner, 2009; Lakatos *et al.*, 2019). Na placa de crescimento, a proliferação e diferenciação condrogênica também é severamente afetada pelo aumento dos GC, o que afeta a maturação correta dessas células, além de promoverem menor penetração de vasos sanguíneos na zona hipertrófica (Scanes e Harvey, 1984). Portanto, é provável que a redução na taxa de crescimento observada em aves expostas a condições estressantes seja devido ao aumento desses hormônios endógenos, principalmente corticosterona (Scanes e Harvey, 1984). Kalliecharan e Hall (1976) já demonstraram que na incubação, após o dia 19, os níveis séricos de corticosterona no embrião aumentam quando comparados ao início da segunda semana, sendo esta uma resposta significativa ao estresse da fase crítica da eclosão.

Segundo Van Der Eerden *et al.* (2003), os GC prejudicam o desenvolvimento ósseo não só pelos seus efeitos diretos, mas também por interferirem em outras vias moduladoras do crescimento. Quando em altos níveis no sangue, eles diminuem a secreção de GH-IGF-1, por aumentarem a síntese de somatostatina. Além disso, têm efeitos nas gônadas, inibindo a produção de estrogênio/testosterona; altera os sistemas de transporte de membrana e consequentemente reduzem a absorção de cálcio e a reabsorção de cálcio e fósforo no trato gastrointestinal e no rim, respectivamente; afeta o metabolismo da vitamina D₃, ocorrendo um aumento agudo da sua síntese devido aos níveis desbalanceados de cálcio e fósforo; e são capazes de modular os níveis de hormônios tireoidianos (Scanes e Harvey, 1984; Kream e Lukert, 2002; Robson *et al.*, 2002; Van Der Eerden *et al.*, 2003).

A homeostase do Ca e P é mantida por mecanismos de *feedback* regulados pelas concentrações plasmáticas desses minerais, que desencadeiam a liberação de hormônios que afetam a absorção intestinal, a aposição ou reabsorção óssea e a excreção renal de Ca²⁺ e P. Esses hormônios são o paratormônio (PTH) e a calcitonina (Veum, 2010; Matuszewski *et al.*, 2020). O PTH é produzido e secretado pelas glândulas paratireoides, as quais possuem receptores celulares específicos que detectam episódios

de hipocalcemia (baixos níveis de cálcio no plasma). Com isso, esse hormônio se liga a receptores de células-alvo nos ossos, cartilagens e rins, e também tem efeitos indiretos sobre o intestino através da vitamina D₃ (Pizauro Junior *et al.*, 2017b; Matuszewski *et al.*, 2020). Dessa forma, o PTH eleva o cálcio plasmático de três formas: aumentando a reabsorção desse mineral nos túbulos renais, diminuindo a perda urinária; elevando a reabsorção óssea, pois se liga aos osteoclastos que liberam Ca do tecido ósseo; e acelerando a formação de vitamina D₃ ativa nos rins, através da estimulação da secreção da enzima 1 α -hidroxilase renal, o que irá promover a absorção intestinal de Ca e P (Shanmugasundaram e SelVaraj, 2012; Hartmann *et al.*, 2016; Tinawi, 2021). Nos embriões de aves, a secreção de paratormônio se inicia no 10º dia de incubação (Hamburguer e Hamilton, 1951). A calcitonina, por sua vez, expressa ação antagonista ao PTH, ou seja, em situação de aumento plasmático de Ca (hipercalcemia), ela é produzida e secretada pelas células parafoliculares da glândula ultimobranquial nas aves (nos mamíferos é pela glândula tireóide), regulando assim os níveis (Kenny, 1986; Stanford, 2006; De Matos, 2008; Pizauro Junior *et al.*, 2017b). Ela age impedindo a reabsorção de cálcio nos ossos, diminuindo a absorção pelo intestino e aumentando a excreção pelos rins (Pizauro Junior *et al.*, 2017b). Nas aves, a secreção de calcitonina é evidente já no final do período da incubação, após o 18º dia (Bellairs e Osmond, 2005).

A vitamina D foi caracterizada, como dito pelo próprio nome, como uma vitamina, porém atualmente ela também é reconhecida como um hormônio esteroide, em resposta às necessidades de cálcio e fósforo. Existem duas formas principais de vitamina D: a vitamina D₂ (ergocalciferol) e a vitamina D₃ (colecalciferol), sendo estas sintetizadas pela pele após exposição à luz solar ou adquiridas através da dieta. Ao contrário dos mamíferos, onde as duas formas são equivalentes em atividade biológica, muitas espécies de aves respondem de forma mais eficiente à vitamina D₃ (De Matos, 2008; Henry, 2011; Gil *et al.*, 2018). Está bem estabelecido que ela, depois de adentrar a corrente sanguínea após ser adquirida na alimentação ou luz solar, sofre duas conversões biológicas: a primeira no fígado, onde ocorre a hidroxilação através da enzima 25-hidroxilase e assim se tornando 25-hidroxivitamina D₃ (25OHD₃); e a segunda no rim, para se tornar seu metabólito biologicamente ativo, a 1,25-di-hidroxivitamina D₃ (1,25OHD₃), a partir da catalização pela enzima 1 α -hidroxilase (De Matos, 2008; Shanmugasundaram e Selvaraj, 2012; Chen *et al.*, 2021). Essa síntese de 1,25OHD₃ é fortemente regulada pelo PTH, já que, como mencionado anteriormente, ele estimula a secreção da enzima 1 α -hidroxilase renal. Com isso, em estado

hipocalcêmico, a 1,25OHD₃ promove o aumento da absorção de Ca e P no intestino, a diminuição da excreção renal e o aumento da reabsorção tubular desses minerais (Soares Junior, 1984; Palacios, 2006; De Matos, 2008). Para essa absorção, ela também induz a formação da proteína transportadora calbindina, que reflete a capacidade do intestino de absorver Ca (Dacke, 2000; Stanford, 2006). Além disso, a 1,25OHD₃, junto ao PTH, estimulam a reabsorção óssea pelos osteoclastos, promovendo a liberação de Ca no sangue (Bushinsky e Monk, 1998). Ela também promove a formação óssea através da diferenciação de osteoblastos, estimula a expressão osteoblástica da FA específica do osso, e influencia a proliferação e apoptose de condrócitos hipertróficos na placa epifisária (Clarke, 2008).

Chen *et al.* (2020) demonstraram que aves poedeiras suplementadas com 25OHD₃, apresentaram a longo prazo maior deposição mineral nos ossos e consequentemente maior resistência à fratura, ou seja, ela estimula o crescimento ósseo, melhora a integridade estrutural e previne a osteoporose. Zhang *et al.* (2019) também suplementaram dieteticamente frangos de corte com 25OHD₃ e os resultados foram maior concentração de colágeno nas tíbias e fêmures. Whitehead *et al.* (2004) detectaram que altas concentrações de vitamina D₃ na dieta de frangos podem prevenir a discondroplasia tibial. Dessa forma, a vitamina D é um nutriente crítico para a saúde óssea ideal. Uma deficiência pode levar à falha na absorção e transporte de minerais, e consequentemente na mineralização dos ossos, causando crescimento retardado, fraqueza nas pernas, raquitismo ou outras doenças ósseas (Oviedo-Rondón *et al.*, 2006; Palacios, 2006; Wideman *et al.*, 2015).

Como dito por Dacke (2000), a gema é fonte rica de vitamina D₃, sendo ela depositada pela matriz na forma 25OHD₃ durante a formação do ovo. O embrião a absorve na primeira semana de incubação e, na segunda semana, utiliza o metabólito para transportar o Ca da casca através da MCA para a sua corrente sanguínea (Turner *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1990; Halgrain *et al.*, 2022). Com isso, a atividade da enzima 25-hidroxilase pode ser detectada no 9º dia de incubação, e a capacidade do embrião de produzir 1,25OHD₃ aumenta durante o desenvolvimento. O pico da atividade dessa enzima é notado no 17º dia, que corresponde ao período de máxima mineralização do esqueleto (Kubota *et al.*, 1981).

Em resumo, a formação, crescimento e remodelação são processos do desenvolvimento ósseo dependentes de hormônios e de fatores de crescimento. O GH-IGF-I, os hormônios tireoidianos, a insulina, hormônios sexuais e a corticosterona

atuam estimulando a produção, diferenciação, atividade, equilíbrio e apoptose das células ósseas, além de participarem da síntese da matriz extracelular e de FA, e do metabolismo energético. O PTH, a calcitonina e a vitamina D₃, por sua vez, mantêm a homeostase do Ca e do P no organismo, adequando os níveis entre plasma e osso. Todos esses hormônios interagem indiretamente por meio de um sistema fechado de *feedback*. Como a síntese ou secreção dessas substâncias ocorre em diferentes períodos da embriogênese, ela pode ser afetada negativamente caso haja alterações nos fatores físicos da incubação, principalmente na temperatura. Isso pode desencadear más formações ou baixo desenvolvimento do tecido ósseo que consequentemente irão reverberar de forma desfavorável no crescimento e desempenho dos frangos durante a criação. Para avaliar o desenvolvimento ósseo, a maioria das pesquisas comumente investigam alguns desses hormônios a nível plasmático, como: T₃, T₄, PTH, calcitonina e vitamina D₃. Na Tabela 1 são apresentados alguns valores de referência encontrados na literatura desses parâmetros sanguíneos em frangos de corte com 42 dias de idade.

7. Considerações finais

Ao longo dos anos, muitas pesquisas foram desenvolvidas para explorar os mecanismos que envolvem a modulação, crescimento, mineralização e manutenção do tecido ósseo, tanto durante o desenvolvimento embrionário quanto ao longo da vida das aves. A atividade dos minerais envolvidos na formação inorgânica do tecido e os efeitos dos hormônios no crescimento longitudinal são bem conhecidos, e hoje se reconhece que esses hormônios exercem grande parte de seus efeitos agindo diretamente na placa de crescimento. Apesar das descobertas existentes, muitos desses mecanismos continuam sendo complexos e por isso necessitam de constantes e intensivos estudos.

Referências

Almeida, M., Laurent, M. R., Dubois, V., Claessens, F., & O'brien, C. A., Bouillon, R., Vanderschueren, D. e Manolagas, S. C. (2017). Estrogens and androgens in skeletal physiology and pathophysiology. *Physiology Review*, 97 (1): 135–187.

Angel, R. (2007). Metabolic Disorders: Limitations to Growth of and Mineral Deposition into the Broiler Skeleton after Hatch and Potential Implications for Leg Problems. *Journal Applied Poultry Research*, 16: 138–149.

- Applegate, T. J. & Lilburn, M. S. (2002). Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry Science*, 8: 1289–1294.
- Barbosa, V. M. (2011). Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário. Belo Horizonte: FEP MVZ, 124 p.
- Bellairs, R., & Osmond, M. (2005). The atlas of chick development, Elsevier.
- Berendsen, A., & Olsen, B.R. (2015). Bone development. *Bone*, 80: 14-18.
- Bushinsky, D. A. & Monk, R. D. (1998). Calcium. *The Lancet*, 352: 305–11.
- Capelo, L. P., Beber, E. H., Huang, S. A., Zorn, T. M. T., Bianco, A. C. & Gouveia, C. H. A. (2008). Deiodinase-mediated thyroid hormone inactivation minimizes thyroid hormone signaling in the early development of fetal skeleton. *Bone*, 43: 921–930.
- Cauley, J. A. (2015). Estrogen and bone health in men and women. *Steroids*, 99: 11-15.
- Chen, C., Turner, B., Applegate, T., Litta, G. & Kim, W. (2020). Role of longterm supplementation of 25-hydroxyvitamin D3 on laying hen bone 3-dimensional structural development. *Poultry Science*, 99: 5771–5782.
- Chen, C., White, D. L., Marshall, B. & Kim, W. K. (2021). Role of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in chicken embryo osteogenesis, adipogenesis, myogenesis, and vitamina D3 metabolism. *Frontiers in Physiology*, 12.
- Clarke, B. (2008). Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal American Society Nephrology*, 3: 131–139.
- Cignachi, N. P., Riveiro, A., Machado, G. D. B., Cignachi, A. P., Kist, L. W., Bogo, M. R., Silva, R. B. M. & Campos, M. M. (2020). Bone regeneration in a mouse model of type 1 diabetes: Influence of sex, vitamin D3, and insulin. *Life Sciences*: 263.
- Crespo, R. & Shivaprasad, H. L. (2008). “Noninfectious diseases: Developmental, Metabolic, and Other Noninfectious Disorders”. In: SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*, 12th Ed., Ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa. p.1160-1162.
- Christensen, V.L., Wineland, M.J., Yildrum, I., Fairchild, B.D., Ort, D.T. & Mann, K.M. (2005). Incubator temperature and oxygen concentrations during the plateau stage in oxygen uptake affect turkey embryo plasma T and T concentrations. *International Journal of Poultry Science*, 434: 268-273.
- Dacke, C. G. (2000). The Parathyroids, Calcitonin, and Vitamin D. In: Whittow, G. C. *Sturkie's Avian Physiology*, Fifth Edition, Elsevier.
- Darras, V. M., Van Der Geyten, S. & Kühn, E. R. (2000). Thyroid hormone metabolism in poultry. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environmental*, 4 (1): 13–20.
- Decuypere, E. & Buyse, J. (2005). Endocrine control of posnatal growth in poultry. *Journal of Poultry Science*, 42: 1-13.
- De Matos, R. (2008). Calcium Metabolism in Birds. *Veterinary Clinical Exotic Animals*, 11: 59–82.

- Dibner, J. J. (2005). Early nutrition of zinc and copper in chicks and poulets: impact on growth and immune function. *Proceedings of the 3rd Mid-Atlantic Nutrition Conference*.
- Dibner, J. J., Richards J. D., Kitchell M. L. & Queiroz M. A. (2007). "Metabolic challenges and early bone development". *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 126-137.
- Ding, J., He, S., Xiong, Y., Liu, D., Dai, S. & Hu, H. (2020). Effects of dietary supplementation of fumaric acid in growth performance, blood hematological and biochemical profile of broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Brazilian Journal of poultry Science*, 22(1): 001-008.
- Dollwet, H. H. A. & Sorenson, J. R. J. (1988). Roles of Copper in Bone Maintenance and Healing. *Biological Trace Element Research*, 18.
- Ferlin, A., Selice, R., Carraro, U. & Foresta, C. (2013). Testicular function and bone metabolism—beyond testosterone. *Nature Reviews Endocrinology*, 9: 548–554.
- Fulzele, K. & Clmens, T. L. (2012). Novel functions for insulin in bone. *Bone*, 50: 452–456.
- Gandhi, A., Beam, H. A., O'Connor, P., Parsons, J. R. & Lin, S. S. (2005). The effects of local insulin delivery on diabetic fracture healing. *Bone*, 37: 482 – 490.
- Gil, A., Plaza-Diaz, J. & Mesa, M. D. (2018). Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Annals of Nutrition Metabolism*, 72: 87–95.
- Glass, C. K. & Holloway, J. M. (1990). Regulation of gene expression by the thyroid hormone receptor. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1032:157-176.
- Gogakos, A. I., Basset, J. H. D. & Williams, G. R. (2010). Thyroid and bone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 503: 129-136.
- Gouveia, C. H. A., Miranda-Rodrigues, M., Martins, G. M. & Neofiti-Papi, B. (2018). Thyroid Hormone and Skeletal Development. In: LITWACK, G. *Vitamins and Hormones*, 106: 1-544, Elsevier.
- Güz, B. C., Molenaar, R., De Jong, I. C., Kemp, B., Van Den Brand, H. & Van Krimpen, M. (2019). Effects of dietary organic minerals, fish oil and hydrolyzed collagen on growth performance. *Poultry Science*, 98: 6552-6563.
- Güz, B. C. (2022). Healthy bones for broiler chickens. *Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Graduate School of Wageningen Institute of Animal Sciences (WIAS)*. Wageningen, p. 326.
- Halgrain, M., Bernardet, N., Crepeau, M., Meme, N., Narcy, A., Hincke, M. & Réhault-Godbert, S. (2022). Eggshell decalcification and skeletal mineralization during chicken embryonic development: defining candidate genes in the chorioallantoic membrane. *Poultry Science*, 101.

- Hamburguer, V. & Hamilton, H. L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology*, 88: 49-92.
- Hartmann, K., Koenen, m., Schauer, S., Wittig-Blaich, S., Ahmad, M., Baschant, U. & Tuckermann, J. P. (2016). Molecular Actions of Glucocorticoids in Cartilage and Bone During Health, Disease, and Steroid Therapy. *Physiology Review*, 96(2):409-47.
- Ha-Young, K. & Subburaman, M. (2013). Role and Mechanisms of Actions of Thyroid Hormone on the Skeletal Development. *Bone Research*, 2: 146-16.
- Henry, H. L. H. (2011). Regulation of vitamin D metabolism. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 25: 531–541.
- Hofbauer, L. C. & Rauner, M. (2009). Minireview: live and let die: molecular effects of glucocorticoids on bone cells. *Molecular Endocrinology*, 23(10): 1525-1531.
- Imari, Z. K., Hassanabadi, A. & Moghaddam, H. N. (2020). Response of broiler chicken to calcium and phosphorus restriction: effects on growth performance, carcass traits, tibia characteristics and total tract retention of nutrients. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1): 929-939.
- Jiao, H., Xiao, E. & Graves, D. T. (2015). Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Current Osteoporosis Reports*, 13(5): 327–335.
- Kalliecharan, R. & Hall, B. K. (1976). A Developmental Study of Progesterone, Corticosterone, Cortisol, and Cortisone in the Adrenal Glands of the Embryonic Chick. *General and Comparative Endocrinology*, 30: 404-409.
- Kamal, A. M. & Ragaa, N. M. (2014). Effect of dietary supplementation of organics acids on performance and serum biochemistry of broiler chicken. *Nature and Science*, 12:2.
- Karaplis, A. C. (2002). Embryonic Development of Bone and the Molecular Regulation of Intramembranous and Endochondral Bone Formation. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., 1.
- Kenny, A. D. (1986). Parathyroid and ultimobranchial glands. In: *Sturkie's Avian Physiology*, Springer.
- Khosla, S., Oursler, M. J. & Monroe, D. G. (2012). Estrogen and the skeleton. Trends in Endocrinology and Metabolism, 23(11).
- Khosla, S. & Monroe, D. G. (2017). Regulation of Bone Metabolism by Sex Steroids. *Cold spring Harbor perspectives in medicine*.
- Kirsch, T., Nah, H., Shapiro, I. M. & Pacifici, M. (1997). Regulated Production of Mineralization-competent Matrix Vesicles in Hypertrophic Chondrocytes. *The Journal of Cell Biology*, 137(5): 1149–1160.
- Klein, G. L. (2014). “Insulin and bone: Recent developments”. *World Journal Diabetes*, 5(1): 14-16.

- Kocamis, H., Yeni, Y. N., Kirkpatrick-Keller, D. C. & Killefer, J. (1999). Postnatal Growth of Broilers in Response to In Ovo Administration of Chicken Growth Hormone. *Poultry Science*, 78: 1219–1226.
- Kocamis, H., Yeni, Y. N., Brown, C. U., Kenney, P. B., Kirkpatrick-Keller, D. C. & Killefer, J. (2000). Effect of In Ovo Administration of Insulin-Like Growth Factor-I on Composition and Mechanical Properties of Chicken Bone. *Poultry Science*, 79: 1345–1350.
- Kream, B. E. & Lukert, B. P. (2002). Clinical and Basic Aspects of Glucocorticoid Action in Bone. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., 1.
- Kubota, M., Abe, E., Shinki, T. & Suda, T. (1981). Vitamin D metabolism and its possible role in the developing chick embryo. *Biochemical Journal*, 194:103-109.
- Lakatos, P., Szili, B., Bakos, B., Takacs, I., Putz, Z. & Istenes, I. (2019). Thyroid Hormones, Glucocorticoids, Insulin, and Bone. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 262: 93-120.
- Leach JR, R. M. (1976). Metabolism and function of manganese in Trace Elements in Human Health and Disease. v. II., A. S. Prasad, ed., Academic Press, New York, NY. p.235–247.
- Lee, S. K., Clark, N. B. & Brown, S. C. (1990). Action of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and Parathyroid Hormone on 45Calcium Uptake by the Yolk Sac Membrane of Chick Embryos. *The Journal Of Experimental Zoology*, 256: 297-302.
- Leeson, S. (2009). Copper metabolism and dietary needs. *World's Poultry Science Journal*, 65(3).
- Lefebvre, V. & Bhattaram, P. (2010). Vertebrate Skeletogenesis. *Current Topics in Developmental Biology*, 90.
- Long, F. & Ornitz, D. M. (2013). Development of the Endochondral Skeleton. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5.
- Lu, H., Kraut, D., Gerstenfeld, L. C. & Graves, D. T. (2003). Diabetes Interferes with the Bone Formation by Affecting the Expression of Transcription Factors that Regulate Osteoblast Differentiation. *Endocrinology*, 144(1): 346–352.
- Marks JR, S. C. & Popoff, S. N. (1988). Bone Cell Biology: The Regulation of Development, Structure, and Function in the Skeleton. *The American Journal of Anatomy*, 183: 1-44.
- Marks, S. C. & Odgren, P. R. (2002). Structure and Development of the Skeleton. In: BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; RODAN, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., 1.
- Martini, L. A. (1999). Magnesium Supplementation and Bone Turnover. *Nutrition Reviews*, 57(7).

- Matuszewski, A., Lukasiewicz, M. & Niemiec, J. (2020). Calcium and phosphorus and their nanoparticle forms in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 76(2): 328-345.
- McNabb, A. F. M. & Wilson, M. C. (1997). Thyroid hormone deposition in avian eggs and effects on embryonic development. *American Zoology*, 37: 553-560.
- McNabb, F. M. A. (2000). Thyroids. In: Whittow, G. C. *Sturkie's Avian Physiology*, Fifth Edition, Elsevier.
- McNabb, F. M. A. (2007). The Hypothalamic-Pituitary-Thyroid (HPT) Axis in Birds and Its Role in Bird Development and Reproduction. *Critical Reviews in Toxicology*, 37:163–193.
- Meluzzi, A., Primiceri G., Giordani, R. & Fabris, G. (1992). Determination of blood constituents reference values in broilers. *Poultry Science*, 71: 337-345.
- Mendonça Júnior, C. X., Furlan, R. L., Amoroso, L. & Almeida, E. A. (2020). Fisiopatologia do sistema locomotor. In: Andreatti Filho, R. L., Berchieri Júnior, A., Silva, E. N., Back, A., Fabio, J., & Zuanaze, M. A. F. *Doenças das aves*. 3 ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, p. 245-267.
- Mir, E., Hossein-Nezhad, A., Bahrami, A., Bekheirnia, M. R., Javadi, E., Naderi, A. A. & Larijani, B. (2007). Adequate Serum Copper Concentration Could Improve Bone Density, Postpone Bone Loss and Protect Osteoporosis in Women. *Iranian Journal Public Health*, 24-29.
- Mohamad, N., Soelaiman, I. & Chin, K. (2022). A concise review of testosterone and bone health. *Clinical Interventions in Aging*, 1317-1324.
- Molenda, M. & Kolmas, J. (2023). The Role of Zinc in Bone Tissue Health and Regeneration—a Review. *Biological Trace Element Research*, 2023.
- Morii, H. (2007). Overview of skeletal diseases and calcium metabolism in relation to magnesium. In: Nishizawa, Y., Morii, H., Durlach, J. (Eds). *New Perspectives in Magnesium Research*, 263-265 (Springer-Verlag, London).
- Morita, V. S., Almeida, V. R., Matos JR, J. B., Vicentini, T. I., Van Den Brand, H. & Boleli, I. C. (2016). Incubation temperature alters thermal preference and response to heat stress of broiler chickens along the rearing phase. *Poultry Science*, 95:1795–1804.
- Mroczek-Sosnowska, N., Lukasiewicz, M., Adamek, D., Kamaszewski, M., Niemiec, J., Wnuk-Gnich, A., Scott, A., Chwalibog, A. & Sawosz, E. (2017). Effect of copper nanoparticles administered in ovo on the activity of proliferating cells and on the resistance of femoral bones in broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition*, 71(4): 327–332.
- Nari, N. & Ghasemi, H. A. (2020). Growth performance, nutrient digestibility, bone mineralization and hormone profile in broilers fed with phosphorus-deficient diets supplemented with butyric acid and *Saccharomyces boulardii*. *Poultry Science*, 99: 926-935.

- Nadziakiewicz, M., Micek, P. & Wojtysiak, D. (2023). Effects of dietary halloysite supplementation on broiler chicken's blood parameters, carcass and meat quality, and bone characteristics: a preliminary study. *Annals of Animal Science*, 23(1): 129–139.
- Naz, S., Idris, M., Khalique, M. A., Zia-UR-Rahman, Alhidary, I. A., Abdelrahman, M. M., Khan, R. U., Chand, N., Farooq, U. & Ahmad, S. (2016). The activity and use of zinc in poultry diets. *World's Poultry Science Journal*, 72.
- Nicks, K. M., Fowler, T. W. & Gaddy, D. (2010). Reproductive Hormones and Bone. *Current Osteoporosis Report*, 8: 60–67.
- Noirrit-Esclassan, E., Valera, M., Tremolieres, F., Arnal, J., Lenfant, F., Fontaine, C. & Vinel, A. (2021). Critical Role of Estrogens on Bone Homeostasis in Both Male and Female: From Physiology to Medical Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1568).
- O'Connor, J. P., Kanjilal, D., Teitelbaum, M., Lin, S. S. & Cottrell, J. A. (2020). Zinc as a Therapeutic Agent in Bone Regeneration. *Materials*, 13(2211).
- Ohlsson, C., Bengtsson, B., Isaksson, O. G. P., Andreassen, T. T. & Slootweg, M. C. (1998). Growth Hormone and Bone. *Endocrine Reviews*, 19(1): 55–79.
- Okubo, Y. & Hari Reddi, A. (2003). Thyroxine downregulates Sox9 and promotes chondrocyte hypertrophy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306: 186–190.
- Olsen, B. R., Reginato, A. M. & Wang, W. (2000). Bone Development. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16: 191–220.
- Openstax College. Anatomy and Physiology. *OpenStax CNX*, 2012. Disponível em: <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@11.1>
- Oviedo-Rondón, E. O. & Ferket, P. R. (2005). Nutritional factors that affect leg problems in meat poultry: A Review. *32nd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference*.
- Oviedo-Rondón, E. O., Ferket, P. R. & Havenstein, G. B. (2006). Nutritional factors that affect leg problems in broilers and turkeys. *Avian and Poultry Biology Reviews*, 17(3): 89 – 103.
- Palacios, C. (2006). The Role of Nutrients in Bone Health, from A to Z. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8): 621-628.
- Patterson, P. H., Moore JR, P. A. & Angel, R. (2005). Phosphorus and Poultry Nutrition. In: SHARPLEY, A.N., editor. *Agriculture and phosphorus management: The Chesapeake Bay*. CRC Press, Boca Raton, FL. 635–682.
- Piestun, Y., Halevy, O. & Yahav, S. (2009). Thermal manipulations of broiler embryos- The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. *Poultry Science*, 88(12): 2677-2688.

- Pines, M. & Hurwitz, S. (1991). The Role of the Growth Plate in Longitudinal Bone Growth. *Poultry Science*, 70: 1806-1814.
- Pines, M. & Reshef, R. (2015). Poultry bone development and bone disorders. In: *Sturkie's Avian Physiology*, Elsevier Inc.
- Pizauro Junior, J. M., Santos, L. F. J. & Gonçalves, A. M. (2017a). Estrutura e função do tecido ósseo. In: Macari, M.; Maiorka, A. *Fisiologia das aves comerciais*. Jaboticabal: Funep, 492-513.
- Pizauro Junior, J. M., Gonçalves, A. M. & Santos, L. F. J. (2017b). Regulação do metabolismo ósseo por hormônios e íons inorgânicos. In: Macari, M.; Maiorka, A. *Fisiologia das aves comerciais*. Jaboticabal: Funep, 516-530.
- Pun, K. K., Lau, P. & Ho, P. W. M. (1989). The Characterization, Regulation, and Function of Insulin Receptors on Osteoblast-Like Clonal Osteosarcoma Cell Line. *Journal of Bone and Mineral Research*, 4(6).
- Rath, N. C., Balog, J. M., Huff, G. R., Kulkarni, G. B. & Tierce, J. F. (2000). Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. *Poultry Science*, 78: 1232-1239.
- Retzepi, M. & Donos, N. (2010). The effect of diabetes mellitus on osseous healing. *Clinical Oral Implants Research*, 21: 673-681.
- Richards, M. P. (1997). Trace Mineral Metabolism In The Avian Embryo. *Poultry Science*, 76: 152-164.
- Rickard, D., Harris, S. A., Turner, R., Khosla, S. & Spelsburg, T. C. (2002). "Estrogens and Progestins". In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., 1.
- Riggs, B. L., Khosla, S. & Melton, L. J. (2002). Sex Steroids and the Construction and Conservation of the Adult Skeleton. *Endocrine Reviews*, 23(3): 279-302.
- Robson, H., Siebler, T., Shalet, S. M. & Williams, G. R. (2002). Interactions between GH, IGF-I, glucocorticoids, and thyroid hormones during skeletal growth. *Pediatric Research*, 52(2): 137-147.
- Rodehutscord, M. (2013). Determination of phosphorus availability in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 69.
- Rude, R. K., Kirchen, M. E., Gruber, H. E., Stasky, A. A. & Meyer, M.H. (1998). Magnesium deficiency induces bone loss in the rat. *Mineral and Electrolyte Metabolism*, 24(5): 314-320.
- Saito, M., Kida, Y., Kato, S. & Marumo, K. (2014). Diabetes, Collagen, and Bone Quality. *Current Osteoporosis Report*, 12: 181-188.

- Scanes, C.G., Harvey, S. & Chadwick, A. (1977). Hormones and growth in poultry. In: Boorman, K.N., & Wilson, B.J. (Eds.), *Growth and Poultry Meat Production*. *British Poultry Science*, 79–85.
- Scanes, C. G. e Harvey, S. (1984). Hormones and Growth in Poultry. *Poultry Science*, 63: 2062-2074.
- Scanes, C. G. (1997). Ontogeny of the Hypothalamic-Pituitary (Growth Hormone)-Insulin-Like Growth Factor-I Axis in Birds. *American Zoologist*, 37: 524-535.
- Scanes, C. G. (2009). Perspectives on the endocrinology of poultry growth and metabolism. *General and Comparative Endocrinology*, 163: 24–32.
- Shanmugasundaram, R. & Selvaraj, R. K. (2012). Vitamin D-1 α -hydroxylase and vitamin D-24-hydroxylase mRNA studies in chickens. *Poultry Science*, 91: 1819–1824.
- Shastak, Y. & Rodehutscord, M. (2015). A review of the role of magnesium in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 71.
- Shao, Y. Y., Wang, L. & Ballock, R. T. (2006). Thyroid hormone and the growth plate. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 7: 265-271.
- Skomorucha, I. & Sosnówka-Czajka, E. (2021). The effect of adding herbal extracts to drinking water on body temperature, level of thyroid hormones and H:L ratio in the blood of broiler chickens exposed to elevated ambient temperature. *Annals of Animal Science*, 21(4): 1511–1522.
- Soares JR, J. H. (1984). Calcium Metabolism and Its Control — A Review. *Poultry Science*, 63: 2075-2083.
- Stanford, M. (2006). Calcium metabolism. In: Harrison GJ, Lightfoot TL, editors. *Clinical avian medicine*, v. 1, Palm Beach (FL): Spix Publishing; p. 141–51.
- Stern, P. H. (2002). Thyroid hormone and bone. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., v. 1.
- Sun, Z. W., Fan, Q. H., Wang, X. X., Guo, Y. M., Wang, H. J. & Dong, X. (2018). High stocking density alters bone-related calcium and phosphorus metabolism by changing intestinal absorption in broiler chickens. *Poultry Science*, 97: 2019-226.
- Suttle, N.F. (2010). Magnesium. In: Suttle, N.F. (Ed). *Mineral nutrition of livestock*, 92-121 (4th ed. CABI Pub, UK).
- Tinawi, M. (2021). Disorders of Calcium Metabolism: Hypocalcemia and Hypercalcemia”. *Cureus*, 13(1).
- Torres, A. C. & Korver, D. R. (2018). Influences of trace mineral nutrition and maternal flock age on broiler embryo bone development. *Poultry Science*, 97: 2996–3003.
- Tuan, R.S., Carson, M.J., Jozefiak, J.A., Knowles, K.A. & Shotwell, B.A. (1987). Calcium-transport function of the chick embryonic chorioallantoic membrane. II

- functional involvement of calcium-binding protein, Ca²⁺-Atpase and carbonic anhydrase. *Journal Cell Science*, 82: 85-97.
- Turner, R. T., Graves, J. S. & Bell, N. H. (1987). Regulation of 25hydroxyvitamin D3 metabolism in chick embryo. *The American Physiological*, 252: 38 – 43.
- Väänänen, K. & Zhao, H. (2002). Osteoclast Function: Biology and Mechanisms. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., 1.
- Van Der Eerden, B. C. J., Karperien, M. & Wit, J. M. (2003). Systemic and local regulation of the growth plate. *Endocrine Reviews*, 24(6): 782-801.
- Verhaeghe, J. & Bouillon, R. (2002). Effects of Diabetes and Insulin on Bone Physiology. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., 1.
- Veum, T. L. (2010). Phosphorus and calcium nutrition and metabolism. In: Vitti, D. M. S. S.; Kebreab, E. *Phosphorus and Calcium Utilization and Requirements in Farm Animals*, ed. CAB International, Oxfordshire, UK. p. 94–111.
- Vimalraj, S. (2020). Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754.
- Wakita, R., Izumi, R. & Itoman, M. (1998). Thyroid hormone-induced chondrocyte terminal differentiation in rat femur organ culture. *Cell Tissue Research*, 293: 357-364.
- Wang, C.Y., Wang, Y., Li, J. & Leung, F.C. (2006). Expression profiles of growth hormonereleasing hormone and growth hormone-releasing hormone receptor during chicken embryonic pituitary development. *Poultry Science*, 85: 569–576.
- Wang, B., Wang, S., Ding, M., Lu, H., Wu, H. & Li, Y. (2022). Quercetin regulates calcium and phosphorus metabolism through the wnt signaling pathway in broilers. *Livestock Genomics section*, 8.
- Whitehead, C. C., McCormack, H. A., McTeir, L., & Fleming, R. H. (2004). High vitamin D3 requirements in broilers for bone quality and prevention of tibial dyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitamin A. *British Poultry Science*, 45(3): 425-436.
- Wideman, R. J., Blankenship, J., Pevzner, I. & Turner, B. (2015). Efficacy of 25-OH vitamin D3 prophylactic administration for reducing lameness in broilers grown on wire flooring. *Poultry Science*, 94: 1821–1827.
- Wojcicka, A., Basset, J. H. D. & Williams, G. R. (2013). Mechanisms of action of thyroid hormones in the skeleton. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830: 3979–3986.
- Yair, R. & Uni, Z. (2011). Content and uptake of minerals in the yolk of broiler embryos during incubation and effect of nutrient enrichment. *Poultry Science*, 90: 1523-1531.

- Yair, R., Uni, Z. & Shahar, R. (2012). Bone characteristics of late-term embryonic and hatchling broilers: Bone development under extreme growth rate. *Poultry Science*, 91: 2614-2620.
- Yalçin, S., Molayoglu, H. B., Baka, M., Genin, O. e Pines, M. (2007). "Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the Incidence of tibial dyschondroplasia". *Poultry Science*, 86: 1772-1783.
- Yalcin, S., Bruggeman, V., Buyse, J., Deuypere, E., Çabuk, M. & Siegel, P. B. (2009). Acclimation to heat during incubation: 4. Blood hormones and metabolites in broilers exposed to daily high temperatures. *Poultry Science*, 88: 2006-2013.
- Yamaguchi, M. (1998). "Role of Zinc in Bone Formation and Bone Resorption". *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 11: 119–135.
- Zhang, L., He, T., Li, M., Hu, J. e Piao, X. (2019). "Effects of dietary calcium and phosphorus levels and supplementation of 25-hydroxycholecalciferol on performance and bone properties of broiler starters". *Archives of Animal Nutrition*.
- Zheng, J., Nakamura, K., Maseki, Y., Geelissen, S.M., Berghman, L.R. e Sakai, T. (2006). "Independent differentiation of mammotropes and somatotropes in the chicken embryonic pituitary gland. Analysis by cell distribution and attempt to detect somatomammotropes". *Histochemistry and Cell Biology*, 125: 429–439.

APÊNDICE

Tabela 1 – Valores de referência encontrados na literatura dos parâmetros sanguíneos mais utilizados para avaliar o desenvolvimento ósseo em frangos de corte com 42 dias de idade.

Parâmetros	Autores											
	Meluzzi <i>et al.</i> (1992)	Yalçın <i>et al.</i> (2009)	Kamal & Ragaa (2014)	Morita <i>et al.</i> (2016)	Sun <i>et al.</i> (2018)	Güz <i>et al.</i> (2019)	Ding <i>et al.</i> (2020)	Imari <i>et al.</i> (2020)	Nari & Ghasemi (2020)	Skomorucha & Sosnówka-Czajka (2021)	Wang <i>et al.</i> (2022)	Nadziaki ewicz <i>et al.</i> (2023)
Ca	10,50 mg/100mL				9,80 mg/dL	2,60 mmol/L	2,48 mmol/L	7,88 mg/dL	9,60 mg/dL		2,21 mmol/L	11,48 mg/dL
P	6,79 mg/100mL				5,89 mg/dL	1,83 mmol/L	2,3 mmol/L	5,86 mg/dL	6,90 mg/dL		2 mmol/L	6,23 mg/dL
FA	1245 U/L		18,77 U/dL		1258 U/L	1134,9 U/L		4920 U/L	4135 U/L			4,24 U/L
T₃		1,08 ng/mL	0,57 ng/mL	1,34 ng/dL					2,69 ng/mL	5 nmol/L		
T₄		5,36 ng/mL	6,824 ng/mL	9,30 ng/dL					14,63 ng/mL	63,8 nmol/L		
PTH						331,3 pg/mL			26,8 pg/mL		49,98 ng/dL	
Calcitonina									123,2 pg/mL		81,5 pg/mL	
Vit. D₃						463,2 pg/mL					175,78 pg/mL	

2.2 Temperatura constante e intermitente durante a incubação e seus efeitos na criação de frangos de corte

Resumo

Ao longo dos anos o frango de corte passou por intenso melhoramento genético para atingir o máximo ganho de peso no mínimo tempo possível, porém o desenvolvimento ósseo não acompanhou essa evolução. A genética, associada a fatores nutricionais e ambientais, pode causar problemas de locomoção que prejudicam o bem-estar das aves, o desempenho e o rendimento de abate. Porém, a formação e crescimento dos ossos se iniciam durante a embriogênese, podendo então ser afetado pelos fatores físicos da incubação, especialmente a temperatura, que controla o desenvolvimento de diversos órgãos e estruturas corporais do embrião e costuma ser mantida dentro de limites estreitos. Dessa forma, alterar a temperatura da incubação e aplicá-la de forma constante ou intermitente, pode ser uma ferramenta para melhorar o padrão ósseo, prevenindo doenças locomotoras nas aves, o desempenho de criação e abate, e ainda pode modular o organismo a se adaptar a desafios térmicos ambientais. Essa revisão tem como objetivo analisar os efeitos das modificações térmicas pré-natal sobre o desenvolvimento ósseo e desempenho das aves no período de criação.

Palavras-chave: Avicultura. Desempenho das aves. Osteogênese. Parâmetros zootécnicos. Temperatura da casca do ovo. Termomanipulação.

Introdução

Apesar de apontarem a genética, nutrição e ambiente como as principais causadoras de doenças ou alterações locomotoras e ósseas nos frangos de corte, a fase de incubação não pode ser negligenciada, já que é nesse período que o desenvolvimento, crescimento e diferenciação dos ossos se iniciam, sendo determinante para o desempenho geral das aves (Yalçin *et al.* 2007; Groves e Muir 2014; Yair *et al.* 2012; Kettrukat *et al.* 2023). Para que esses resultados sejam positivos, é necessário que os fatores físicos fornecidos estejam em funcionamento conjunto e em condições consideradas ideais para que haja o perfeito desenvolvimento do embrião (Lourens *et al.* 2005; Hammond *et al.* 2007; Meijerhof 2009; Costa *et al.* 2020).

Como o desenvolvimento metabólico dos embriões de aves depende de calor (Yalçin *et al.* 2022), e a incubação em si é definida principalmente como o processo de aplicação de calor aos ovos (French 2009), a temperatura, portanto, é o fator ambiental mais importante do processo (Freeman e Vince 1974; Decuypere e Michels 1992; Yalçin e Siegel 2003; Meijerhof 2009; Molenaar *et al.* 2011; Shim e Pesti 2011; Ipek *et al.* 2014a; Belnap *et al.* 2019). Barott (1937) definiu que a temperatura ideal para que houvesse os melhores resultados é de 37,8°C (100°F), e a partir de então ela vem sendo adotada em todos os incubatórios como uma temperatura padrão. Outros pesquisadores, a exemplo de Lourens *et al.* (2005), também demonstraram a sua eficácia quando utilizada em todo o período do desenvolvimento embrionário. Vale ressaltar, que mensurar a temperatura da casca do ovo (TCO), a partir da segunda semana de incubação, tem sido o melhor método, já que esta se aproxima mais da temperatura real do embrião quando comparada à mensuração da temperatura da máquina (French 1997; Lourens *et al.* 2005; Joseph *et al.* 2006; Hulet *et al.* 2007; Molenaar *et al.* 2010; Meijerhof 2013; Van Der Pol *et al.* 2014; Sozcu *et al.* 2022).

Já foi demonstrado que desvios na temperatura ideal de incubação podem afetar o desenvolvimento do embrião, a mortalidade embrionária, eclodibilidade e qualidade do pinto (Yalçin e Siegel, 2003; Tazawa *et al.* 2004; Lourens *et al.* 2005; 2007; Hulet *et al.* 2007; Shim e Pesti, 2011; Aygun e Narinç 2016; Van Den Brand *et al.* 2019; 2021; Azevedo, 2022; Yalçin *et al.* 2022). Sendo assim, consequentemente, também podem afetar o desenvolvimento e crescimento ósseo das aves, principalmente dos ossos longos da perna (Brookes e May 1972; Hammond *et al.* 2007; Yalçin *et al.* 2007; Oviedo-Rondón *et al.* 2008a,b; Shim e Pesti 2011; Piestun *et al.* 2013; Muir e Groves 2014; Van Der Pol *et al.* 2014; Groves e Muir 2017; Muir e Groves 2019; Morita *et al.* 2020; Güz *et al.* 2020; Azevedo 2022; Franca 2024; Silva, 2024). No entanto, os resultados dos estudos são ambíguos, pois o efeito da temperatura vai depender da intensidade, duração e tempo de aplicação em relação à temperatura habitual (Groves e Muir 2014; Van Der Pol *et al.* 2014; Costa *et al.* 2020). Com isso, oportunidades de usar condições de incubação para melhorar o desenvolvimento ósseo e a resistência das pernas de frangos têm recebido atenção considerável nos últimos anos (Muir e Groves 2019).

Tem sido proposto que, em vez de manter perfis de temperatura de incubação constante, uma alteração seja feita cuidadosamente, aumentando-a ou diminuindo-a durante certo período do desenvolvimento embrionário, ou seja, propõe-se uma manipulação térmica (MT). Isso poderia estimular o desenvolvimento de diferentes

sistemas de controle fisiológico e de funções corporais durante a embriogênese, aumentando também a adaptabilidade das aves às mudanças ambientais de temperatura durante a criação (seja frio ou calor), e as características de desempenho (Yalçin e Siegel 2003; Yahav et al. 2004; Tzschenke 2007; Tzschenke e Halle 2009; Walstra *et al.* 2010; Piestun *et al.* 2011; Loyau *et al.* 2016; Costa *et al.* 2020; Al Amaz e Mishra, 2024). Em outras palavras, poderia induzir a uma adaptação epigenética (*imprinting* neural), a qual modifica a expressão gênica, permanecendo os efeitos até a idade adulta (Walstra *et al.* 2010; Shinder *et al.* 2011; Tzschenke e Plagemann 2006; Tzschenke e Tatge 2013; Narinç *et al.* 2016; Costa *et al.* 2020; Al Amaz e Mishra, 2024). No entanto, para que isso ocorra, a MT deve coincidir com a fase em que sistemas fisiológicos e mecanismos termorregulatórios do embrião já estejam bem desenvolvidos. Isso só pode ser observado a partir dos 10 dias de incubação (Nichelmann e Tzschenke 2002; Decuypere e Bruggeman 2005; Tzschenke, 2007; Furlan e Macari 2008; Tzschenke e Tatge 2013).

Sabe-se que as linhagens atuais de frangos de corte foram melhoradas geneticamente para obterem altos índices zootécnicos (Aygun e Narinç 2016; Van Der Sluis *et al.* 2022), porém os ossos longos das pernas não foram capazes de acompanhar essa evolução e de suportar pesos maiores (Suchý *et al.* 2009; Yair *et al.* 2017). Portanto, a MT durante a incubação, pode ser um mecanismo potencial para modular o crescimento e desenvolvimento do tecido ósseo. Consequentemente, isso poderia melhorar o desempenho, a saúde e o bem-estar dessas aves durante a vida adulta, reduzindo, quem sabe, a incidência de anormalidades e os prejuízos econômicos (Hammond *et al.* 2007; Van Der Pol *et al.* 2014; Morita *et al.* 2016a; Oznurlu *et al.* 2016; Güz *et al.* 2020; Kettrukat *et al.* 2023). No entanto, segundo Groves e Muir (2017), a variedade de protocolos experimentais utilizados (como temperaturas de incubação testadas; variação na duração das temperaturas teste; medição da temperatura da incubadora ou da TCO; diferenças entre linhagens; dentre outros) dificultam uma avaliação global dos efeitos das condições de incubação no desenvolvimento ósseo. Sendo assim, as informações sobre os efeitos das mudanças nas temperaturas de incubação no desenvolvimento do esqueleto ainda são muito limitadas (Yalçin *et al.* 2007; Oznurlu *et al.* 2016; Groves e Muir 2017).

Esse artigo de revisão objetiva rever os resultados encontrados a respeito dos efeitos das modificações na temperatura de incubação sobre o desenvolvimento ósseo e desempenho das aves durante a criação.

Reflexo da temperatura alta e constante no período de criação

Parâmetros ósseos e locomotores

O estudo de Oviedo-Rondón *et al.* (2009) constatou que a alta temperatura no estágio final da incubação (39°C; 18 a 21 dias), aliada a uma baixa temperatura no início (36,7 °C; 1 a 7 dias), e o estresse do transporte pós-eclosão para a granja (taxa de ventilação reduzida + temperatura de 40°C + menores concentrações de O₂; por um período de 4 horas) aumentam a incidência de dedos tortos, a porcentagem de aves com marcha comprometida e maior incidência de deformidades angulares em frangos de corte aos 40 dias de idade.

Shim e Pesti (2011) também testaram em três experimentos se o aumento ou a diminuição da temperatura de incubação poderia influenciar a incidência de anormalidades nas pernas de frangos Cobb® 500 em crescimento, alimentados com três dietas diferentes. No experimento 1 foi aplicada a temperatura de 38,5°C contínua entre os dias 4 a 7 de incubação, e um controle a 37,5°C, sendo que na fase pós-eclosão receberam uma dieta chamada de indutora de discondroplasia tibial (DT). No experimento 2, os ovos foram divididos e incubados a 36,5°C, 37,5°C ou 38,5°C no mesmo intervalo anterior, e receberam uma dieta controle, uma dieta que induziu DT ou uma dieta deficiente em P indutora de raquitismo. No experimento 3, os ovos foram incubados nas mesmas temperaturas e mesmo período utilizados no 2, porém as dietas incluíram uma controle e uma deficiente em cálcio (Ca⁺) que induz raquitismo. No desempenho pós-eclosão das aves do experimento 1, a única diferença notável atribuída à temperatura foi na conversão alimentar (CA), em que a do controle foi melhor. Conforme esperado, as aves que receberam dieta indutora de DT apresentaram a doença, independente da temperatura de incubação aplicada. No experimento 2, a temperatura não teve influência em nenhum parâmetro avaliado e não foram observadas interações dieta x temperatura. Porém, aqueles que se alimentaram com dieta deficiente em P apresentaram menor ganho de peso e pior CA aos 16 dias e, como esperado, cada dieta indutora fornecida provocou as respectivas doenças ósseas. No experimento 3, também não houve interação entre temperatura e dieta. Sendo assim, os autores pontuaram que apesar dos relatos de que a temperatura de incubação influencia o desenvolvimento ósseo, neste estudo, as temperaturas utilizadas no período em questão não causaram anormalidades nas pernas de frangos aos 16 dias de idade. No entanto,

notaram que afetaram o tempo de eclosão, sendo que o aumento da temperatura a faz ser mais precoce, o que deixa as aves estressadas devido ao maior tempo de permanência no nascedouro sem acesso ao alimento. Isso pode comprometer o seu peso e a saúde geral das pernas.

Frangos de corte machos e fêmeas foram submetidos a uma incubação em TCO alta (38,9°C a 40°C) continuamente entre o 10º ao 18º dia por Ipek e Sozcu (2016). Aos 42 dias de idade, foi avaliada a prevalência de dermatite de jarrete (DJ), sendo uma pontuação aplicada de acordo com a gravidade das lesões, variando de 1 a 5 (1- não há evidência; 2 e 3 há evidência mínima de lesões; 4 há evidência visível; e 5 há lesões graves). Todos os frangos de corte do grupo TCO alta apresentaram DJ, tendo maior e significativa pontuação de 3 e 4, quando comparado ao grupo incubado em condições controle (37,8°C a 38,2°C). Segundo os autores, provavelmente, a temperatura afetou negativamente a resistência da pele, causando a lesão. Além disso, foi realizada a avaliação de pontuação de marcha das aves, também chamada de *gait score*, que mede a capacidade de caminhada em frangos de corte. De acordo com a metodologia seguida por Ipek e Sozcu (2016), a pontuação é categorizada em 6 classes, sendo 0 frangos saudáveis, com marcha normal, hábil e ágil, e 5 aves incapazes de andar. Houve uma maior incidência de pontuação 3 (anormalidade óbvia, com capacidade de movimento afetada, não ficando em pé por mais de 15 segundos e caminha deitado) e 4 (anormalidade grave, não quer andar, usa asas como muletas, dá apenas alguns passos) nas aves submetidas a TCO alta constante. Isso parece ter refletido no desempenho das aves, já que esse grupo apresentou menor peso corporal e pior conversão alimentar, quando comparado ao controle. Sendo assim, os autores constataram que mudanças na temperatura de incubação podem afetar a capacidade de locomoção, devido a uma variação no desenvolvimento ósseo, e consequentemente a eficiência alimentar dos frangos.

Oksbjerg *et al.* (2019) incubaram ovos Ross®308 em quatro temperaturas (36°C, 36,5°C, 38,5°C ou 39°C) do dia embrionário 4 ao 7. Um grupo controle com temperatura de 37,5°C também foi mantido em toda a incubação. Após a eclosão as aves foram criadas em baias e parâmetros relacionados ao desempenho, locomoção e características ósseas foram analisadas. O peso vivo com 15 e 32 dias de idade, assim como o comprimento, peso e força da tibia, e a pontuação de marcha, não foram afetados pela temperatura de incubação. Por outro lado, foi encontrada interação significativa entre sexo e temperatura de incubação no diâmetro da tibia, sendo maior

nos machos em temperaturas de incubação de 38,5°C e 39°C. Assim, segundo os autores, quando incubados em temperaturas maiores em determinado período do desenvolvimento embrionário, frangos machos apresentam aumento da resistência óssea, sugerindo uma maior capacidade de andar, embora a pontuação da marcha não tenha sido afetada.

Um estudo foi desenhado para determinar os efeitos do padrão de TCO na segunda e terceira semana de incubação no desenvolvimento da tíbia de frangos de corte em idade de abate (Güz *et al.* 2020). Ovos Ross® 308 foram incubados a uma TCO de 37,8°C até o 7º dia. Posteriormente, foi mantida a TCO padrão em uma máquina e em outra foi aplicada temperatura constante de 38,9°C (alta) do 8º ao 14º dia. Do 15º até a eclosão, uma máquina se manteve na TCO padrão e outra foi modificada para 36,7°C (baixa), formando quatro tratamentos. Depois do nascimento, os frangos foram criados até a idade de abate. Após as análises, foi observado que a TCO alta na 2ª semana, seguida por TCO padrão na 3ª semana, resultou em maior conteúdo e densidade mineral, resistência e rigidez da tíbia em comparação aos outros três grupos. A TCO alta resultou em maior peso, espessura e volume da tíbia do que a padrão, além de melhor pontuação de marcha. Dessa forma, foi concluído que o aumento de 1,1°C na TCO na 2ª semana de incubação estimula as características morfológicas, biofísicas e mecânicas da tíbia de frangos de corte na idade de abate. Porém, quando associada a uma TCO 1,1°C mais baixa na 3ª semana provoca efeitos negativos nas características da tíbia.

Alegando a falta de dados na literatura que demonstrassem os efeitos da temperatura de incubação constante combinada com a criação em condições térmicas preferenciais sobre as características ósseas dos frangos de corte, Morita *et al.* (2020) incubaram ovos a partir do dia 13 até a eclosão em temperaturas baixa (36°C; TCO de $37,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$), controle (37,5°C; TCO de $37,8 \pm 0,15^\circ\text{C}$) ou alta (39°C; TCO de $38,8 \pm 0,3^\circ\text{C}$); e os pintos nascidos foram criados sob condições ambientais de temperatura ideal (de acordo com o manual da linhagem), preferida (determinada em estudos anteriores pelos autores) e de estresse térmico (5°C acima da ideal). Foi concluído que a temperatura de preferência na criação não melhorou o peso corporal e as características femorais e tibiotársicas dos frangos, indicando que o conforto térmico não está necessariamente relacionado com maior desenvolvimento. Porém, o estresse térmico na criação diminuiu o peso das aves, o conteúdo mineral desses mesmos ossos, a resistência femoral e a rigidez tibiotársica, indicando que ela afeta os processos intramembranosos e endocondrais do desenvolvimento ósseo. Por outro lado, observou-

se que esses efeitos negativos do estresse térmico na fase de criação foram minimizados nos grupos que foram submetidos à alta ou baixa temperatura de incubação, mas, apesar disso, não foi o suficiente para evitá-los.

Parâmetros de desempenho e abate

Joseph *et al.* (2006) utilizaram uma alta TCO constante (39,5°C) do 19º até a eclosão para verificar o desempenho das aves ao longo de 6 semanas vida, assim como o rendimento de carne de peito. Esse tratamento de TCO alta reduziu a mortalidade na 3ª semana de idade quando comparada ao tratamento controle (37,8°C), o que também foi observado na 6ª semana de idade. Embora o PC e o ganho de peso tenham sido reduzidos inicialmente, essa temperatura não afetou o desempenho geral das aves e nem os rendimentos do processamento, como o peso da carcaça ou do peito.

Da mesma forma, Hulet *et al.* (2007) avaliaram os efeitos de diferentes temperaturas embrionárias no subsequente desempenho e nas características da carcaça dos frangos. Os ovos foram incubados por 16 dias a 37,5°C, e assim transferidos para nascedouros, onde foram separados em três grupos para manter as seguintes TCO: 37,5°C (grupo baixa - B), 38,6°C (grupo média - M) e 39,7°C (grupo alta - A). Após a eclosão, os pintinhos da combinação de cada tratamento (idade da matriz x TCO) foram alojados em baias até a idade de abate. Os autores observaram que, apesar de no dia da eclosão os pintinhos do grupo A terem apresentado maior peso, eles foram mais leves aos 21, 35 e 44 dias de idade, quando comparados aos outros grupos. Eles se apresentavam mais lentos no alojamento, preferindo-se sentar ao invés de comer e beber, o que refletiu no seu ganho de peso. Por outro lado, os do grupo M eram mais pesados do que os do grupo B, tanto na eclosão quanto na idade de abate. Na idade de abate a CA não diferiu. Além disso, as diferenças de porcentagem de mortalidade ao longo da criação e as características da carcaça não se mostraram significativas. Com isso, concluíram que, apesar da modificação mais alta da temperatura no final da incubação afetar o crescimento das aves pós-eclosão, o mesmo não foi observado no rendimento pós-abate.

A fim de também investigar se uma alteração na temperatura de incubação afeta a qualidade da carne após o abate de frangos de corte Cobb® 500, Werner *et al.* (2010) incubaram os ovos a 37,5°C durante todo o período, sendo o controle (C), ou a 38,5°C continuamente durante os dias 7 a 10 (T°C alta). Após a eclosão, os pintinhos foram

criados até os 36 dias de idade. O aumento da temperatura durante a embriogênese não teve impacto significativo nas características de eclosão, desempenho (peso corporal final, consumo de ração e CA), abate (peso de carcaça, peito e coxa) e qualidade da carne (área e número de fibras musculares) dos frangos. Entretanto, a T°C alta resultou em áreas menores de fibras musculares nas fêmeas, o que, para os autores, precisa ser mais investigado e justificado.

Alguns resultados diferentes foram apresentados por Molenaar *et al.* (2011). Eles demonstraram que uma elevada TCO, aplicada a partir do 7º dia de incubação e de forma contínua, diminuiu a qualidade dos pintinhos e o desempenho de crescimento, no entanto aumentou o rendimento da carne de peito. Além disso, a incidência de ascite aumentou nessa temperatura, relacionando-a ao menor desenvolvimento do coração na eclosão.

Após incubarem ovos férteis a uma temperatura mais alta (38,5°C) que a convencional (37,5°C), de forma constante entre os dias 3 a 6, Krischek *et al.* (2013) concluíram que essa modificação não tem impacto nas características de crescimento de frangos de corte aos 33 dias de idade. No entanto, nos machos alimentados com dieta orgânica, observou-se que o peso vivo e o peso da carcaça foram diminuídos aos 69 dias de idade. Essa alimentação diferente da convencional foi ofertada para considerar os resultados apresentados por uma ave criada e abatida usando um manejo diferente e por um período mais prolongado, a fim de verificar se são os problemas de bem-estar ocorridos em condições convencionais de criação que promovem o surgimento dos problemas. Mas, como observado, os resultados zootécnicos finais e de abate não foram positivos.

Ipek *et al.* (2014b) objetivaram determinar se os efeitos de diferentes TCO (baixa - 33,3 a 36,7°C; controle - 37,8 a 38,2°C; e alta - 38,9 a 40°C), durante os dias 10 a 18 de incubação, afetava o desempenho do frango de corte na primeira semana de vida. Foi demonstrado que no dia 1 de alojamento, o PC foi semelhante entre os grupos TCO baixa e alta, porém menores do que o controle. Após 7 dias, no entanto, o grupo TCO alta apresentou uma melhoria compensatória, já que não apresentou diferenças significativas do controle. Além disso, não foram observadas diferenças no consumo de ração, CA e mortalidade entre os grupos nesta fase, demonstrando que a temperatura alta não influenciou o desempenho das aves até o momento em questão.

Ipek *et al.* (2015) também verificaram os efeitos da temperatura modificada e constante no desempenho dos frangos de corte e na suscetibilidade à ascite. Os autores

utilizaram diferentes TCO (baixa – 33,3-36,7°C; controle – 37,8-38,2°C; ou alta – 38,9-40°C) aplicadas entre os dias 10 e 18 de incubação. Após o nascimento, os pintinhos foram alocados em baias de acordo com os tratamentos térmicos citados, e o manejo dessas aves foi mantido na forma padrão da indústria. Foi constatado que a mortalidade total e a mortalidade causada por ascite foram muito baixas em todos os grupos, justificada pelo fato de o manejo e as condições climáticas ofertadas terem sido ideais. No entanto, os parâmetros sanguíneos e cardíacos, assim como o acúmulo de fluido abdominal na idade de abate (6 semanas), mostraram que, em condições inadequadas de alojamento (ventilação e temperatura descontroladas) e idades de abate mais avançadas, aves incubadas a uma TCO alta podem apresentar mortalidade por ascite consideravelmente alta. Isso porque as aves desse grupo neste estudo, e diante da ambiência ideal oferecida, apresentaram altos valores de hematócrito, glóbulos vermelhos e razão ventrículo direito para ventrículo total (RV:TV) (parâmetros usados para determinar o estado de ascite de uma ave antes do aparecimento de lesões macroscópicas), como também acúmulo de fluido abdominal em 7 aves, indicando a maior susceptibilidade desse grupo. Além disso, a CA nessa idade também foi pior para esse tratamento.

Também foi demonstrado por Sozcu e Ipek (2015) que utilizar TCO alta de 38,8 a 39°C de forma constante durante os últimos três dias de incubação causa diminuição do peso aos 42 dias de idade, maior consumo de ração e pior CA quando comparado ao controle (36,8 a 37°C). É compreendido que pior CA está diretamente ligada ao pior desenvolvimento gastrointestinal pós-eclosão. Ainda na fase de criação, as aves foram expostas à temperatura ambiente no primeiro dia de vida de 33°C, que diminuiu gradualmente para 24°C e fixou-se quando estavam com 21 dias. Após essa idade, todos os grupos foram expostos à temperatura ambiente gradualmente reduzida para 14°C até os 42 dias (idade final), sendo esta considerada uma condição indutora de ascite. A mortalidade total e a mortalidade por ascite também foram maiores na temperatura alta, demonstrando que esta, quando aplicada durante a embriogênese, induz a doença metabólica. Isso foi assegurado pelos valores mais altos de hemoglobina, hematócrito e contagem de glóbulos vermelhos no grupo TCO alta na idade de abate.

Janisch *et al.* (2015) incubaram ovos Cobb® a 37,8°C por 7 dias. No dia 7 e no dia 10, uma parte dos ovos foi transferida para uma segunda incubadora com temperatura de incubação mais alta (Grupo H: 38,8°C), mantendo-se um grupo controle. Após 3 dias esses ovos foram transferidos de volta para a incubadora com temperatura padrão, onde

permaneceram até a eclosão. Na criação, frangos machos e fêmeas dos grupos foram alojados em baias separadas e mantidos sob um manejo convencional até os 35 dias, período em que foram abatidos e características zootécnicas e de carcaça analisadas. O grupo H apresentou maior peso corporal, assim como maior peso de carcaça. Apesar disso, o rendimento de carcaça e de grandes músculos do peito (*MPS*) foi significativamente menor do que o controle. Em relação aos parâmetros de qualidade da carne, o pH e a força de cisalhamento não diferiu do controle, porém embora a perda de grelha, luminosidade (*L**) e vermelhidão da carne (*a**) terem sido menores, a perda por gotejamento foi maior. Portanto, o estudo mostra que a alteração da temperatura de incubação durante o período inicial da embriogênese influencia positivamente o crescimento das aves e características da carcaça, mas há um impacto negativo sobre a qualidade da carne. De acordo com os autores, os mecanismos moleculares concretos dessas alterações devem ser melhor investigados.

Werner e Wicke (2008), no entanto, demonstraram resultados opostos. Eles incubaram ovos Cobb® a uma temperatura de 38,5°C do dia 7 ao dia 10, mantendo um tratamento controle de 37,5°C. Nos resultados pós abate dos frangos com 35 dias, demonstraram que o aumento da temperatura na incubação melhorou os rendimentos de carcaça e peito sem que houvesse impacto negativo na qualidade da carne. Discutiram que a modificação da temperatura provavelmente melhorou a miogênese ainda na fase embrionária, o que refletiu na idade de abate.

Um estudo objetivou verificar os efeitos da alteração da temperatura de incubação sob o desempenho de frangos de corte Ross® 308 e rendimento de carcaça (Lin *et al.* 2017). Após os ovos serem armazenados a 23,9°C ou 29,4°C por 12 horas, eles foram transferidos para incubadoras programadas a uma temperatura de 38,1°C ou 37,5°C até o 5º dia de incubação. Sendo assim, formaram-se quatro tratamentos: pré-incubação a 23,9°C + incubação de 0-5 dias a 37,5°C; pré-incubação a 23,9°C + incubação de 0-5 dias a 38,1°C; pré-incubação a 29,4°C + incubação de 0-5 dias a 37,5°C; e pré-incubação a 29,4°C + incubação de 0-5 dias a 38,1°C. Do 5º ao 9º dia foi empregada uma temperatura de 37,5°C. A partir desse período ela foi gradualmente diminuída para: 37,1°C de 10 a 14 dias; 36,4°C de 15 a 18 dias; e 36,1°C do dia 19 até a eclosão. Após nascidas, as aves foram alojadas em baias. Os resultados mostraram que não houve interações significativas entre as temperaturas pré-incubação e de incubação sob as variáveis analisadas. Por outro lado, a temperatura de incubação de 38,1°C de 0-5 dias aumentou o PC dos frangos machos e fêmeas, bem como a CA e o peso relativo do

músculo peitoral, demonstrando mais uma vez que alta temperatura nessa fase de incubação acelera a miogênese.

Avsar *et al.* (2021) verificaram os efeitos da temperatura utilizando TCO alta (38,6°C) aplicada dos dias 0 a 3, 0 a 6 ou de 3 a 6 de incubação sobre o desempenho de frangos de corte na primeira semana de vida. Um menor peso corporal aos 7 dias foi encontrado no grupo TCO (0-6) e (3-6), mas não no TCO (0-3), quando comparado ao TCO controle (37,8°C em todo o período). Além disso, não foram observadas diferenças significativas no consumo de ração e na CA entre os tratamentos, e nem houve mortalidade nesse período. Sendo assim, os autores concluíram que as aves submetidas a uma TCO alta nos primeiros 3 dias de incubação apresentam bom desempenho na primeira semana de vida, mesmo tendo apresentado uma eclosão mais precoce do que as do grupo controle. Segundo eles, isso pode ser benéfico para encurtar o tempo de incubação em ovos armazenados por um período prolongado, já que à medida que o tempo de armazenamento dos ovos se estende, maior será o tempo de incubação.

Termotolerância

Focando nos efeitos da temperatura alta e constante na incubação sobre a termotolerância das aves, há poucos estudos direcionados. Porém, Morita *et al.* (2016b) buscaram constatar se os efeitos desse tipo de alteração de temperatura são transferidos para a vida pós-natal. Aos 14 e 15 dias de idade, os frangos que foram incubados a 39°C do dia 13 até a eclosão preferiram temperaturas ambientais de 1°C acima da temperatura preferida pelas aves que foram incubadas em temperatura mais fria (36°C) e controle (37,5°C). Essa preferência correspondeu à temperatura em que a ave permaneceu por um período acima de 22 minutos. Além disso, esse grupo apresentou temperaturas retais mais altas, resultado de uma pele mais fina e mais vascularizada, o que permite maior troca de calor. Essas aves também demonstraram menores níveis de hormônio T₃ aos 42 dias de idade, em comparação ao controle, indicando menor metabolismo. Apesar disso, entre os dias 21 a 42, o consumo de ração não foi afetado pela temperatura de incubação. Sendo assim, os autores concluíram que a modificação térmica de forma constante na incubação tem efeitos em longo prazo na termotolerância de frangos de corte sem afetar o seu desempenho.

Reflexo da manipulação térmica alta e intermitente no período de criação

Parâmetros ósseos e locomotores

Yalçin *et al.* (2007) verificaram os efeitos da MT intermitente na incubação sobre as características ósseas, a diferenciação dos condrócitos da placa de crescimento e sua relação com a incidência de DT. Os autores avaliaram cinco grupos: 1) controle – 37,8°C; 2) MT baixa – 36,9°C por 6h/dia nos dias 0 a 8 de incubação; 3) MT baixa – 36,9°C por 6h/dia nos dias 10 a 18; 4) MT alta – 39°C por 6h/dia nos dias 0 a 8; e 5) MT alta – 39°C por 6h/dia nos dias 10 a 18. A umidade relativa (UR) foi mantida em 60%. Foi demonstrado que, no grupo MT alta tardio, os pintos recém-eclodidos apresentaram menor peso da tíbia, além do peso corporal ter sido mais leve. Também foi identificado um maior teor de cinzas nas tíbias na fase inicial, e uma tendência semelhante foi encontrada aos 49 dias de idade. Focando nos resultados dos tratamentos MT quente, a incidência de DT na idade de abate foi afetada pela temperatura, aumentando-a nesse grupo do dia 0 ao dia 8 de incubação, mas no tratamento tardio isso não foi encontrado. Eles explicaram que isso pode acontecer devido ao atraso na diferenciação celular dos condrócitos no início da embriogênese. Tanto na incubação inicial quanto tardia, os marcadores de diferenciação se apresentavam alterados: o colágeno tipo II estava mais elevado na cartilagem articular e consequentemente a zona de proliferação se apresentava mais larga; e a fosfatase alcalina (FA) estava em menor atividade, reforçando mais uma vez que os condrócitos não sofreram diferenciação, já que no grupo controle essa enzima estava em níveis normais. Houve também um aumento nos níveis de proteínas de choque térmico (Hsp90) na placa de crescimento (tanto na zona proliferativa quanto hipertrófica) de pintinhos incubados com MT alta inicial. Sabe-se que quando expressas no tecido ósseo, essas Hsp podem prejudicar a diferenciação dos condrócitos, e inclusive aumentar casos de DT devido ao aumento das zonas pré e hipertróficas. Sendo assim, concluiu-se que o estágio inicial do desenvolvimento embrionário é crucial para a diferenciação da placa de crescimento e qualquer desvio da temperatura padrão atrasa ou desregula esse processo e aumenta a incidência de DT nos frangos em idade de abate.

Parâmetros de desempenho e abate

Tzschentke e Halle (2009) incubaram ovos Ross®308 do dia 1 ao dia 17 em condições normais de incubação (37,2–37,4°C). Do dia 18 até a eclosão, os ovos foram

separados em incubadoras com diferentes programas de temperatura: 1) 37,2–37,4°C (controle); 2) 38,2–38,4°C por 24 horas (incubação quente constante); e 3) 38,2–38,4°C por 2 horas diárias (quente intermitente). Após isso, os pintos nascidos foram alojados até os 35 dias de idade, sendo avaliadas características de desempenho e de abate. Com os resultados, notou-se que apenas a estimulação pré-natal quente intermitente induziu uma melhora duradoura relacionada ao sexo no desempenho dos frangos de corte na idade de abate. Os machos apresentaram maior consumo de ração, atingiram o maior PC final e ganho de peso médio diário, bem como uma CA significativamente menor em comparação aos animais machos e fêmeas do grupo controle e do grupo de incubação térmica constante. Além disso, as fêmeas desse grupo tiveram uma CA benéfica em comparação com as fêmeas do grupo controle e do grupo quente constante. Nenhuma diferença pôde ser encontrada no desempenho de abate (carne, órgãos, teor de gordura) de ambos os sexos entre os diferentes grupos incubados. Sendo assim, é proposto que a MT quente e intermitente no final da incubação promova resultados zootécnicos positivos para frangos de corte.

Piestun *et al.* (2013) examinaram os efeitos da MT intermitente durante a embriogênese (39,5°C e 65% UR por 12 h/dia do dia 7 ao 16 de incubação, com mensuração da TCO) sobre o peso corporal, consumo de ração, CA, produção de músculo do peito e gordura abdominal de frangos de corte até a idade de comercialização de 70 dias. Foi demonstrado que frangos machos do tratamento MT não apresentaram diferença no peso corporal quando comparado ao tratamento controle (37,8°C) desde a eclosão até o abate, porém o seu consumo de ração foi menor, o que resultou em melhor CA. Um maior peso relativo do músculo peitoral também foi exibido pelas aves MT, sugerindo que houve proliferação de células musculares no embrião e na ave durante a criação. Outro ponto positivo para o grupo MT foi o menor acúmulo de gordura abdominal nos machos. Isso ocorreu, segundo os autores, porque, ainda na fase embrionária, o embrião manipulado termicamente de forma intermitente aumenta o seu movimento e o gasto de energia, reduzindo o diâmetro dos adipócitos e o tamanho da camada de gordura.

Após aplicar MT de 39,5°C e UR de 65% por 3 horas entre os dias 11 a 16 de incubação, Amjadian e Shahir (2020) demonstraram não haver diferenças no desempenho pós-eclosão (ganho de peso, consumo de ração e CA) entre os grupos MT e controle (37,8°C e UR 56%) em 0-21 dias e 22-42 dias de idade, mesmo submetendo

as aves de ambos os grupos em condição de estresse térmico após os 22 dias de idade (37°C por 5 horas).

As temperaturas altas intermitentes também foram testadas na incubação de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) por El-Shater *et al.* (2021). Os pesquisadores verificaram os efeitos da MT de 41°C e 65% de UR durante 3 horas/dia em diferentes estágios do desenvolvimento embrionário (inicial – 6° ao 8° dia; tardia – 12° ao 14° dia; e ambos – inicial + tardia) na criação dessas aves. Um quarto grupo se manteve em condições padrão de incubação, sendo configurado como controle (37,7°C e 55% UR). Apesar das aves da MT intermitente no estágio inicial de incubação terem apresentado peso de eclosão menor em comparação ao controle, um resultado positivo no peso corporal final e na CA foi observado aos 35 dias de idade. As aves desse grupo apresentaram evidente crescimento das fibras e consequentemente hipertrofia do músculo do peito, aumentando assim o rendimento no abate. Os autores justificaram esses resultados com base no fenômeno do crescimento compensatório em frangos de corte e na adaptação epigenética, que afeta a expressão gênica em resposta a manipulações térmicas durante as fases críticas de desenvolvimento da miogênese.

Em contraste a esses estudos, a pesquisa de Sozcu e Ipek (2015), também avaliou os efeitos de manipulações intermitentes da alta TCO (38,8 a 39°C por 3 horas/dia) durante os últimos três dias de incubação. Na criação, as aves foram expostas a 33°C no primeiro dia de vida, diminuindo para 24°C, que se fixou quando estavam com 21 dias. Após essa idade, condições indutoras de ascite foram fornecidas, sendo a temperatura ambiente gradualmente reduzida para 14°C até a idade de abate (42 dias). Eles demonstraram que a exposição intermitente causou menor peso corporal e maior CA que o controle (36,8 a 37°C) nas semanas 1 a 6 de criação, além de maior mortalidade total e mortalidade por ascite. Dessa forma, sugere-se que temperaturas mais altas durante a embriogênese induzem à doenças metabólicas.

Termotolerância

Yalcin *et al.* (2008) e Yalcin *et al.* (2009) investigaram os efeitos da idade da matriz (32 semanas – jovens; 42 – meia idade; e 65 – velhas) e da TCO a 37,8°C (controle) e a 38,5°C (alta) por 6 horas diárias do 10° ao 18° dia de incubação sob o peso corporal, temperatura cloacal e equilíbrio ácido-base do sangue (artigo 1); e sob os metabólitos sanguíneos e hormônios de frangos de corte (artigo 2), criados em

temperaturas ambientais intermitentes ($32 \pm 1^\circ\text{C}$ das 10h00 às 17h00 e $22 \pm 1^\circ\text{C}$ das 17h00 às 10h00 e UR de 70%) e em temperatura ambiente controle ($22 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de 50%) dos 21 aos 42 dias de idade. A escolha de três idades de matriz diferentes foi para avaliar a sensibilidade ao calor, já que isso pode influenciar a termotolerância dos frangos. Os resultados do artigo 1 indicaram que, embora o efeito da temperatura alta no ambiente de criação tenha sido mais severo para os frangos oriundos de matrizes velhas (conforme observado pelo menor PC e mortalidade), a MT intermitente ao calor durante a incubação aumentou a termoresistência das aves desse grupo, já que não apresentaram alteração do PC quando comparado ao controle, e menores temperaturas cloacais. Quanto ao equilíbrio ácido-básico sanguíneo, aos 42 dias, a exposição dos frangos a alta temperatura na criação diminuiu o pCO_2 (pressão parcial de dióxido de carbono) e o HCO_3 (bicarbonato), sugerindo alcalose respiratória. Além disso, a diminuição do pCO_2 em frangos de corte incubados em TCO alta pode ser devido ao aumento da respiração ofegante o que coincide com uma tendência de aumento mais lento nas temperaturas cloacais. Isso pode refletir mecanismos adaptativos ao tratamento térmico pós-eclosão. No artigo 2, observou-se níveis mais baixos de T_3 nos frangos previamente incubados em alta temperatura intermitente, independente da idade da matriz ou da temperatura de criação, indicando uma transferência do tratamento ao calor pré-natal na vida pós-natal. Embora no dia 21 e 28 de idade, os níveis de corticosterona estarem elevados para o grupo exposto à alta temperatura ambiente, no dia 42 eles estavam mais baixos do que o tratamento controle, demonstrando que quando expostas contínua e intermitentemente a esse estressor, as aves se adaptam semanas depois. Segundo os autores, apesar de frangos oriundos de matrizes mais velhas serem mais sensíveis às altas temperaturas ambientais, nesse estudo, as aves desse grupo demonstraram uma maior resistência às altas temperaturas diárias pela aclimatação ao calor durante a incubação, conforme refletido nas alterações nos metabólitos sanguíneos (menos ácido úrico, glicose e triglicerídeos) e hormônios (T_3).

Ovos férteis foram incubados a $37,8^\circ\text{C}$ do dia 1 ao 18 de incubação, sendo que um grupo foi manipulado termicamente a $39,5^\circ\text{C}$ por 6 horas/dia do 10º ao 18º dia (INC_A), enquanto outro se manteve no mesmo padrão, sendo o controle (INC_C) (Aksit *et al.* 2010). Do dia 18 até a eclosão, a temperatura foi de $37,5^\circ\text{C}$ para ambos os grupos. Na criação, de 21 a 42 dias de idade, os frangos nascidos a partir do INC_C e INC_A foram divididos em dois grupos: metade foi exposto diariamente a temperaturas de 32°C por 8 horas (estresse por calor), enquanto a outra metade foi criada a 22°C (ótimo). Com os

resultados foi demonstrado que, embora o peso corporal dos frangos de corte INC_A não tenha sido influenciado pelas temperaturas de criação em 35 e 42 dias, sendo semelhante em temperaturas ótimas ou altas de criação, esses frangos podem ser capazes de lidar melhor com o estresse térmico. O que confirmou esse efeito foi a relação Heterófilo:Linfócito (H:L), que foi menor para os frangos INC_A sob altas temperaturas diárias, indicando menor estado de estresse diante do ambiente.

Um estudo pioneiro sobre os efeitos da MT com altas temperaturas durante a incubação tardia na adaptação ambiental pós-eclosão de pintos de linhagem de poedeira foi realizado por Walstra *et al.* (2010). Os autores aplicaram MT intermitente de TCO a 40°C por 4 horas do 14º ao 18º dia embrionário, comparando-a com um controle de TCO a 37,8°C (C). Um teste de preferência de temperatura foi realizado nos dias 1, 7 e 33 de idade, colocando as aves em uma caixa com um gradiente de temperatura de 20°C a 50°C sendo observadas por 30 minutos. Seguido a isso, foi realizado um desafio térmico no dia subsequente, ou seja, nos dias 2, 8 e 34 de idade, sendo colocados em uma câmara de respiração climática, em que a temperatura ambiente foi aumentada por 4 horas para 40 °C nos dias 2 e 8, e para 35 °C no dia 34 (menor para evitar mortalidade nessa idade). A temperatura corporal também foi medida antes e logo após os 30 minutos do teste de preferência e do desafio térmico. Os resultados demonstraram que os pintinhos MT preferiram uma temperatura ambiente menor nos dias 1 e 7 em comparação aos pintinhos C, sugerindo que essa MT afetou o sistema termorregulador de maneira positiva já que é benéfico preferir temperaturas mais baixas em condições não desafiadoras como parte de uma estratégia térmica para economizar energia. Quando expostos ao desafio térmico, as aves MT tiveram uma temperatura corporal maior quando comparado ao C, também indicando que o sistema termorregulador foi modificado. Para reforçar esses dados, os autores colocaram que há a necessidade de mais informações sobre parâmetros fisiológicos, como dados sobre hormônios tireoidianos (T₃ e T₄) e corticosterona, o que não foi realizado por eles.

Piestun *et al.* (2011) encontraram, durante o período de crescimento das aves (21 até os 35 dias de idade), submetidas a condições ambientais regulares (25°C ± 1°C) ou quentes (32°C ± 1°C por 12 horas), menores níveis plasmáticos de T₄ e T₃ em frangos de corte manipulados termicamente durante a incubação (39,5°C/12horas/D7 a D16) quando comparados ao controle (37,5°C). Isso sugere uma menor produção de calor em condições de ambiente quente, melhorando sua capacidade de regular a temperatura corporal e consequentemente a termotolerância das aves. Os autores

pontuaram que taxas metabólicas mais baixas encontradas ao longo do crescimento de aves MT na incubação, indicam menor demanda de energia para a manutenção, registrando-se que estas diminuíram o consumo de ração e apresentaram menor CA aos 5 dias de idade. Além disso, foi observado um maior peso relativo do músculo do peito nas aves MT, o que sugere que o tratamento causou aumento da proliferação de células musculares no embrião ou no período pós-eclosão, e diminuição do peso relativo de gordura abdominal, o que é favorável no setor de corte. Esse resultado demonstra o potencial econômico da MT pré-natal, que induziu a uma adaptação epigenética à temperatura e melhor termotolerância das aves.

A MT de ovos Cobb® 500 (39,5°C e 65% de UR por 12 horas/dia), entre os dias 7 aos 16 da embriogênese, não afetou a eclodibilidade e diminuiu a temperatura corporal dos pintos na eclosão e até 28º dia de vida, quando comparado ao tratamento padrão. Além disso, nessas mesmas aves, após passar por desafio térmico na criação (32°C por 5 horas diárias) a partir do 34º dia, uma maior saturação de O₂ e redução da pCO₂ foram observadas, sugerindo uma adaptação respiratória a longo prazo. No abate, tinham 8% menos gordura abdominal relativa e o rendimento do músculo do peito se apresentou maior, sem alterar características como pH, cor ou perda por gotejamento. Um menor estado de estresse também pode ser identificado nas aves MT, pois demonstraram menor relação heterófilo/linfócito. Foi concluído que a fisiologia dos frangos de corte foi modificada pela MT a longo prazo, os quais apresentaram termotolerância ao calor ambiente, não afetando a qualidade da carne do peito (Loyau *et al.* 2013).

Em um estudo recente, Iraqi *et al.* (2024) demonstraram que aumentar a temperatura de incubação para 39,5°C por 4 horas diariamente do 12º ao 18º dia, não só melhorou algumas características de eclosão, como também a adaptação da ave ao estresse por calor no período de criação e o seu desempenho. Portanto, os autores recomendaram aplicar MT alta e intermitente para a obtenção de máximo benefício na produção comercial de frangos de corte.

Ainda com relação a aplicação de altas temperaturas de forma intermitente na incubação, Colin *et al.* (2007) encontraram resultados diferentes. Os autores testaram se a MT de 39,5°C por 3 horas/dia nos dias 0 a 10 (MT precoce), 16 a 18 (MT tardia) ou ambos (MT precoce-tardia) era capaz de melhorar a termotolerância e o crescimento de frangos, e as características de qualidade da carne de peito. Os autores constataram que a aplicação da MT em todos os períodos não melhorou a aquisição de termotolerância das aves, pois foi observado que as temperaturas corporais nos dias 28, 35 e 41 de

idade, não diferiram das do grupo controle (mantidas a incubação de 37,8°C). Além disso, aos 42 dias, as aves também foram expostas a uma temperatura ambiente de 35°C por 6 horas para testar a termotolerância frente a um desafio térmico. No entanto, os grupos MT exibiram maiores taxas de mortalidade comparada ao controle, provavelmente devido à hipertermia, em que as aves apresentaram temperaturas corporais acima de 44°C. Foi justificado pelos pesquisadores que provavelmente a MT não tenha sido aplicada durante o período sensível ideal e que talvez uma estimulação adicional seja necessária para que se tenham resultados satisfatórios em longo prazo. Por outro lado, a MT tardia melhorou significativamente o rendimento do músculo do peito, sem afetar a qualidade, isso porque na última semana de embriogênese há intensa proliferação de mioblastos, e a temperatura mais alta estimulou ainda mais esse processo, resultando em maior número de fibras musculares.

Reflexo da temperatura baixa e constante no período de criação

Parâmetros ósseos e locomotores

Após aplicarem uma temperatura baixa de 36,7°C entre os dias 1 a 7 de incubação de forma constante, juntamente com uma temperatura alta de 39°C entre os dias 18 a 21 de incubação, Oviedo-Rondón *et al.* (2009), demonstraram maior incidência de frangos, aos 40 dias de idade, com dedos tortos e deformidades angulares valgo-varo (DVV), e maior porcentagem com pontuação de marcha 2 (anormalidade identificável, que tem pouco impacto na função geral).

Da Costa *et al.* (2014) demonstraram que uma baixa TCO (36,9°C) durante os primeiros quatro dias de incubação, seguida pela temperatura padrão de 37,8°C, afetou negativamente o desenvolvimento da derme e poderia causar uma redução no conteúdo de colágeno da pele da planta do pé das aves. Os autores ainda completaram que a variação da gravidade dessas lesões pode ser afetada pelo tempo de exposição a determinadas temperaturas na embriogênese. Ipek e Sozcu (2016), no entanto, encontraram resultados contrários aplicando uma temperatura ainda mais baixa (TCO 33,3°C a 36,7°C), de forma constante, em outro período da incubação (10º a 18º dia) e comparando-a com um tratamento com temperatura alta (38,9°C a 40°C) e um controle (37,8°C a 38,2°C). Foi identificado que, aos 42 dias de idade, a maior pontuação para dermatite plantar (DP) nos frangos foi 3 (evidência mínima), com menor prevalência do

grupo TCO baixa (16,3%), em comparação com os demais (alta 29,2%; controle 27,7%). As flutuações de TCO também afetaram significativamente a incidência de DJ, sendo que as aves do grupo TCO baixa foram as que menos tiveram pontuação 3, 4 e 5, consideradas mais graves. Esse grupo apresentou maior pontuação 1 e 2, ou seja, sem evidência de lesões/dermatites ou ocorrência ligeira. A pontuação de marcha também foi avaliada, em que o escore 0 (aves andam normalmente, são ágeis e equilibradas), foi de 19,1% para TCO baixa, 12,9% para o controle e 5,6% para a alta. Além disso, nenhuma ave do grupo baixa apresentou escore 4 (anormalidade grave). Esses resultados foram justificados pelo menor peso vivo das aves deste grupo.

Uma meta-análise utilizando oito experimentos com 26 incubações no total, testando perfis de temperatura e umidade variados entre os dias 0 e 18, foi realizada por Groves e Muir (2014). Os autores identificaram que a capacidade locomotora do frango de corte foi melhorada por temperaturas de incubação mais baixas que a padrão (37,8°C) durante os primeiros 15 dias de incubação, provavelmente porque essa menor temperatura aplicada promove uma eclosão mais tardia e consequentemente um menor tempo de permanência das aves no nascedouro, sendo este fator associado a problemas locomotores durante a criação. O parâmetro de locomoção está associado à capacidade das aves permanecerem em pé por períodos mais longos por volta das 5–6 semanas de idade. Isso é avaliado através do teste denominado *Latency-to-Lie* (LTL) ou comumente chamado de “tempo em pé” (Berg e Sanotra 2003; Weimer *et al.* 2020).

Groves e Muir (2017) avaliaram a força das pernas e presença de anormalidades (assimetria das pernas, dermatite nas patas, hematomas no jarrete e lesões de DT, sendo uma escala de 0 a 4, onde 0=nenhuma lesão e 4=lesões que se estendem completamente através da placa de crescimento tibial), aos 34 e 42 dias de idade. Os ovos foram incubados em TCO iniciais baixas (36,9°C a 37,3°C), que foram gradualmente aumentadas para 37,8°C durante os primeiros 7 a 15 dias de incubação, comparando-os com ovos incubados a TCO constante de 37,8°C (controle) durante os primeiros 18 dias. Em geral, as aves exibiram alta prevalência (42,3%) de lesões DT quando examinadas em ambas as idades. Aquelas do grupo controle foram as que, significativamente, menos apresentaram lesão 0 e as que mais apresentaram, numericamente, pontuações de DT 1 e 4. Também ficou aparente que aves que tiveram maiores pontuações de DT ficaram por menos tempo no LTL, indicando que lesões mais graves dessa doença estão associadas a menor força e mobilidade das pernas. Estas mesmas aves eclodiram mais cedo e ficaram mais tempo no nascedouro, o que foi associado a uma maior fraqueza

nas pernas, e também cresceram mais rapidamente nos primeiros 7 dias de vida, associando assim o crescimento inicial rápido ao desenvolvimento de DT. Dessa forma, concluíram que o desenvolvimento ósseo pode ser melhorado flutuando a temperatura de incubação a partir de 1°C a menos da temperatura padrão na segunda metade da incubação.

Apesar de esses benefícios terem sido demonstrados, em um estudo mais recente (Muir e Groves 2019), os autores relataram que diferentes linhagens podem apresentar diferentes tempos de eclosão e assim determinados tempos de permanência no nascedouro. Por isso compararam o efeito das mesmas TCO anteriores na força da perna de duas linhagens predominantes de frangos de corte comerciais (linhagem 1 x linhagem 2). Para os parâmetros produtivos de consumo de ração e CA, foram observadas interações significativas apenas dos dias 0 a 7 de idade, em que nos pintinhos da linhagem 1 x controle se apresentaram mais altas. A CA de ambas as linhagens submetidas a modificação térmica foi a mais eficiente. Com 5 semanas de idade, a LTL das aves da linhagem 1 e 2 submetidas a temperaturas modificadas foram maiores e significativamente diferentes daquelas submetidas à temperatura controle. Sendo assim, esse estudo aumentou a evidência de que a incubação com temperatura inicialmente baixa melhora significativamente a força das pernas em frangos de corte. No entanto, a TCO inicial ideal precisa ser avaliada para cada linhagem de frango, para evitar o impacto potencialmente prejudicial de uma temperatura mais baixa.

Güz *et al.* (2020) não encontraram impactos positivos ou negativos no desenvolvimento ósseo (características morfológicas, biofísicas e mecânicas da tíbia) de frangos em idade de abate quando estes foram submetidos na última semana de incubação a uma temperatura 1,1°C menor (36,7°C). Um efeito negativo foi registrado apenas nas análises de fração de volume da tíbia e de energia para fratura. Os autores relataram que os resultados são melhores quando se mantém a temperatura padrão (37,8°C). Da mesma forma, Morita *et al.* (2020) revelaram que o desenvolvimento fetal sob temperatura baixa (36°C) constante, do 13º dia até a eclosão, não afeta as características ósseas (femorais e tibiotársicas) dos frangos de corte em idade de abate. Porém, quando as aves são criadas sob condições de estresse térmico (5°C acima da temperatura recomendada para a linhagem), os efeitos no comprimento do osso da perna e no perímetro da diáfise, principalmente nos tibiotarsos, e no conteúdo de cinzas e Ca femoral, são minimizados pela temperatura baixa de incubação, quando comparada aos

demais tratamentos. Os pesquisadores explicam que os mecanismos pelos quais isso ocorre não são claros e ainda precisam ser determinados.

Parâmetros de desempenho e abate

Joseph *et al.* (2006) testaram o efeito de uma baixa TCO constante (36,7°) no início da incubação (1° ao 10°dia) sob o desempenho e rendimento de carne de peito de frangos de corte com 6 semanas. Nos demais períodos do desenvolvimento embrionário, a TCO foi ajustada para a temperatura padrão de 37,8°C, assim como foi realizado um tratamento controle nessa mesma condição padrão ao longo de toda a incubação. Na 3^a e 6^a semana de idade, as aves oriundas da TCO baixa apresentaram menor ganho de peso e peso corporal. Além disso, houve a diminuição do peso da carcaça e do filé de peito, e o aumento da gordura abdominal. Dessa forma, os autores constataram que o desempenho pós-eclosão é comprometido pela modificação da temperatura para baixa e constante na incubação, e sugeriram pesquisas adicionais que estudassem fatores regulatórios miogênicos e diferenciação muscular que possam explicar nessas condições.

Ipek *et al.* (2014b), após aplicarem TCO baixa (33,3 a 36,7°C), controle (37,8 a 38,2°C) e alta (38,9 a 40°C) durante o 10° ao 18° dia de incubação, verificaram que o peso corporal das aves do tratamento baixo foi menor, tanto no dia 1 quanto no dia 7 de criação, quando comparado aos demais. Apesar disso, não foram observadas diferenças no consumo de ração, CA e mortalidade entre os tratamentos nesta fase.

Após uma incubação de 37,8°C na primeira semana, entre os dias 7 a 10, e 10 a 13, Janisch *et al.* (2015) incubaram os ovos em uma temperatura mais baixa (Grupo L: 36,8°C), sendo mantido um grupo controle incubado a 37,8°C durante todo o período. Após a eclosão, as aves do controle e do grupo L foram alojadas em baias separadas e manejadas convencionalmente. Aos 35 dias de idade, uma amostra de cada grupo foi selecionada para serem abatidas e obter assim parâmetros necessários para os resultados. O grupo L apresentou menor peso corporal e, embora o rendimento de coxa tenha sido maior que o controle, o peso e rendimento de carcaça, assim como o rendimento de grandes músculos peitorais (*MPS*), não diferiram. Em relação aos parâmetros de qualidade da carne, o pH, a perda por gotejamento e a vermelhidão da carne (*a**) não diferiram do controle. Porém, apesar da força de cisalhamento menor, a perda de grelha e luminosidade da carne (*L**) se apresentaram maiores. Sendo assim, o

estudo concluiu que a temperatura baixa e constante de incubação durante o período inicial da embriogênese tem impactos negativos ou nulos no crescimento, nas características da carcaça e também nas características de qualidade da carne.

Wijnen *et al.* (2020) testaram se uma TCO mais alta (38,9°C) que a padrão (37,8°C) aplicada na 2^a semana de incubação em combinação ou não com uma TCO mais baixa (36,7°C) na 3^a semana, estimula o desenvolvimento embrionário e o subsequente desempenho de frangos de corte. Os resultados constataram que não houve interação entre as TCO aplicadas na 2^a e 3^a semanas para nenhuma das variáveis analisadas. Avaliando os tratamentos individualmente, o desempenho das aves também não foi afetado pela TCO alta na 2^a semana, no entanto, a TCO baixa resultou em aves com menor PC e ganho de peso na idade de abate do que as do tratamento controle.

Foi demonstrado por Morita *et al.* (2020) que as aves dos tratamentos de incubação (36°C – baixa; 37,8°C – controle; e 39°C – alta; do 13º dia até a eclosão) apresentaram diminuição do PC quando foram submetidos a alta temperatura de criação (5°C acima da temperatura ambiente recomendada), sendo de 19,4%, 24,7% e 22%, respectivamente. Isso indicou que a temperatura de incubação baixa e alta minimizou os efeitos da alta temperatura de criação no PC, e que a temperatura de incubação baixa teve um efeito melhor em comparação à temperatura de incubação alta.

Agyekum *et al.* (2022) utilizaram as temperaturas 36,5°C (mais baixa), 37°C (baixa) e 37,5°C (padrão) constante, a partir do 15º dia até o nascimento. Os pintos nascidos de cada tratamento foram criados em baias por 8 semanas para avaliar características de desempenho e ósseas. Os níveis ósseos de Ca e P nos pintos de um dia aumentaram com a temperatura de incubação, seguindo a mesma tendência nas semanas 4 e 8 de criação. Com relação às características de desempenho, observou-se diferenças na semana 5, em que o consumo de ração diminuiu com o aumento da temperatura, provocando queda no ganho de peso e aumento da CA. Nos demais períodos não houve diferenças significativas.

Reflexo da manipulação térmica baixa e intermitente no período de criação

Parâmetros ósseos e locomotores

Relembrando o estudo de Yalcin *et al.* (2007), eles dividiram e incubaram ovos férteis em 5 grupos nas seguintes temperaturas: grupo 1) controle - 37,8°C; grupo 2)

36,9°C por 6 h/dia entre dia 0 a 8; grupo 3) 36,9°C por 6 h/dia entre os dias 10 e 18; grupo 4) 39°C por 6 h/dia entre os dias 0 e 8; e grupo 5) 39°C por 6 h/dia entre os dias 10 e 18 de incubação. Assim como o grupo 4 (quente inicial), os autores identificaram que as aves que foram expostas a baixas temperaturas no estágio inicial da incubação (grupo 2) também apresentaram incidência de DT aos 49 dias de idade. Nenhum efeito foi perceptível quando os ovos foram resfriados ou aquecidos no período tardio da incubação (10 a 18 dias).

Parâmetros de desempenho e abate

Shinder *et al.* (2011) concluíram que embriões expostos ao frio de forma intermitente durante a embriogênese tardia (15°C e 60% de UR por 30 min/dia nos dias 18 e 19 de incubação) reduziram significativamente (26%) a incidência de ascite e melhoraram a taxa de crescimento sob condições padrão de criação ou sob condições consideradas indutoras de ascite (exposição dos frangos a baixa temperatura ambiental e fornecimento de dieta peletizada). Os autores explicaram que esses resultados podem estar relacionados a uma adaptação epigenética pré-natal dos sistemas termorregulador e cardiovascular à baixa temperatura ambiente.

Termotolerância

A fim de verificar se uma temperatura fria (15°C) aplicada de forma intermitente na fase final da incubação causava melhora da tolerância ao frio pós-eclosão e no desenvolvimento da síndrome de ascite, Shinder *et al.* (2009) definiram os seguintes tratamentos: T1 – controle (37,8°C); T2 – duas exposições ao frio (30 min. em uma sala especial com ambiente controlado, no dia 18 e 19 de incubação); T3 – três exposições ao frio (30 min., uma do dia 18 e duas no dia 19); e T4 – duas exposições ao frio (60 min., no dia 18 e 19). Com 3 e 14 dias de idade, as aves nascidas foram submetidas a um desafio por frio de 10°C por 3 horas, sendo analisada a temperatura corporal. Condições indutoras de ascite, ou seja, temperaturas de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ até 21°C dia, seguido de exposição a $15 \pm 1^\circ\text{C}$ até o abate, também foram aplicadas às aves nascidas de cada tratamento. Com os resultados, os autores demonstraram que a taxa metabólica foi afetada com efeito positivo nos parâmetros de desempenho pós-eclosão. O tratamento que se mostrou mais eficaz na indução da termotolerância na fase de criação foi o T4,

em que as aves apresentaram recuperação de uma temperatura corporal normal após 60 minutos expostas ao frio. Além disso, os 3 tratamentos reduziram a taxa de desenvolvimento de ascite em 13 a 18%, quando comparado ao controle, sugerindo que todos eles induziram diminuição da susceptibilidade ao frio e consequentemente à síndrome ascítica. No entanto, apesar dos resultados favoráveis, o efeito negativo foi manifestado pelo desempenho. As aves expostas ao frio tiveram que aumentar o gasto de energia para manutenção, o que levou a um PC menor. Por outro lado, aquelas expostas ao frio no período pré-natal e criadas em condições não desafiadoras exibiram um PC maior.

Loyau *et al.* (2014) utilizaram dois tratamentos na incubação, em que o grupo controle recebia 37,6°C de 1 a 18 dias de incubação e UR de 58%, e o outro, denominado de grupo frio I, seguia a mesma temperatura e umidade do controle exceto que, entre o 10º ao 18º dia de incubação, os ovos eram expostos a uma temperatura de 36,6°C por 6 horas ao dia. Após o nascimento, os pintinhos foram divididos em três grupos: 1) controle T – criados em condições ótimas de temperatura até os 42 dias (32°C do dia 1 ao 5 e gradualmente reduzida e fixada em 24°C); 2) aclimatação + frio T – mesmas temperaturas do grupo controle, exceto que houve uma aclimatação ao frio aos 5 dias, e do dia 22 ao 25, expondo-os a $18 \pm 2^\circ\text{C}$ por 6h; e 3) Frio T – temperaturas igual a do controle, exceto que do dia 22 ao 25, foram expostos a $18 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24h. Observou-se que não houve efeitos significativos da temperatura de incubação nos hormônios T₃ e T₄ séricos das aves com 5 dias de idade. Porém, aos 25 dias, as aves do grupo aclimatação + frio T exibiram maiores concentrações de T₃ do que os demais grupos. Uma hipótese dos autores é de que as concentrações de T₃ foram afetadas devido a diferentes atividades de desiodação durante a exposição ao frio, o que resultou nesse aumento da concentração, e que essa incubação cicличamente fria só altera vias envolvidas no metabolismo energético em longo prazo. Os mecanismos envolvidos nesse processo, no entanto, continuam desconhecidos. Sendo assim, os autores presumiram que a temperatura de incubação fria e intermitente pode melhorar a saúde e bem-estar das aves e sua termotolerância quando, na fase de criação são expostas a ambientes frios.

Considerações finais

Com os estudos analisados nesta revisão, nota-se que quando aplicadas de forma intermitente, as temperaturas de incubação, tanto altas quanto baixas, parecem promover melhores resultados de desempenho e de termotolerância nas aves de corte do que aquelas aplicadas de forma constante. A temperatura baixa e constante, por sua vez, apresenta, na maioria dos estudos apontados, impactos positivos para diversas análises ósseas e locomotoras, o que não foi observado nas demais modificações e manipulações térmicas.

Em geral, observa-se que há escassez de estudos e de dados mais uniformes que investiguem os efeitos da temperatura de incubação modificada em diferentes fases da embriogênese sobre características ósseas e de desempenho em frangos de corte, principalmente que abordem a manipulação térmica (Tabela 1). Pesquisas voltadas para avaliar a aquisição da termotolerância e de alguns parâmetros zootécnicos são mais frequentes. A maioria das efetuadas até então, apresentam resultados diferentes, sendo eles positivos e/ou negativos para esses perfis de incubação. Dessa forma, estudos adicionais podem ser realizados para refinar os dados já existentes, e ajudar a definir como, qual, quando e por quanto tempo o estímulo térmico deve ser aplicado para obterem-se resultados satisfatórios. Com isso, a indústria avícola pode levar esses achados para a sua prática rotineira e adquirir lotes com melhor estrutura e resistência corporal, assim como melhor desempenho geral.

Referências

- Akşit, M., Yalçın, S., Yenisey, Ç., e Özdemir, D. 2010. "Brooding temperatures for chicks acclimated to heat during incubation: effects on post-hatch intestinal development and body weight under heat stress". *British Poultry Science* 51 (3): 444-452.
- Al-Amaz, S., e Mishra, B. 2024. "Embryonic thermal manipulation: a potential strategy to mitigate heat stress in broiler chickens for sustainable poultry production". *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15:75.
- Al-Zghoul, M., Isail, Z. B., Dalab, A. E. S., Al-Ramadan, A., Althnaian, T. A., Al-Ramadan, S. Y., Ali, A. M., Albokhadaim, I. F., Busadah, K. A. A., Eljarah, A., Jawasreh, K. I., e Hannon, K. M. 2015. "Hsp90, Hsp60 and HSF-1 genes expression in muscle, heart and brain of thermally manipulated broiler chicken". *Research in Veterinary Science*, 99: 105–111.

- Amjadian, T., e Shahir, M. H. 2020. "Effects of repeated thermal manipulation of broiler embryos on hatchability, chick quality, and post-hatch performance". *International Journal of Biometeorology*, 64 (12): 2177-2183.
- Avsar, K. O., Ucar, A., Özlü, S., e Elibol, O. 2022. "Effect of high eggshell temperature during the early period of incubation on hatchability, hatch time, residual yolk, and first-week broiler performance". *Applied Poultry Research*, 31.
- Aygun, A., e Narinc, D. 2016. "The Effects of Thermal Manipulations During Embryogenesis of Broiler Chicks on Growth of Embryo and Skeletal Traits". *Anais da Conferência AIP*, 1726 (1).
- Azevedo, I. L. 2022. "Influência da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento ósseo de embriões e pintos de corte recém-eclodidos". 121 f. *Tese (Doutorado)* – Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador.
- Baarendse, P. J. J., Debonne, M., Decuypere, E., Kemp, B., e Van Den Brand, H. 2020. "Ontogeny of avian thermoregulation from a neural point of view". *World's Poultry Science Journal*, 63: 267-276.
- Barott, H. G. 1937. "Effect of temperature, humidity and other factors on hatch of hen's eggs and on energy metabolism of chick embryos". *Technical Bulletin*, Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da America, 553: 1-45.
- Belnap, S. C., Currea, J. P., e Lickliter, R. 2019. "Prenatal incubation temperature affects neonatal precocial birds' locomotor behavior". *Physiology & Behavior*, 206: 51–5.
- Brookes, M. U., e May, K. U. 1972. "The influence of temperature on bone growth in the chick". *Journal of Anatomy*, 111: 351–363.
- Carsia, R. V., e Harvey, S. 2000. "Adrenals". In: Whittow, G. C. (Ed.). *Sturkie's Avian Physiology*, Academic Press, California, 489-537.
- Colin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Requena Rodón, F. E., Skiba-Cassy, S., Crochet, S., Duclos, M. J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggeman, V., DECUYPERE, E., PICARD, M., e YAHAV, S. 2007. "Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens". *Poultry Science*, 86: 795–800.
- Costa, B. T. A., Lopes, T. S. B., Mesquita, M. A., Lara, L. J. C., e Araújo, I. C. S. 2020. "Thermal manipulations of birds during embryogenesis". *World's Poultry Science Journal*, 76: 4.
- Da Costa, M. J., Eviedo-Rondón, E. O., Wineland, M. J., Wilson, J., e Montiel, E. 2014. "Effects of breeder feeding restriction programs and incubation temperatures on progeny footpad development". *Poultry Science*, 93: 1900–1909.
- Darras, V. D., Van Der Geyten, S., e Kühn, E. R. 2000. "Thyroid hormone metabolism in poultry". *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 4: 13-20.

- Debonne, M., Baarendse, P. J. J., Van Den Brand, H., Kemp, B., Bruggeman, V., e Decuypere, E. 2008. "Involvement of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and its interaction with the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the ontogeny of avian thermoregulation: a review". *World's Poultry Science Journal*, 64: 309-321.
- Decuypere, E., e Michels, H. 1992. "Incubation temperature as a management tool: a review". *World's Poultry Science Journal*, 48: 28-38.
- Decuypere, E., e Bruggeman, V. 2005. "Endocrine aspects of development: new challenges for the control of incubation process". *World's Poultry Science Journal*, 61: 278-284.
- Elsayed, N. A. M., Elkomy, A. E., El-Saadany, A. S., e Hassan, E. Y. 2009. "New suggested schemes for incubation temperature and their effect on embryonic development and hatching power". *Asian Journal of Poultry Science*, 3(1): 19-29.
- El-Shater, S. N., Rizk, H., Abdelrahman, H. A., Awad, M. A., Khalifa, E. F., e Khalil, K. M. 2021. "Embryonic thermal manipulation of Japanese quail: effects on embryonic development, hatchability, and post-hatch performance". *Tropical Animal Health and Production*, 53(263).
- Flores, F., Nääs, I. A., Garcia, R. G., e Souza, L. I. 2016. "Thermal stimulation of Ross®-lineage embryos on a commercial scale". *Ciência Rural*, Santa Maria, 46(9): 1668-1674.
- Freeman, B. M. 1964. "The emergence of the homeothermic-metabolic response in the fowl (*Gallus domesticus*)". *Comparative Biochemistry and Physiology*, 13: 413-422.
- Freeman, B. M., e Vince, M. A. 1974. "Incubation requirements". In: Freeman, B. M., e Vince, M. A. *Development of the avian embryo*. London, UK: Chapman and Hall.
- French, N. A. 1997. "Modelling incubation temperature: the effect of incubator design, embryonic development and egg size". *Poultry Science*, 76: 124 – 133.
- French, N. A. 2009. "The critical importance of incubation temperature". *Avian Biology Research*, 2: 55 – 59.
- Furlan, R. L., e Macari, M. 2008. "Termorregulação". *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*, Ed.2^a, 209–230.
- Givisiez, P. E. N., Siva, M. M., Mazzi, C. M., Ferro, M. I. T., Ferro, J. A., Gonzales, E., e Macari, M. 2000. "Heat or cold chronic stress affects organ weights and Hsp70 levels in chicken embryos". *Canadian Journal of Animal Science*.
- Groves, P., e Muir, W. A. 2014. "Meta-analysis of experiments linking incubation conditions with subsequent leg weakness in broiler chickens". *PLoS One*. 9(7).
- Groves, P. J., e Muir, W. I. 2017. "Earlier hatching time predisposes Cobb broiler chickens to tibial dyschondroplasia". *Animal*, 11(1): 112–120.

- Güz, B. C., Molenaar, R., De Jong, I. C., Kemp, B., Van Krimpen, M., e Van Den Brand, H. 2020. "Effects of eggshell temperature pattern during incubation on tibia characteristics of broiler chickens at slaughter age". *Poultry Science*, 99: 3020-3029.
- Hammond, C. L., Simbi, B. H., e Stickland, N. C. 2007. "In-ovo temperature manipulation influences embryonic motility and growth of limb tissues in the chick (*Gallus domesticus*)". *The Journal of Experimental Biology*, 210: 2667–2675.
- Hulet, R. M., e R. Meijerhof. 2001. "Real time incubation temperature control and heat production of broiler eggs". *Poultry Science*, 80(1): 128.
- Hulet, R., Gladys, G., Hill, D., Meijerhof, R., e El Shiekh, T. 2007. "Influence of eggshell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics". *Poultry Science*, 86: 408-412.
- Ikefuti, J. F. 2018. "Melhoria no rendimento de incubação em função da manipulação térmica de ovos de pesos distintos de matriz leve". *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Brasil.
- Iqbal, M. K., Liu, J., Nabi, F., Rehman, M. U., Zhand, H., Tahir, A. H., e LI, J. 2016. "Recovery of Chicken Growth Plate by Heat-Shock Protein 90 Inhibitors Epigallocatechin-3-Gallate and Apigenin in Thiram-Induced Tibial Dyschondroplasia". *Avian Disease*, 60(4): 773–778.
- Ipek, A., Sahan, U., Baycan, S. C., e Sozcu, A. 2014a. "The effects of different eggshell temperatures on embryonic development, hatchability, chick quality, and first-week broiler performance". *Poultry Science*, 93: 464–472.
- Ipek, A., Sahan, U., Baycan, S. C., e Sozcu, A. 2014b. "The effects of different eggshell temperatures on embryonic development, hatchability, chick quality, and first-week broiler performance". *Poultry Science*, 93(2): 464-472.
- Ipek, A., Sahan, U., e Sozcu, A. 2015. "The Effects of Different Eggshell Temperatures Between Embryonic Day 10 and 18 on Broiler Performance and Susceptibility to Ascites". *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(3): 387-394.
- Ipek; A., e Sozcu, A. 2016. "The effects of egg-shell temperature fluctuations during incubation on welfare status and gait score of broilers". *Poultry Science*, 95: 1296–1303.
- Iraqi, E., Hady, A. A., Elsayed, N., Khalil, H., El-Saadany, A., El-Sabrout, K. 2024. "Effect of thermal manipulation on embryonic development, hatching process, and chick quality under heat-stress conditions". *Poultry Science*, 103: 103257.

- Janish, S., Sharifi, A. S., Wicke, M., e Krischek, C. 2015. "Changing the incubation temperature during embryonic myogenesis influences the weight performance and meat quality of male and female broilers". *Poultry Science*, 94(10): 2581-2588.
- Joseph, N. S., Lourens, A., e Moran Jr, E. T. 2006. "The Effects of Suboptimal Eggshell Temperature During Incubation on Broiler Chick Quality, Live Performance, and Further Processing Yield". *Poultry Science*, 85: 932-938.
- Kettrukat, T., Grochowska, E., e Therkildsen, M. 2023. "The effect of incubation temperature on the development of the locomotory system and welfare in broiler chickens: A review". *Livestock Science*, 276.
- Krausova, T., e Peterka, M. 2007. "Teratogenic and lethal effects of 2-24 h hyperthermia episodes on chick embryos". *Journal of Thermal Biology*, 32: 193-203.
- Krischek, C., Kuembet, U., Wicke, M., e Gerken, M. 2013. "A higher incubation temperature between embryonic day 3 and 6 influences growth and meat quality characteristics of broiler after hatch". *Arch.Geflügelk.*, 77(1): 59- 65.
- Leandro, N. S. M., E. Gonzales, J. A. Ferro, M. I. T. Ferro, P. E. N. Givisiez, e M. Macari. 2004. "Expression of Heat Shock Protein in Broiler Embryo Tissues after Acute Cold or Heat Stress". *Molecular Reproduction and Development*, 67: 172-177.
- Lin, Y. M., Druyan, S., Yahav, S., e Brake, J. 2017. "Thermal treatments prior to and during the beginning of incubation affects development of the broiler embryo and yolk sac membranes, and live performance and carcass characteristics". *Poultry Science*, 96(6): 1939-1947.
- Loh, B., Maier, I., Winar, A., Janke, O., e Tzschenk, B. 2004. "Prenatal development of epigenetic adaptation process in poultry: changes in metabolic and neuronal thermoregulatory mechanisms". *Avian and Poultry Biology Reviews*, 15: 119-127.
- Lourens, A., Van Den Brand, H., Meijerhof, R., e Kemp, B. 2005. "Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and post-hatch development". *Poultry Science*, 84: 914-920.
- Lourens, A., Van Den Brand, H., Heetkamp, M. J. W., Meijerhof, R., e Kemp, B. 2007. "Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation". *Poultry Science*, 86: 2194-2199.
- Loyau, T., Berri, C., Bedrani, L., Métayer-Coustard, S., Praud, C., Duclos, M. J., Tesseraud, S., Rideau, N., Everaert, N., Yahav, S., Migon-Grasteau, S., e Collin, A. 2013. "Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality". *Journal of Animal Science*, 91: 3674-3685.
- Loyau, T., Collin, A., Yenisey, Ç., Crochet, S., Siegel, P. B., Aksit, M., e Yalçın, S. 2014. "Exposure of embryos to cyclically cold incubation temperatures durably affects energy metabolism and antioxidant pathways in broiler chickens". *Poultry Science*, 93: 2078-2086.

- Loyau, T., Hennequet-Antier, C., Coustham, V., Berri, C., Leduc, M., Crochet, S., Sannier, M., Duclos, M. J., Mignon-Grasteau, S., Tesseraud, S., Brionne, A., Métayer-Coustdard, S., Moroldo, M., Lecardonnel, J., Martin, P., Lagarrigue, S., Yahav, S., e Colin, A. 2016. "Thermal manipulation of the chicken embryo triggers differential gene expression in response to a later heat challenge". *BMC Genomics*, 17: 329.
- Macari, M., e Maiorka, A. 2017. "A fisiologia das aves comerciais". Funep, Jaboticabal, São Paulo Ed. 2: 192–199.
- Mcnabb, A. F. M. 2007. "The Hypothalamic-Pituitary-Thyroid (HPT) Axis in Birds and Its Role in Bird Development and Reproduction". *Critical Reviews in Toxicology*, 37: 163–193.
- Meijerhof, R. 2009. "The influence of incubation on chick quality and broiler performance". In *Proceedings of the 20th Australian Poultry Science Symposium*, 167–176, New South Wales, Sydney, Austrália.
- Meijerhof, R. 2013. "Aspectos físicos da incubação e sua relação com o desenvolvimento embrionário". In: Macari, M.; Gonzales, E.; Patrício, I. S.; Nääs, I. A.; Martins, P. C. *Manejo da Incubação*. 3. ed., FACTA, cap. 2.3: 121-132.
- Molenaar, R., Reijrink, I. A. M., Meijerhof, R., e Van Den Brand, H. 2010. "Meeting Embryonic Requirements of Broilers Throughout Incubation: A Review". *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12(3): 137 – 148.
- Molenaar, R., Hulet, R., Meijerhof, R., Maatjens, C. M., Kemp, B., e Brand, H. V. D. 2011. "High eggshell temperatures during incubation decrease growth performance and increase the incidence of ascites in broiler chickens". *Poultry Science*, 90: 624–632.
- Morita, V. S., Almeida, V. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Van Den Brand, H., e Boleli, I. C. 2016a. "Incubation Temperature during Fetal Development Influences Morphophysiological Characteristics and Preferred Ambient Temperature of Chicken Hatchlings". *PLoS ONE*, 11(5).
- Morita, V. S., Almeida, V. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Van Den Brand, H., e Boleli I. C. 2016b. "Incubation temperature alters thermal preference and response to heat stress of broiler chickens along the rearing phase". *Poultry Science*, 95: 1795–1804.
- Morita, V. S., Almeida, A. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Zanirato, G. L., e Boleli, I. C. 2020. "Neither altered incubation temperature during fetal development nor preferred rearing temperature improves leg bone characteristics of broilers". *Journal of Thermal Biology*, 93: 102726.
- Muir, W. I., e Groves, P. J. 2019. "The length strength of two commercial strains of meat chicken subjected to different incubation profiles". *Animal*, 13(7): 1489-1497.
- Narinç, D., Erdogan, S., Tahtabiçen, E., e Aksoy, T. 2016. "Effects of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chickens on developmental stability, hatchability and chick quality". *Animal*, 10(8): 1328–1335.

- Nichelmann, M., Janke, O., Hochel, J., e Tzschenk, B. 2001. "Development of physiological control systems in avian embryos". *New Biomed Science*, 15-25.
- Nichelmann, M., e Tzschenk, B. 2002. "Ontogeny of thermoregulatory in precocial birds". *Comparative Biochemistry and Physiology*, 14(1): 751-763.
- Oksbjer, N., Jensen, J. A., Petersen, J. S., e Therkildsen, M. 2019. "Incubation temperature effects on muscle weight, bone strength and walking ability in broilers". *European Poultry Science*, 83.
- Oviedo-Rondón, E. O., Small, J., Wineland, M. J., Christensen, V. L., Mozdziak, P. S., Koci, M. D., Funderburk, S. V. L., Ort.; D. T., Mann, K. M. 2008a. "Effects of incubator temperature and oxygen concentration during the plateau stage of oxygen consumption on turkey embryo long bone development". *Poultry Science* 87: 1484–1492.
- Oviedo-Rondón, E. O., Small, J., Wineland, M. J., Christensen, V. L., Mozdziak, P. S., Koci, M. D., Funderburk, S. V. L., Ort.; D. T., Mann, K. M. 2008b. "Broiler embryo bone development is influenced by incubator temperature, oxygen concentration and eggshell conductance at the plateau stage in oxygen consumption". *British Poultry Science* 49: 666–676.
- Oviedo-Rondón, E. O., Wineland, M. J., Small, J., Cutchin, H., McElroy, A., Barri, A., e Martin, S. 2009. "Effect of incubation temperatures and chick transportation conditions on bone development and leg health". *Journal of Applied Poultry Research* 18: 671–678.
- Oznurlu, Y., Sur, E., Ozaydin, T., Celik, I., e Uluisik, D. 2016. "Histological and histochemical evaluations on the effects of high incubation temperature on the embryonic development of tibial growth plate in broiler chickens". *Microscopy Research and Technique* 79: 106–110.
- Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Brake, J., e Yahav, S. 2008. "Thermal Manipulations During Broiler Embryogenesis: Effect on the Acquisition of Thermotolerance". *Poultry Science*, 87: 1516–1525.
- Piestun, Y., Halevy, O., e Yahav, S. 2009. "Thermal manipulations of broiler embryos- The effect on thermoregulation and development during embryogenesis". *Poultry Science* 88(12): 2677-2688.
- Piestun, Y., Halevy, O., Shinder, D., Ruzal, M., Druyan, S., e Yahav, S. 2011. "Thermal manipulations during broiler embryogenesis improves post-hatch performance under hot conditions". *Journal of Thermal Biology* 36(7): 469–474.
- Piestun, Y., Druyan, S., Brake, J., e Yahav, S. 2013. "Thermal manipulations during broiler incubation alter performance of broilers to 70 days of age". *Poultry Science* 92: 1155–1163.
- Rajkumar, U., Vinoth, A., Shanmugam, M., Rajaravindra, K. S., e Rama Rao, S. V. 2016. "Effect of increased incubation temperature on Hsp 90 and 60 gene expressions in coloured broiler chickens". *Journal of Applied Animal Research* 45(1): 298-303.

- Romanoff, A. L. 1972. "Assimilation of avian yolk and albumen under normal and extreme incubating temperatures". *Pathogenesis of the avian embryo*. Wiley-Interscience, New York, NY.
- Shehata, A. M., Saadeldin, I. M., Tukur, H. A., e Habashy, W. S. 2020. "Modulation of Heat-Shock Proteins Mediates Chicken Cell Survival against Thermal Stress". *Animals* 10: 2407.
- Shim, M. Y., e Pesti, G. M. 2011. "Effects of incubation temperature on the bone development of broilers". *Poultry Science* 90: 1867–1877.
- Shinder, D., Rusal, M., Giloh, M., e Yahav, S. 2009. "Effect of repetitive acute cold exposures during the last phase of broiler embryogenesis on cold resistance through the life span". *Poultry Science* 88: 636–646.
- Shinder, D., Ruzal, M., Giloh, M., Druyan, S., Piestun, Y., e Yahav, S. 2011. "Improvement of cold resistance and performance of broilers by acute cold exposure during late embryogenesis". *Poultry Science* 90: 633–641.
- Sozcu, A., e Ipek, A. 2015. "Acute and chronic eggshell temperature manipulations during hatching term influence hatchability, broiler performance, and ascites incidence". *Poultry Science* 94: 319–327.
- Sozcu, A., Ipek, A., e Van Den Brand, H. 2022. "Eggshell temperature during early and late incubation affects embryo and hatchling development in broiler chicks". *Poultry Science* 101.
- Staib, J. L., Quindry, J. C., French, J. P., Criswell, D. S., e Powers, S. K. 2007. "Increased temperature, not cardiac load, activates heat shock transcription factor 1 and heat shock protein 72 expression in the heart". *The American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 292: 432–439.
- Tazawa, H., Mikami, T., e Yoshimoto, C. 1971. "Effect of reducing the shell área on the respiratory properties of chicken embryonic blood". *Respiration Physiology* 13: 352–360.
- Tazawa, H., e Rahn, H. 1987. "Temperature and metabolism of chick embryos and hatchlings after prolonged cooling". *The Journal of experimental zoology* 105-109.
- Tazawa, H., Chiba, Y., Khandoker, A. H., Dzialowski, E. M., e Burggren, W. W. 2004. "Early development of thermoregulatory competence in chickens: Responses of heart rate oxygen uptake to altered ambient temperatures. Heart function, circulation and respiration in embryo and hatching". In: Tzschenk, B., e Janke, O. *Avian and Poultry Biology Reviews, Fundamental Physiology and Perinatal Development in Poultry*. Ed. Sci. Rev. Inc., Chicago, IL. 166–176.
- Tzschenk, B., e Plagemann, A. 2006. "Imprinting and critical periods in early development". *World's Poultry Science Journal* 62: 626-637.
- Tzschenk, B. 2007. "Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors". *Poultry Science* 86: 1025-1036.

- Tzschentke, B., e Halle, I. 2009. "Influence of temperature stimulation during the last 4 days of incubation on secondary sex ratio and later performance in male and female broiler chicks". *British Poultry Science* 50(5): 634-640.
- Tzschentke, B., e Tatge, S. 2013. "Incubação circadiana® – Treinamento térmico embrionário para a robustez em aves". In: Macari, M., Gonzales, E., Patrício, I. S., Nääs, I. A., e Martins, P. C. *Manejo da Incubação*. 3. ed., FACTA: 136–141.
- Van Den Brand, H., Van De Kraats, S. J. F., Sözcü, A., Jöerissen, R., Heetkamp, M. J. W., Van den Anker, I., Ooms, M., e Kemp, B. 2019. "Both the rooster line and incubation temperature affect embryonic metabolism and hatching quality in laying hen crossbreds". *Poultry Science* 92: 2632–2640.
- Van Den Brand, H., Meijerhof, R., Heetkamp, M. J. W., Van Den Anker, I., Ooms, M., Kemp, B., e Molenaar, R. 2021. "Interaction between eggshell temperature and carbon dioxide concentration after day 8 of incubation on broiler chicken embryo development". *Animal* 15(6): 100223.
- Van Der Pol, C. W., Van Roovert-Reijrink, I. A. M., Maatjens, C. M., Van Den Anker, I., Kemp, B., e Van Den Brand, H. 2014. "Effect of eggshell temperature throughout incubation on broiler hatching leg bone development". *Poultry Science* 93: 2878–2883.
- Walstra, I., Napel, J., Kemp, B., e Van Den Brand, H. 2010. "Temperature manipulation during layer chick embryogenesis". *Poultry Science* 89: 1502–1508.
- Webb, D. R. 1987. "Thermal tolerance of avian embryos: a review". *The Condor* 89(4): 874–898.
- Werner, C., e Wicke, M. 2008. "Increasing the temperature at a certain period during the incubation of broiler eggs improves the carcass and breast yields without a negative impact on the meat quality". *Arch Tierz Dummerstorf*, 51(Special Issue): 11-16.
- Werner, C., Wecke, C., Liebert, F., e Wicke, M. 2010. "Increasing the incubation temperature between embryonic day 7 and 10 has no influence on the growth and slaughter characteristics as well as meat quality of broilers". *Animal* 4(5): 810–816.
- Wijnen, H. J., Molenaar, R., Roovert-Reijirink, I. A. M., Van der Pol, C. W., Kemp, B., e Van den Brand, H. 2020. "Effects of incubation temperature pattern on broiler performance". *Poultry Science* 99: 3897-3907.
- Willemse, H., Kamers, B., Dahlke, F., Han, H., Song, Z., Ansari Pirsaraei, Z., Tona, K., Decuypere, E., e Everaert, N. 2010. "High- and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers". *Poultry Science* 89: 2678–2690.
- Willemse, H., Li, Y., Willems, E., Franssens, L., Wang, Y., Decuypere, E., e Everaert, N. 2011. "Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process". *Poultry Science* 90: 1302-1312.

- Wineland, M. J., Mann, K. M., Fairchild, B. D., e Christensen, V. L. 2000. "Effect of different setter and hatcher temperatures upon the broiler embryo". *Poultry Science* 79, (1): 123.
- Yahav, S., Sasson-rath, R., e Shinder, D. 2004. "The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, body weight and thermoregulation after hatch". *Journal of Thermal Biology* 29: 245–250.
- Yair, R., Uni, Z., e Shahar, R. 2012. "Bone characteristics of late-term embryonic and hatchling broilers: Bone development under extreme growth rate". *Poultry Science* 91(10): 2614-2620.
- Yair, R., Cahaner, A., Uni, Z., e Shahar, R. 2017. "Maternal and genetic effects on broiler bone properties during incubation period". *Poultry Science* 96:2301–2311.
- Yalcin, S., e Siegel, P. B. 2003. "Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos". *Poultry Science* 82: 1388-1392.
- Yalcin, S., Molayoglu, H. B., Baka, M., Genin, O., e Pines, M. 2007. "Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the Incidence of tibial dyschondroplasia". *Poultry Science* 86: 1772-1783.
- Yalcin, S., Çabuk, M., Bruggeman, V., Babacanoglu, E., Buyse, J., Decuypere, E., e Sieg, P.B. 2008. "Acclimation to Heat During Incubation: 3. Body Weight, Cloacal Temperatures, and Blood Acid-Base Balance in Broilers Exposed to Daily High Temperatures". *Poultry Science* 87(12): 2671–2677.
- Yalcin, S., Bruggeman, V., Buyse, J., Decuypere, E., Çabuk, M., e Siegel, P. B. 2009. "Acclimation to heat during incubation: 4. Blood hormones and metabolites in broilers exposed to daily high temperatures". *Poultry Science* 88: 2006–2013.
- Yalcin, S., Aksit, M., Ozkan, S., Hassanzadeh, M., Bilgen, G., e Helva, I. B. 2022. "Effect of temperature manipulation during incubation on body weight, plasma parameters, muscle histology, and expression of myogenic genes in breast muscle of embryos and broiler chickens from two commercial strains". *British Poultry Science* 63, (1): 21-30.

APÊNDICE

Tabela 1 – Compilação de estudos sobre os efeitos significativos da temperatura de incubação nos parâmetros ósseos, locomotores e desempenho de aves de corte.

Característica	T°C alta				T°C baixa			
	Constante		Intermitente		Constante		Intermitente	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Peso, comprimento e/ou espessura de ossos longos	Oksbjerg <i>et al.</i> (2019); Güz <i>et al.</i> (2020)	---	---	Yalçin <i>et al.</i> (2007)	---	Güz <i>et al.</i> (2020)	---	Yalcin <i>et al.</i> (2007)
Cinzas nos ossos (mineralização)	Yalçin <i>et al.</i> (2007); Güz <i>et al.</i> (2020); Agyekum <i>et al.</i> (2022)	Morita <i>et al.</i> (2020)	Yalçin <i>et al.</i> (2007)	---	---	Güz <i>et al.</i> (2020)	---	---
Força e rigidez dos ossos	Güz <i>et al.</i> (2020)	Morita <i>et al.</i> (2020)	---	---	---	Güz <i>et al.</i> (2020)	---	---
Discondroplasia, valgo-varo, DJ ou outras alterações	---	Oviedo-Rondón <i>et al.</i> (2009); Ipek e Sozcu (2016);	---	Yalçin <i>et al.</i> (2007)	Groves e Muir (2017); Ipek e Sozcu (2016)	Oviedo-Rondón <i>et al.</i> (2009); Da Costa <i>et al.</i> (2014)	---	Yalcin <i>et al.</i> (2007)
Pontuação de marcha (Gait Score)	Güz <i>et al.</i> (2020)	Oviedo-Rondón <i>et al.</i> (2009); Ipek e Sozcu (2016)	---	---	Ipek e Sozcu (2016)	Oviedo-Rondón <i>et al.</i> (2009)	---	---
Capacidade de se locomover ou de ficar em pé (Latency-to-Lie)	Güz <i>et al.</i> (2020)	---	---	---	Groves e Muir (2014; 2017); Muir e Groves (2019)	---	---	---

Desempenho zootécnico (PC, GP, CA¹)	Janisch <i>et al.</i> (2015); Avsar <i>et al.</i> (2021)	Hulet <i>et al.</i> (2007); Molenaar <i>et al.</i> (2011); Sozcu e Ipek (2015); Ipek e Sozcu (2016); Morita <i>et al.</i> (2020)	Tzschentke e Halle (2009); Piestun <i>et al.</i> (2013); El-Shater <i>et al.</i> (2021)	Yalcin <i>et al.</i> (2007); Sozcu e Ipek (2015)	Muir e Groves (2019)	Joseph <i>et al.</i> (2006); Ipek <i>et al.</i> (2014b); Janisch <i>et al.</i> (2015); Wijnen <i>et al.</i> (2020)	Shinder <i>et al.</i> (2009)	Yalcin <i>et al.</i> (2007); Shinder <i>et al.</i> (2009); Shim e Pesti (2011)
Ausência de ascite	---	Molenaar <i>et al.</i> (2011); Ipek <i>et al.</i> (2015); Sozcu e Ipek (2015); Agyekum <i>et al.</i> (2022)	---	---	---	---	Shinder <i>et al.</i> (2009); Shinder <i>et al.</i> (2011)	---
Termotolerância	Morita <i>et al.</i> (2016b)	---	Aksit <i>et al.</i> (2010); Walstra <i>et al.</i> (2010); Piestun <i>et al.</i> (2011); Loyau <i>et al.</i> (2013); Yalçin <i>et al.</i> (2008); Yalcin <i>et al.</i> (2009)	Colin <i>et al.</i> (2007)	---	---	Shinder <i>et al.</i> (2009); Loyau <i>et al.</i> (2014)	---
Rendimento de carcaça	Werner e Wicke (2008); Molenaar <i>et al.</i> (2011); Janisch <i>et al.</i> (2015); Lin <i>et al.</i> (2017)	Janisch <i>et al.</i> (2015)	Colin <i>et al.</i> (2007); Piestun <i>et al.</i> (2013); El-Shater <i>et al.</i> (2021); Piestun <i>et al.</i> (2011); Loyau <i>et al.</i> (2013)	---	---	Joseph <i>et al.</i> (2006); Janisch <i>et al.</i> (2015)	---	---

¹PC – peso corporal; GP – ganho de peso; CA – conversão alimentar; DJ – Dermatite de jarrete

CAPÍTULO 1

**Perfis de temperaturas constantes durante a incubação e seus efeitos
no sistema locomotor e desempenho de frangos de corte**

4.1 Perfis de temperaturas constantes durante a incubação e seus efeitos no sistema locomotor e desempenho de frangos de corte

Resumo

A formação e crescimento dos ossos se iniciam durante a embriogênese, podendo então ser afetado pelos fatores físicos da incubação, especialmente a temperatura, que controla o desenvolvimento de diversos órgãos e estruturas corporais do embrião. O objetivo desse estudo foi avaliar se modificações na temperatura da casca do ovo, acima ou abaixo do padrão, durante a fase intermediária da incubação, afetam características fisiológicas, ósseas, locomotoras e o desempenho de frangos de corte em idade de abate. Foram incubados 2.464 ovos de matrizes Cobb 500® com 45 semanas, entre os dias 8 e 18,5 de incubação, em quatro diferentes temperaturas de casca (TCO) aplicadas de forma constante: 1) Controle (TCO de 37,8°C); 2) TCO baixa (36,7°C); 3) TCO alta (38,9°C) e 4) TCO muito alta (39,4°C). 800 pintos machos nascidos foram alojados até os 42 dias de idade em galpão experimental convencional e submetidos às condições de manejo padrão recomendada. Foram avaliados no final da criação: perfil mineral, bioquímico, hormonal e fisiológico das aves (cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, hormônio do crescimento e tireoidianos, paratormônio, vitamina D₃ e temperatura retal); características morfométricas, químicas e mecânicas dos ossos (peso, comprimento, largura, Ca, P, cinzas e resistência); existência de desordens ósseas e de locomoção (discondroplasia tibial; deformidade valgo-varo, pododermatite, *gait score* e *latency-to-lie*); desempenho zootécnico (consumo de ração, ganho de peso, peso corporal, conversão alimentar e viabilidade); e rendimento de carcaça e partes (peito, asa, coxa e sobrecoxa). A modificação da temperatura de incubação afetou a maioria das variáveis analisadas. A TCO baixa, alta e muito alta prejudicaram ($p \leq 0,05$): o desempenho das aves; o rendimento de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa; os teores séricos de PTH e FA; os níveis ósseos de Ca, P e cinzas; e o peso, comprimento e largura dos ossos. Também promoveram o surgimento das desordens ósseas/locomotoras VV e LTL ($p \leq 0,05$). Nas variáveis rendimento de asa, níveis séricos de Ca, P e vitamina D₃, resistência e desordens DT e GS observou-se que a TCO baixa e controle foram semelhantes ($p > 0,05$), sendo impactadas apenas pelas TCO alta e muito alta ($p \leq 0,05$). O GH e a PD, por sua vez, demonstraram ser negativamente influenciadas apenas pela TCO muito alta ($p \leq 0,05$). Não foram encontradas diferenças significativas para os hormônios T₃ e T₄ ($p > 0,05$). A temperatura retal foi afetada pelas TCO mais extremas (baixa e alta) ($p \leq 0,05$). De uma forma geral, para todas essas variáveis a TCO muito alta causou os piores resultados. Sendo assim, modificações da temperatura da casca (acima ou abaixo do padrão), durante a fase intermediária da embriogênese, pioram as características fisiológicas, ósseas, locomotoras, de desempenho e rendimento de abate de frangos de corte com 42 dias, sendo as altas temperaturas as mais prejudiciais.

Palavras-chave: Avicultura. Temperatura da casca do ovo. Modificação térmica. Parâmetros ósseos. Desempenho das aves.

Introdução

As linhagens modernas de frangos de corte têm sido desenvolvidas, ao longo dos anos, para melhorar o seu desempenho zootécnico e consequentemente obter um bom

rendimento de carne. No entanto, apesar do crescimento acelerado da musculatura, o esqueleto se mantém imaturo, sendo um elo considerado potencialmente fraco para o suporte desses músculos cada vez mais pesados e em idades de abate cada vez mais precoces. Isso predispõe as aves a graves problemas ósseos e locomotores, que prejudicam não só os parâmetros produtivos, como também o seu bem-estar (Rath et al. 2000; Applegate e Lilburn, 2002; Pines e Reshef, 2015; Aygun e Narinc, 2016; Kettrukat et al. 2023).

Existem inúmeras causas de anomalias ósseas da perna das aves, desde problemas de desenvolvimento, até questões genéticas, degenerativas, nutricionais, ambientais ou infecciosas, estando essas causas frequentemente associadas (Dibner et a. 2007; Groves e Muir, 2011; Oznurlu et al. 2016). É relevante destacar que o desenvolvimento ósseo e a diferenciação da placa de crescimento nas aves se iniciam na embriogênese, sendo que a maior taxa de crescimento ocorre dias antes da eclosão e alguns dias após (Applegate e Lilburn, 2002; Shim e Pesti, 2011; Güz et al. 2020). Com isso, distúrbios do desenvolvimento ósseo também podem surgir durante o período da incubação (Hammond et al. 2007; Yalçin et al. 2007; Oviedo-Rondón et al. 2008; Kettrukat et al. 2023).

Tendo em vista que a temperatura é um dos fatores da incubação que mais exerce influência sobre o metabolismo e desenvolvimento geral do embrião, ela também pode impactar o crescimento ósseo (Lourens et al. 2005; Shim e Pesti, 2011; Güz et al., 2020; Belnap et al. 2019; Morita et al. 2020). O perfil de temperatura designado como padrão baseia-se na sua manutenção constante, que visa principalmente eliminar possíveis efeitos na eclodibilidade e na qualidade do pintinho, mas pouco se sabe sobre as consequências para o desenvolvimento e desempenho das aves na criação e idade de abate (French, 1997; Lourens et al. 2005; Krausova e Peterka, 2007; Tzschenk e Halle, 2009; Walstra et al. 2010). Além disso, já foi demonstrado, que uma temperatura maior ou menor do que a padrão pode influenciar o rendimento da incubação e também o desenvolvimento ósseo das aves (Brookes e May 1972; French, 1997; Yalçin e Siegel, 2003; Lourens et al. 2005; 2007; Oviedo-Rondón et al. 2009; Piestun et al. 2013; Van Der Pol et al. 2014; Aygun e Narinc, 2016; Groves e Muir, 2017; Morita et al. 2020; Güz et al. 2020; Azevedo, 2022; Yalçin et al. 2022; Franca, 2024).

No entanto, são necessários mais estudos que foquem em analisar os efeitos da temperatura de incubação sobre as características ósseas e locomotoras, e sobre o desempenho zootécnico dos frangos em idade de abate. A maioria das pesquisas

realizadas até aqui não investigaram aspectos considerados necessários para a análise desses quesitos e muitas apresentam resultados heterogêneos, o que se justifica pelas variações nas metodologias adotadas. A compreensão exata dos mecanismos relevantes poderá ajudar no desenvolvimento de alternativas de incubação que evitem o surgimento de doenças relacionadas ao osso e mantenham a boa produtividade das aves.

Dessa forma, o objetivo com esse estudo foi avaliar se modificações térmicas da casca do ovo, utilizando temperaturas mais baixas ou mais altas que a padrão, durante a fase intermediária do desenvolvimento embrionário, afetam características fisiológicas, ósseas, locomotoras e o desempenho de frangos de corte em idade de abate.

Material e métodos

Desenho experimental

Os tratamentos foram definidos pela realização da modificação térmica em diferentes temperaturas, com controle da temperatura da casca do ovo (TCO), mantendo-as de forma constante entre os dias 8 e 18,5 de incubação, sendo: tratamento Controle (TCO-C padrão a 37,8°C); tratamento em temperatura baixa (TCO-B a 36,7°C); tratamento temperatura alta (TCO-A a 38,9°C); e tratamento temperatura muito alta (TCO-MA a 39,4°C).

A incubação, as análises sorológicas e minerais foram realizadas no Núcleo Brasileiro de Pesquisas em Incubação Artificial de Ovos (NUPIA), pertencente à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (EMEVZ-UFBA), localizado na cidade de Salvador/Bahia. O alojamento e criação das aves, assim como as análises ósseas, de desordens locomotoras, e de rendimento de carcaça ocorreram no Instituto Federal Baiano (IFBaiano) *campus* Senhor do Bonfim/BA. O período de criação foi de um a 42 dias de idade das aves. Os protocolos experimentais utilizados estão de acordo com as diretrizes da Universidade Federal da Bahia e do Comitê de Ética do Uso de Animais – CEUA, sob protocolo nº. 22/17.

Ovos férteis, pré-incubação, incubação e eclosão

Foram utilizados um total de 2.464 ovos incubáveis de matrizes pesadas da linhagem Cobb® 500, com idade de 45 semanas, adquiridos de matrizeiro comercial.

Foram obtidos ovos pertencentes à segunda coleta do mesmo dia. Ainda no matrizeiro, logo após a coleta, os ovos destinados à incubação foram desinfetados pelo método de fumigação com paraformaldeído na concentração de 10g/m³, sendo posteriormente transportados para o incubatório em veículo climatizado, com temperatura inferior ao ponto zero fisiológico (21°C).

No incubatório comercial, os ovos foram selecionados e aqueles caracterizados como não incubáveis (sujos, trincados, quebrados, pequenos e deformados) foram descartados. Todos os ovos incubáveis foram pesados e aqueles com 64,0 a 66,5g foram colocados em bandejas de incubação com capacidade para 86 ovos cada. No total, 28 bandejas foram selecionadas e identificadas aleatoriamente, sendo sete bandejas identificadas para cada tratamento (TCO-C; TCO-B; TCO-A; TCO-MA). Os ovos dos respectivos tratamentos ficaram armazenados em sala específica por três dias a uma temperatura média de 20°C e umidade relativa do ar (UR) de 80%.

Posteriormente ao armazenamento e antes do início da incubação, os ovos foram pré-aquecidos durante 10 horas em temperatura e UR média de 28°C e 55%, respectivamente. Logo após esse período, os ovos foram transferidos do incubatório para o NUPIA em veículo climatizado e, ao chegarem, cada bandeja com 86 ovos foi pesada de acordo com os tratamentos.

Para a incubação foram utilizadas quatro máquinas incubadoras modelo Premium Ecológica® IP600 de estágio único, com capacidade para 602 ovos cada e controle digital de temperatura, umidade e viragem. A viragem ocorreu em um ângulo de 45° por hora e a UR foi mantida entre 45 e 60%.

A temperatura de incubação foi programada em 37,8°C (100°F). Porém, entre o 8º e 18,5º dia, uma máquina foi regulada para manter TCO em 37,8°C (TCO-C) e outras três máquinas foram manipuladas termicamente para manter a TCO em 36,7°C (98°F) (TCO-B), 38,9°C (102°F) (TCO-A), e 39,4°C (103°F) (TCO-MA), de forma constante.

Para o controle da temperatura da casca do ovo utilizou-se, em cada máquina, sete sensores de temperatura (TI-33Ri plus®), os quais foram unidos à região equatorial das cascas dos ovos por meio de fita adesiva (Scotch® ToughDuct Tape – 3M). Utilizou-se o programa SITRAD® (versão 4.13) para monitorar a TCO a cada 6 horas e, quando necessário, ajustes nas máquinas de incubação foram realizados para manter as temperaturas de casca desejadas em cada tratamento. Entre os dias 8 e 18,5 de incubação, uma ovoscopia diária foi realizada nos ovos que continham os sensores para que houvesse a confirmação da viabilidade dos mesmos.

Após os 18,5 dias de incubação, os ovos foram transferidos para bandejas de nascimento e todas as máquinas foram reguladas para manter a temperatura fixa em 37,8°C (100°F) até o nascimento.

Os ovos dos tratamentos controle, TCO alta e TCO muito alta começaram a eclodir a partir de 19,5 dias de incubação (468H). A partir desse momento começaram a ser feitas, a cada 12 horas, as retiradas de pintos do nascedouro até completar as 516 horas totais, ou seja, até finalizar a incubação para esses tratamentos. Os pintos do tratamento TCO baixa começaram a eclodir às 492 horas, sendo a incubação encerrada às 540 horas. Os pintos nascidos foram colocados em caixas devidamente identificadas de acordo com os tratamentos e horário da retirada.

Alojamento e criação das aves

Depois de eclodidos, os pintos nascidos foram selecionados, retirando-se aqueles com características como: refugagem, desidratação, canela vermelha, ponto vermelho no bico, caixa craniana ou cavidade abdominal aberta, inchados e com anormalidades. Os pintos selecionados foram vacinados contra Doença de Marek, sexados e pesados. No total, 800 pintos machos (200 por tratamento) foram transportados em veículo climatizado (32°C e UR de 65%) do NUPIA para a Fazenda experimental do Instituto Federal Baiano (IFBaiano) em Senhor do Bonfim/BA.

Imediatamente após a chegada, os pintos foram alojados em um galpão experimental com design convencional, sendo distribuídos em 32 boxes, sendo 8 boxes por tratamento, cada box medindo 1,7m² (25 pintos em cada, seguindo a densidade de aproximadamente 15 frangos/m²). A fim de homogeneizar cada tratamento em relação ao tempo de permanência no nascedouro, um número semelhante de aves por retirada constituiu os boxes experimentais. O galpão continha cortinas laterais e material de cama composto por maravalha, que foi disposta com espessura de 7 cm no piso de cada box. Para a primeira semana de vida das aves, os boxes foram equipados com bebedouro tipo copo pressão (capacidade de 3 litros) e um comedouro tubular (capacidade de 5kg). Posteriormente, houve a substituição dos bebedouros para o modelo pendular automático, e os comedouros para os tubulares com capacidade de 15 kg, seguindo assim até o final do experimento. Em toda a fase de criação era fornecido acesso *ad libitum* à água e alimento. As dietas foram à base de milho e soja, e formuladas para o período inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 33 dias) e final (34

a 42 dias) (Tabela 1). A formulação da dieta e as exigências levou em conta os valores nutricionais dos ingredientes estabelecidos na Tabelas Brasileiras sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (Rostagno et al. 2017). Aos 8 dias de idade as aves foram vacinadas contra Newcastle e Gumboro, por meio da água de bebida. Aos 18 dias houve reforço vacinal contra Gumboro. Para o aquecimento dos pintos nas primeiras semanas, utilizaram-se campânulas com lâmpadas de infravermelho de 250 watts (uma em cada box). A luz foi de 24h artificial nos primeiros 14 dias de idade e iluminação natural após esse período. Da primeira à sexta semana de criação, os valores médios semanais de temperatura e UR ambiente foram 32,2°C, 29,7°C, 27,6°C, 26,8°C, 25,5°C e 24,8°C, e 54%, 68%, 62%, 61%, 63% e 60%, respectivamente.

No momento da chegada dos pintos e alojamento, 25 aves por box foram pesadas em balança de precisão de 0,5g. Tanto os frangos quanto as rações foram pesadas semanalmente, durante todo o período experimental, para avaliar o desempenho semanal e acumulado (peso corporal, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar). A mortalidade foi registrada diariamente, e usada para ajustar a taxa de conversão alimentar, obtida pelo consumo de ração:ganho de peso. Além disso, junto com a taxa de refugos, pode ser calculado o percentual de viabilidade no final do período de criação.

Tabela 1 – Composição percentual (%) da ração inicial, de crescimento e final e seus respectivos níveis nutricionais.

INGREDIENTES	Ração inicial	Ração de crescimento	Ração final
Milho	58,31	66,53	66,33
Farelo de soja (45% PB)	32,50	24,50	24,00
Farinha de carne e ossos (48% PB)	5,60	5,20	4,80
Calcário	0,39	0,38	0,44
Óleo de soja	1,90	2,10	3,50
Sal comum	0,30	0,28	0,29
L-Lisina HCL	0,11	0,16	0,12
DL-Metionina	0,08	0,06	0,09
Bicarbonato de sódio	0,19	0,18	0,11
Suplemento vitamínico mineral*	0,60	0,60	0,30
TOTAL	100	100	100
Composição nutricional			
Energia (kcal/kg)	2998,6	3100,6	3194,5
Proteína bruta (%)	22,06	18,96	18,48
Met. + Cis. Dig. (%)	0,94	0,82	0,77
Lisina total (%)	1,3	1,12	1,06
Treonina total (%)	0,86	0,74	0,72
Cálcio (%)	1,00	0,93	0,88
Fósforo total (%)	0,68	0,63	0,60
Sódio (%)	0,22	0,21	0,19

*Produto comercial: Suplemento Vitamínico Mineral com agente anticoccídiano e promotor. Cada 1,0 kg contém: Vit. A 3.500.000 UI, Vit. D3 625.000 mg, Vit E 6.250 mg, Vit K3 750 mg, Vit. B1 500 mg, Vit. B2 1.250 mg, Vit. B6 1.000 mg, Vit B12 6.250 mcg, Biotina 25 mg, Niacina 8.750 mg, Ácido Fólico 250 mg, Ácido Pantotênico 3.000 mg, Selênio 45 mg, Iodo 175mg, Ferro 12.525 mg, Cobre 2.500 mg, Manganês 19.500 mg, Zinco 13.750 mg, Bacitracina de Zinco 18.750 mg, Antioxidante 500 mg; Fitase – 75 ftu; BHT 25.000 mg.

Parâmetros sanguíneos

Para avaliar o status fisiológico dos frangos, aos 42 dias de idade, dois frangos por box foram selecionados para coleta de amostras de sangue, obtidas por meio da veia ulnar (asa). Imediatamente após a coleta, as amostras foram acondicionadas em tubos tipo Vacutainer® e centrifugadas (15 minutos a 4500 rpm) para obtenção do soro. As alíquotas de soro foram transferidas por meio de micropipetas para tubos ependorff devidamente identificados de acordo com os tratamentos e conservadas a -20°C até ser iniciado o processamento das amostras.

Para determinar as análises bioquímicas, as concentrações de cálcio¹ (Ca⁺), fósforo (P⁺) e Fosfatase Alcalina (FA) foram mensuradas por meio de um analisador

bioquímico automático (BioSystems[®]) utilizando-se kits comerciais (Labtest Diagnóstica[®]. Lagoa Santa, MG, BR; ¹Cálcio Liquiform 90; ²Fósforo 42; ³Fosfatase Alcalina 40; Metologia: Colorimétrico) (Azevedo et al., 2023).

As análises hormonais de hormônio de crescimento (GH)¹, triiodotironina (T₃)², tiroxina (T₄)³ foram determinadas por ELISA utilizando kits comerciais (¹Chicken growth hormone kit – Catalog nº MBS266317, MyBioSource[®], San Diego, CA, USA; ²Total Triiodothyronine AccuBind[®] kit – Product Code: 125-300, Monobind, Lake Forest, CA; ³Total Thyroxine AccuBind[®] kit- Product Code: 225-300, MonoBind, Lake Forest, CA) (Morita et al., 2016a). A 1,25-dihidroxivitamina D₃ (Vit.D₃)⁴ sérica e o paratormônio (PTH)⁵ foram analisados utilizando kits ELISA Elabscience[®], Houston, Texas, EUA (⁴1,25-dihydroxyvitamin D3 kit; ⁵Chicken PTH – Parathyroid Hormone – Catalog nº E-EL-Ch0433) (Güz et al., 2019).

Temperatura retal

Após a pesagem aos 42 dias e no horário mais quente do dia (12:00 h), 2 aves por box tiveram a temperatura retal mensurada utilizando termômetro digital (Medeqco Geratherm[®]) com precisão de +0,1°C. O instrumento foi inserido na cloaca, aproximadamente 3 cm. A temperatura retal é usada, segundo Yahav e Mcmurtry (2001), para estimar a temperatura corporal das aves.

Avaliação de distúrbios ósseos e locomotores

Gait score

Aos 41 dias de idade foi realizada a avaliação de *gait score* (pontuação de marcha), que classifica as aves de acordo com a sua capacidade de se locomover, seguindo a metodologia descrita por Kestin et al. (1992). Foram selecionadas, de forma aleatória, 6 aves por box para avaliação individual. Para realizar o teste, um avaliador (o mesmo para todas as repetições) sentou-se no chão e, conseguiu visualizar a parte posterior das pernas do frango enquanto ele caminhava. Após definir uma pontuação, foi calculada a média para cada grupo. Considerou-se uma escala de seis pontos para a classificação do *gait score* das aves, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Descrição dos sistemas de pontuação da marcha usados para avaliar a capacidade de caminhar de frangos de corte em idade comercial (Kestin et al., 1992).

Pontuação da marcha (Gait score)	Critério de avaliação das aves
0	Normal, ágil e bem equilibrada.
1	Leve anormalidade e andar irregular, mas difícil de definir.
2	Caminhada irregular com passos encurtados; falta de equilíbrio; se apoia nas asas; anormalidade definida e identificável.
3	Anormalidade óbvia; afeta capacidade de se movimentar; não fica em pé por mais de 15 segundos; caminha deitada.
4	Anormalidade grave; sem vontade de andar; usa asas como muletas; dá apenas alguns passos.
5	Incapaz de andar.

Pododermatite

As mesmas aves utilizadas na análise anterior foram avaliadas quanto à presença de pododermatite ou também conhecida como dermatite plantar, de acordo com o protocolo estabelecido pela *Welfare quality*[®]. A observação e determinação da pontuação foram feitas pelo mesmo avaliador, o qual pontuou como: 0 (ausência de lesões); 1 (evidência mínima de lesão); 2 (evidência aparente); 3 (lesão grave); ou 4 (lesão gravíssima com comprometimento do sistema locomotor).

Latency-to-Lie

Aos 42 dias de idade, 3 aves por box foram selecionadas de forma aleatória e submetidas ao teste de *Latency-To-Lie* (LTL), comumente chamado de “Tempo em pé”. O método utilizado baseou-se no procedimento de Berg e Sanotra (2003). Os frangos foram colocados, individualmente, em uma banheira contendo uma profundidade de aproximadamente 3 cm de água com uma temperatura de 31-33°C (considerada morna).

O tempo até que a ave se sentasse foi cronometrado por um avaliador (o mesmo para todas as repetições) para verificar a sua capacidade de permanecer em pé, até um máximo de 300 segundos. Quando a ave ficava mais do que esse período, considerava-se como esse tempo. No fim, obteve-se a média para cada tratamento.

Deformidade Valgo-Varo

Também aos 42 dias, 6 aves por box foram selecionadas aleatoriamente e avaliadas individualmente pelo mesmo avaliador em todas as repetições para pontuação de deformidade valgo-varo, de acordo com os métodos descritos por Leterrier e Nys (1992) e atualizado por Shim et al. (2012a). Os frangos eram pegos pelas asas e, após avaliação visual e com auxílio de um goniômetro (realizada pelo mesmo avaliador em todas as repetições), foram classificados de acordo com a angulação da articulação tarsal do membro, como: normal (escore = 0); leve (ângulo tibia-metatarso entre 10 e 25°; escore = 1); intermediária (ângulo entre 25 e 45°; escore = 2); e grave (ângulo maior de 45°; pontuação = 3).

Discondroplasia tibial

Duas aves de cada box, aos 42 dias, foram selecionadas dentro de uma faixa de \pm 10% da média de peso da repetição, e eutanasiadas por deslocamento cervical. Seguindo os métodos descritos por Edwards e Veltmann (1983) e atualizado por Shim et al. (2012a), a tibia direita de cada ave foi cortada longitudinalmente e pontuada para avaliar a incidência de discondroplasia tibial (DT). As tibias foram avaliadas pelo mesmo avaliador em todas as repetições e pontuadas de acordo com a presença anormal de massas de cartilagem sob as placas de crescimento desse osso, sendo: 0 = cartilagem considerada normal, estreita com poucas irregularidades; 1 = cartilagem espessada ou com irregularidades consideráveis (lesão leve); 2 = cartilagem espessada, com evidência de cartilagem pré-hipertrófica persistente que não está calcificada e não foi invadida por vasos da metáfise, além de aparência de irregularidades profundas dessa cartilagem (lesão intermediária); e 3 = grande massa de cartilagem na extremidade proximal da tibia (lesão grave).

Análises ósseas

As mesmas duas aves por box, eutanasiadas para a análise anterior, foram utilizadas para as análises ósseas a seguir.

Morfometria

As tíbias esquerdas foram removidas, dissecadas e limpas de qualquer tecido mole ou cartilagem aderente, e pesadas em balança analítica digital (0,001 g). Após a pesagem, foram mensuradas externamente por um paquímetro digital (Digimess® resolução 300 mm, 0-0,001 mm). O comprimento foi medido da extremidade proximal na eminência intercondilar até a extremidade da epífise distal. Para a largura foi considerado o diâmetro mediolateral. Após estes procedimentos, as tíbias foram envoltas em gaze embebida com soro e armazenadas em sacos plásticos a -20°C para análises posteriores.

Resistência (teste biomecânico)

As tíbias esquerdas foram ainda submetidas a um ensaio biomecânico para a análise de força para a fratura usando o método descrito por Shim et al. (2012b). No dia do teste, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente dentro dos sacos plásticos. No momento da análise, cada amostra óssea foi retirada do saco e mantida umedecida com gaze embebido em água destilada até ser colocada no instrumento. Para evitar variação adicional na medida de força, cada osso foi orientado para garantir que a flexão ocorresse em torno do ponto médio da face ântero-posterior. A resistência à fratura óssea foi medida usando o teste de flexão de 3 pontos, com célula de carga de 2000N, com o uso de uma máquina universal EMIC®, Instron, DL 3000, controlada pelo software Blue Hill®. O osso foi ancorado em dois pontos de apoio medindo 5 mm de distância. Uma sonda de base redonda foi acoplada a uma célula de carga de 5kg e a força foi aplicada no ponto médio da face ântero-posterior de cada osso com velocidade de aplicação da carga de 1 mm/min. O valor referente à força máxima para quebra foi obtido.

Cinzas e minerais

Depois das análises anteriores, foram determinados o conteúdo de cálcio, fósforo e cinzas das tibias desengorduradas, conforme descrito pela AOAC (2012), a fim de definir o grau de mineralização óssea. Uma pequena secção da diáfise média do osso (cerca de 15% do comprimento) foi removida para a quantificação de cinzas usando o método descrito por Yair et al. (2012). Cada amostra foi colocada em um recipiente com acetona por 12 horas para remover todos os lipídeos. Em seguida, as amostras foram dispostas em copos de cerâmica e aquecidas em forno (105°C por 6h) para a remoção de toda a água. Imediatamente após esse processo, a amostras foram pesadas para a determinação do peso seco em balança analítica digital (0,001g), e então levadas para a mufla (600°C por 10 horas) para que todo material orgânico fosse queimado. As cinzas remanescentes foram pesadas, e com isso, o percentual de cinzas de cada amostra foi determinado.

Cerca de 100 a 150 mg de cada amostra de cinzas das tibias foram coletadas para examinar o conteúdo dos minerais cálcio (mg) e fósforo (mg) por meio de espectrofotômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Varian®, Mulgrave, Austrália) utilizando soluções padrão (Certipur Merck®, Darmstadt, Alemanha). Os resultados do conteúdo desses minerais foram expressos como porcentagem em relação ao peso (mg) total das cinzas, permitindo uma comparação direta entre as amostras.

Rendimento de carcaça e cortes

Duas aves por box foram selecionadas aleatoriamente para cumprirem o período de jejum alimentar pré-abate por 8 horas. O peso corporal vivo (PV) das aves selecionadas foi registrado individualmente. Posteriormente, foram insensibilizadas por eletronarcose e sacrificadas por sangria mediante corte da veia jugular, e encaminhadas para o processamento (depenagem; lavagem; evisceração; e retirada de patas). Ao fim do processo, foi medido o peso da carcaça, e os cortes peito, coxas, sobrecoxas e asas foram pesados para mensurar o rendimento de carcaça. Foram calculados o percentual de rendimento (peso da carcaça/PC vivo x 100%) e o percentual de cada corte (peso do corte/peso da carcaça x 100%).

Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. O modelo geral usado para todos os dados foi:

$$Y_i = \mu + Temperatura_i + \varepsilon_i$$

Onde Y_i = a variável dependente, μ é a média geral, $Temperatura_i = TCO$ ($i = TCO-B; TO-C; TCO-A; TCO-MA$), e ε_i = o erro.

A análise estatística foi feita usando o pacote de software SAS® OnDemand (Instituto SAS Inc., Cary, NC). Todos os dados foram analisados através da ANOVA de 1 fator e então o teste de Tukey foi usado para determinar as diferenças entre as médias, adotando-se o nível de significância de 5%.

Para a avaliação de desempenho, foram utilizadas 25 aves por box, sendo o box a unidade experimental (repetição). Já para as análises de rendimento, parâmetros sanguíneos, temperatura retal, análises ósseas e desordens locomotoras e ósseas, a ave foi considerada a unidade experimental. As análises estatísticas foram precedidas da verificação das premissas do modelo.

Resultados e discussão

Sabe-se que a TCO durante o desenvolvimento embrionário pode influenciar o desempenho pós-eclosão (Joseph et al. 2006), sendo assim a modificação térmica entre o 8º e 18,5º dia de incubação apresentou efeito significativo na maioria das variáveis analisadas. A Tabela 3 traz os resultados do desempenho dos frangos de corte aos 42 dias de idade. O consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP) e o peso corporal (PC) das aves foram significativamente maiores no TCO-C, seguida pelo grupo TCO-B e TOC-A ($p \leq 0,05$). O tratamento TCO-MA foi o pior dentre os demais (diferença de 620,17g, 603,78g e 605,85g, respectivamente ao CR, GP e PC, comparando-o com o controle). A conversão alimentar (CA) também foi pior nos grupos com desvios da temperatura controle, sendo mais alta nos TCO-A e TCO-MA.

De acordo com Wineland et al. (2006), o menor GP e maior CA pode estar relacionado ao menor desenvolvimento intestinal e maturação na eclosão, o que pode afetar de forma negativa o aproveitamento dos nutrientes na vida adulta. Willemse et al. (2010) também relataram que a exposição prolongada dos ovos a altas temperaturas

geralmente leva a deficiências no desenvolvimento embrionário e interrupções substanciais no metabolismo de carboidratos e lipídios. Segundo os autores, a incapacidade do embrião de utilizar totalmente os nutrientes da gema leva ao seu crescimento restrito e prejudicado, resultando em desempenho abaixo da média durante a fase de crescimento subsequente. Esses achados demonstram, portanto, que a modificação térmica realizada no presente estudo, a partir da segunda semana de incubação, principalmente se forem utilizadas temperaturas muito elevadas, podem prejudicar os parâmetros zootécnicos das aves em idade de abate, assim como promover maior mortalidade do lote (aumento de 9,22% em relação ao controle).

Tabela 3 – Desempenho dos frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em temperatura controle (TCO-C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.

Temperatura	CR (g)	GP (g)	PC (g)	CA (g)	VIAB. (%)
TCO-B	4437,98 ^b	2784,70 ^b	2829,38 ^b	1,59 ^b	93,39 ^b
TCO-C	4626,52 ^a	3006,04 ^a	3051,20 ^a	1,53 ^c	96,79 ^a
TCO-A	4209,08 ^c	2582,62 ^c	2626,23 ^c	1,63 ^{ab}	90,93 ^c
TCO-MA	4006,35 ^d	2402,26 ^d	2445,35 ^d	1,66 ^a	87,57 ^d
SEM	47,0308	42,5964	42,8044	0,01065	0,62194
Valor de P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C = controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. CR = consumo de ração; GP = ganho de peso; PC = peso corporal; CA = conversão alimentar; VIAB. = viabilidade; SEM: erro padrão da média. $n = 32$.

Alguns desses resultados corroboram com o de outros trabalhos. Joseph et al. (2006) demonstraram que aves incubadas em uma TCO baixa (36,7°C) nos primeiros 10 dias de incubação, tiveram menor GP e PC quando tinham 3 e 6 semanas de idade, do que aquelas incubadas em TCO controle (37,8°C). Molenaar et al. (2010) encontraram menor PC e maior mortalidade em aves com 42 dias submetidas a incubação em 38,9°C do dia 7 a eclosão em comparação ao controle (37,8°C). Após aplicar TCO de 38,8-

39°C nos últimos três dias de incubação, Sozcu e Ipek (2015) também encontraram menor PC, maior CR e pior CA nos frangos.

Com relação ao rendimento de carcaça (Tabela 4), todos os parâmetros observados apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$). Carcaça, peito, coxa e sobrecoxa tiveram rendimentos diferentes em todos os tratamentos de temperatura, sendo maior para o controle e menor para a TCO muito alta. O corte asa também mostrou piora no rendimento quando a incubação ocorreu em temperaturas mais elevadas, sendo pior no grupo muito alta. No entanto, para essa última variável, o tratamento TCO baixa foi semelhante ao controle e à alta.

Tabela 4 – Rendimento de carcaça e cortes (%) de frangos de corte com 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (TCO-C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.

Temperatura	CARCAÇA	PEITO	ASA	COXA	SOBRECOXA
TCO-B	74,48 ^b	24,44 ^b	7,48 ^{ab}	13,20 ^b	9,52 ^b
TCO-C	75,62 ^a	25,71 ^a	7,59 ^a	13,73 ^a	9,61 ^a
TCO-A	72,57 ^c	22,81 ^c	7,29 ^b	12,53 ^c	9,30 ^c
TCO-MA	71,93 ^d	21,75 ^d	6,78 ^c	11,95 ^d	8,86 ^d
SEM	0,20327	0,21454	0,05009	0,09747	0,03830
Valor de P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C = controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n = 64.

Como citado por Clark et al. (2017), a morfologia muscular é estabelecida, pela primeira vez, durante a embriogênese, estando a formação das fibras musculares completa no momento da eclosão. Porém, ela muda com o crescimento hipertrófico pós-eclosão, e as chamadas células satélites são a única fonte de contribuição para que isso ocorra. Estas células são inicialmente formadas no 10º dia de incubação e aumentam em número ao longo do desenvolvimento embrionário. Quando condições no ambiente de incubação impactam o desenvolvimento ou a atividade dessas células satélites, há efeitos duradouros no crescimento muscular. Provavelmente, foi isso que aconteceu no

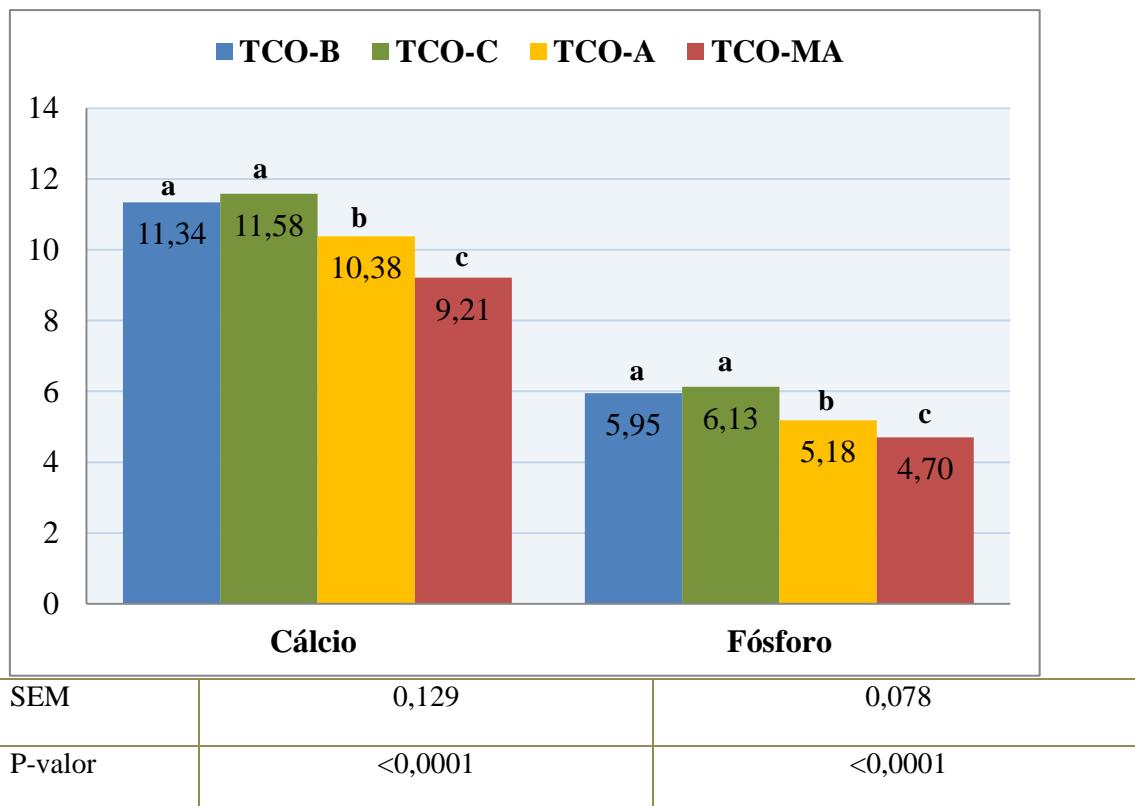
nosso estudo. As modificações térmicas aplicadas a partir no 8º dia de incubação prejudicaram o desenvolvimento e atividade de importantes células musculares, afetando a miogênese, o que refletiu no rendimento de carcaça e cortes em idade de abate.

Joseph et al. (2006) relataram que a baixa TCO (36,7°C) diminuiu o peso da carcaça e do rendimento de peito de frangos com 42 dias de idade, e ainda aumentou o rendimento de gordura abdominal em comparação ao controle. Segundo esses autores, o crescimento pós-eclosão foi comprometido pela modificação térmica nos primeiros 10 dias de incubação, por esta causar um desenvolvimento miogênico retardado *in ovo*. Al-Musawi et al. (2012) também demonstraram que o aumento da temperatura de incubação em pelo menos um grau acima do padrão na primeira semana da embriogênese causa um número de fibras musculares diminuídas, assim como reduz a expressão de fatores regulatórios miogênicos.

Em contrapartida, algumas pesquisas apresentaram resultados opostos, em que as aves expostas a modificações de temperatura na incubação, tinham aumento do rendimento de carcaça e do corte peito (Werner e Wicke, 2008; Molenaar et al. 2011; Janish et al. 2015; Lin et al. 2017). As diferenças entre esses estudos se restringem ao nível da temperatura e ao período da embriogênese em que foi aplicada. Sendo assim, há relatos ambíguos para esses parâmetros avaliados, já que nesses estudos mencionados se discute que a modificação da temperatura melhora a miogênese ainda na fase embrionária, e consequentemente na idade de abate.

Com relação aos parâmetros fisiológicos dos frangos em idade de abate, os resultados da avaliação sanguínea de cálcio e fósforo se encontram na Figura 1. Ambos os minerais se mostraram em níveis maiores no soro das aves incubadas em TCO baixa e controle, sendo semelhantes entre esses tratamentos. A modificação da TCO para alta e muito alta, por sua vez, se mostraram diferentes entre si e em relação ao controle ($p \leq 0,05$), sendo menores do que essa TCO padrão (para o Ca, redução de 10,36% ao utilizar TCO alta e 20,46% na TCO muito alta; para o P, a redução foi de 15,49% na TCO alta e de 23,32% na TCO muito alta). Assim, observa-se que a temperatura de 39,4°C (muito alta) também compromete, em maior grau, os níveis séricos de minerais importantes.

Figura 1 – Teores sanguíneos de cálcio e fósforo (mg/dL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.



^{a,b,c} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C = controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n = 64.

Azevedo (2022) encontrou esse mesmo padrão de resultado quando as aves tinham um dia de idade, e justificou que, ambas as temperaturas altas de incubação, causaram uma menor mobilização de Ca da casca do ovo, fazendo com que uma menor quantidade desse mineral chegasse à gema e, consequentemente, ao sangue. O mesmo ocorreu com o P, reflexo de menor utilização da gema.

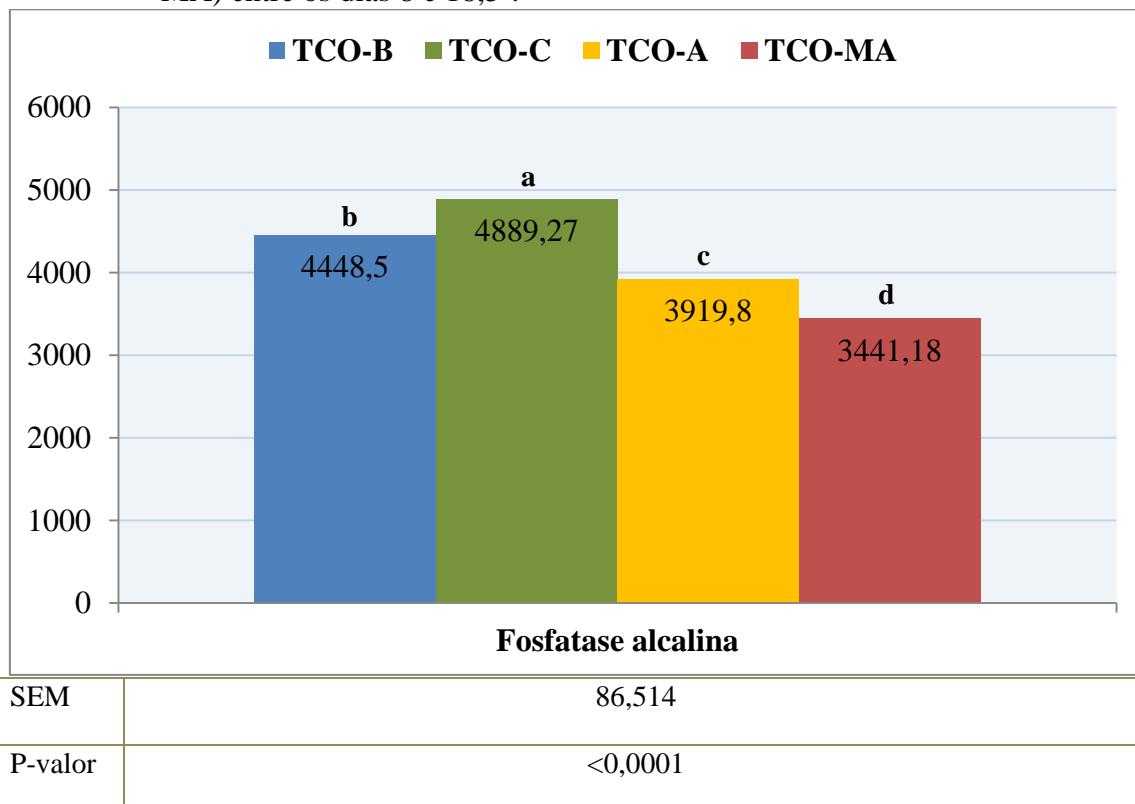
Em animais adultos, no entanto, esses minerais são transferidos para a corrente sanguínea através da absorção e reabsorção pelo intestino e rins, respectivamente, seja através da dieta ou da reabsorção óssea (Namgung e Tsang, 2012; Sun et al. 2018). Provavelmente, no presente estudo, esse processo pode ter sido comprometido devido à exposição das aves às altas temperaturas na incubação, principalmente naquelas do tratamento TCO muito alta, fazendo com que o índice sérico desses minerais fosse baixo. Consequentemente, esse resultado também pode prejudicar a mineralização

óssea, pois sabe-se que o Ca e o P são dois importantes macrominerais com funções estruturais e fisiológicas essenciais para o corpo animal, sendo responsáveis pelo desenvolvimento e composição do osso (Veum, 2010; Weglarz e Angel, 2013; Imari et al. 2020).

A Fosfatase Alcalina sérica apresentou impactos significativos nos frangos de corte (Figura 2). De acordo com Tilgar et al. (2008), a FA é uma enzima considerada relevante marcador bioquímico do desenvolvimento esquelético, e seus níveis séricos aumentados indicam crescimento ósseo ativo. Nesse tecido, ela é encontrada em condrócitos hipertróficos e em membranas celulares de osteoblastos (Vilmaraj, 2020; Semenenko et al. 2021). Dessa forma, a sua presença indica que está ocorrendo a diferenciação dos condrócitos na placa de crescimento dos ossos (Yalçin et al. 2007). Em nosso estudo, todas as modificações térmicas realizadas resultaram em concentrações mais baixas de FA no sangue, em comparação ao tratamento controle ($p \leq 0,05$). Isso sugere, portanto, que a calcificação óssea pode ser prejudicada devido, principalmente, à TCO muito alta na incubação, reforçando os achados anteriores sobre os níveis sanguíneos de Ca e P.

Yalçin et al. (2007) já haviam relatado que o estresse térmico pode afetar a proliferação e diferenciação dos condrócitos. Kamanli et al. (2021) relataram resultado semelhante, porém observado em pintos de linhagem poedeira após a eclosão e expostos à TCO de 38,5°C, em comparação com outros expostos à TCO de 36,9°C e à TCO de 37,5°C entre o 7º e 21º dia da incubação.

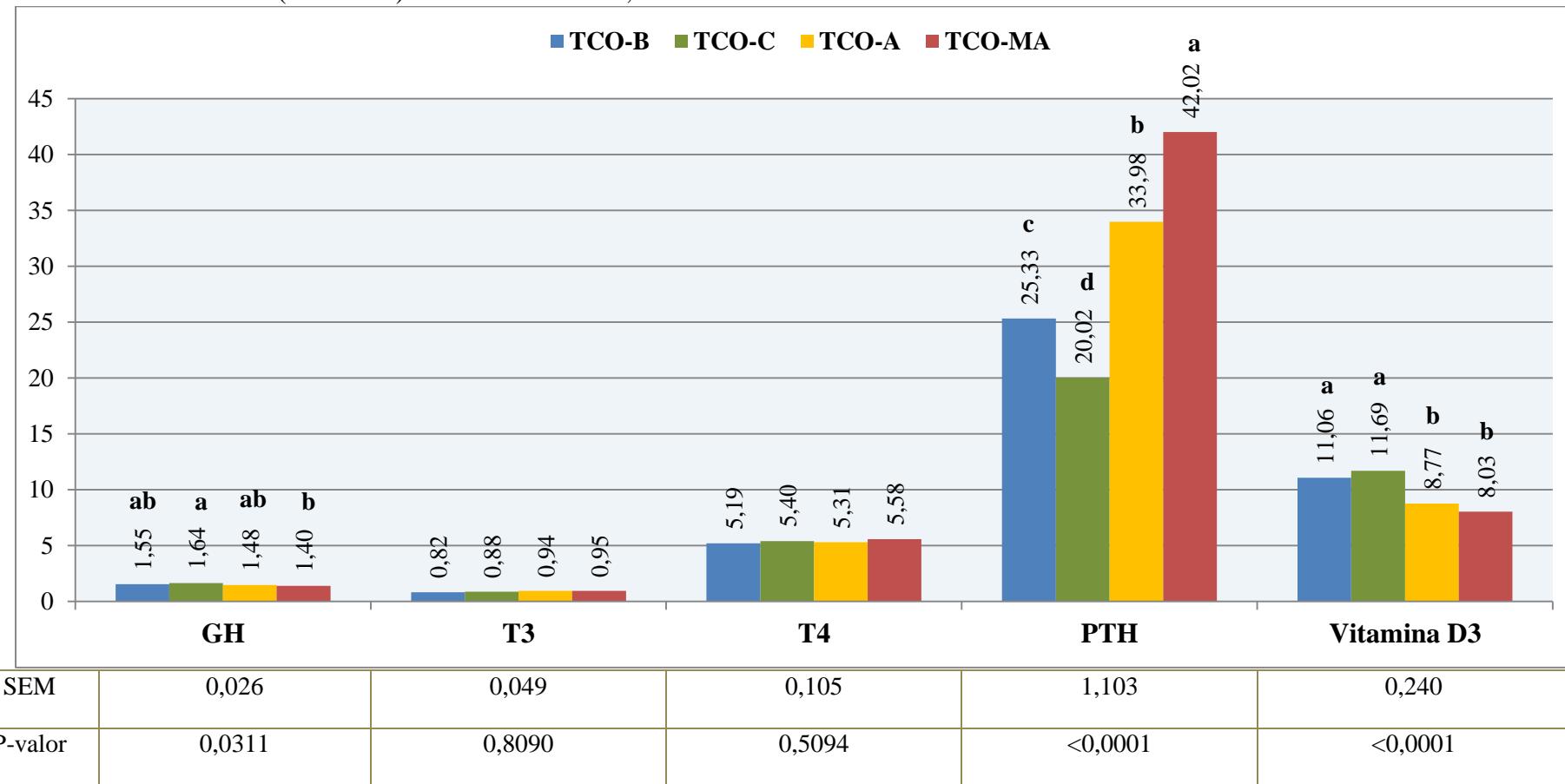
Figura 2 – Teor sanguíneo de Fosfatase Alcalina (U/L) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.



^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C = controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. $n = 64$.

A temperatura de incubação exerceu efeito sobre todos os hormônios sanguíneos avaliados, com exceção dos hormônios tireoidianos T_3 e T_4 (Figura 3), que foram semelhantes entre os tratamentos ($p > 0,05$). Para o GH, o único tratamento que diferiu do controle foi o TCO muito alta, o qual apresentou menor teor desse hormônio. O PTH, no entanto, demonstrou diferença significativa do controle em todas as modificações térmicas ($p \leq 0,05$), sendo maior na TCO muito alta, seguida pela TCO alta e baixa (52,35%, 41,08% e 20,96% a mais, respectivamente). Os níveis de vitamina D_3 foram reduzidos significativamente ($p \leq 0,05$) apenas nos tratamentos de TCO alta e muito alta, sendo, nesta ordem, o equivalente a cerca de 25% e 31,3% a menos que o tratamento controle.

Figura 3 – Teores sanguíneos de GH, T₃, T₄ (ng/mL), PTH e vitamina D₃ (pg/mL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.



^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C= controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

Os hormônios tireoidianos (HT) fornecem mecanismos para controlar inúmeras vias metabólicas, incluindo a homeostase de Ca e P, e o desenvolvimento dos ossos (Stern, 2002; Ha-Young e Subburaman, 2013; Gouveia et al. 2018), principalmente no período pós-eclosão das aves (Capelo et al. 2008). É compreendido que eles estimulam a expansão de células progenitoras de condrócitos na zona de reserva. Além disso, desencadeiam a diferenciação dos condrócitos, estimulando a hipertrofia e posterior apoptose dessas células, e a distribuição normal dos componentes da matriz extracelular. Também estimulam a diferenciação de osteoblastos e a expressão e atividade da FA, e induzem a reabsorção óssea de forma indireta, através de mecanismos mediadores (McNabb, 2000; Okubo e Hari Reddi, 2003; Shao et al. 2006; Gogakos et al. 2010; Wojcicka et al. 2013; Gouveia et al. 2018). Portanto, tanto a sua escassez quanto o seu excesso podem trazer impactos negativos para conformação óssea normal. Porém, nesse estudo, eles não apresentaram diferenças significativas após as modificações térmicas, indicando que tais circunstâncias não foram suficientes para alterar suas concentrações séricas, mesmo diante de outros resultados demonstrados.

Conforme Ohlsson et al. (1998), o GH é o hormônio considerado mais importante para o crescimento ósseo longitudinal pós-natal. Ele atua estimulando a síntese do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) no fígado, o qual também promove o crescimento desse tecido (Robson et al., 2002; Van Der Eerden et al., 2003). Algumas pesquisas propõem que o GH-IGF-I estimulam condrócitos em diferentes estágios de maturação na placa de crescimento, além da proliferação de osteoblastos (Pines e Hurwitz, 1990; Ohlsson et al., 1998; Van Der Eerden et al., 2003). No entanto, com base no resultado encontrado, a temperatura muito alta de incubação prejudicou a secreção e consequente ação do GH, visto que ele se encontrou em menor quantidade nesse tratamento e outros resultados a serem apresentados atestam esse achado. Um ponto a se destacar é que, como essa secreção ocorre pelo eixo hipotálamo-hipófise e é estimulada tanto pelo fator liberador de hormônio de crescimento (GRF), quanto pelo hormônio liberador de tireotropina (TRH), é possível que alguns dos efeitos no crescimento pelo GH possam ser mediados através de alterações induzidas na concentração plasmática dos hormônios tireoidianos (Scanes e Harvey, 1984; Shao et al., 2007). Todavia, como observado, os HT não sofreram efeitos a partir das modificações térmicas realizadas.

Dentre os hormônios que mantêm a homeostase do Ca e do P, estão o PTH e a vitamina D₃. Estes são liberados quando o Ca plasmático está em níveis abaixo do ideal

e atuam para elevar esses teores (Veum, 2010; Matuszewski et al., 2020). O PTH se liga à receptores dos osteoclastos, elevando a reabsorção óssea; e à receptores nas células renais, aumentando a reabsorção desse mineral nos túbulos (diminuindo a perda urinária) e acelerando a formação de vitamina D₃ ativa, através da estimulação da secreção da enzima 1 α -hidroxilase renal. A vitamina D₃, por sua vez, irá promover a absorção intestinal de Ca e P, induzindo a formação da proteína calbindina, que atua no transporte desses minerais (Dacke, 2000; Stanford, 2006; Hartmann et al., 2016; Ceylan et al. 2020; Tinawi, 2021).

Sendo assim, as modificações térmicas utilizadas nesse estudo causaram aumento considerável do PTH, em relação ao controle, principalmente a TCO muito alta, o que indica que esse hormônio foi excretado em grandes quantidades na tentativa de recuperar os baixos níveis séricos de Ca e P.

Ao contrário, a concentração de vitamina D₃ foi reduzida nas TCO alta e muito alta. De acordo com Ceylan et al. (2020), condições térmicas estressantes, podem prejudicar a hidroxilação hepática ou renal do colecalciferol, o que pode ter acontecido nesse presente estudo. Além disso, esse resultado pode ter impactado indiretamente os teores dos minerais no sangue, pois, como mencionado, uma das funções desse hormônio é atuar no transporte de Ca e P.

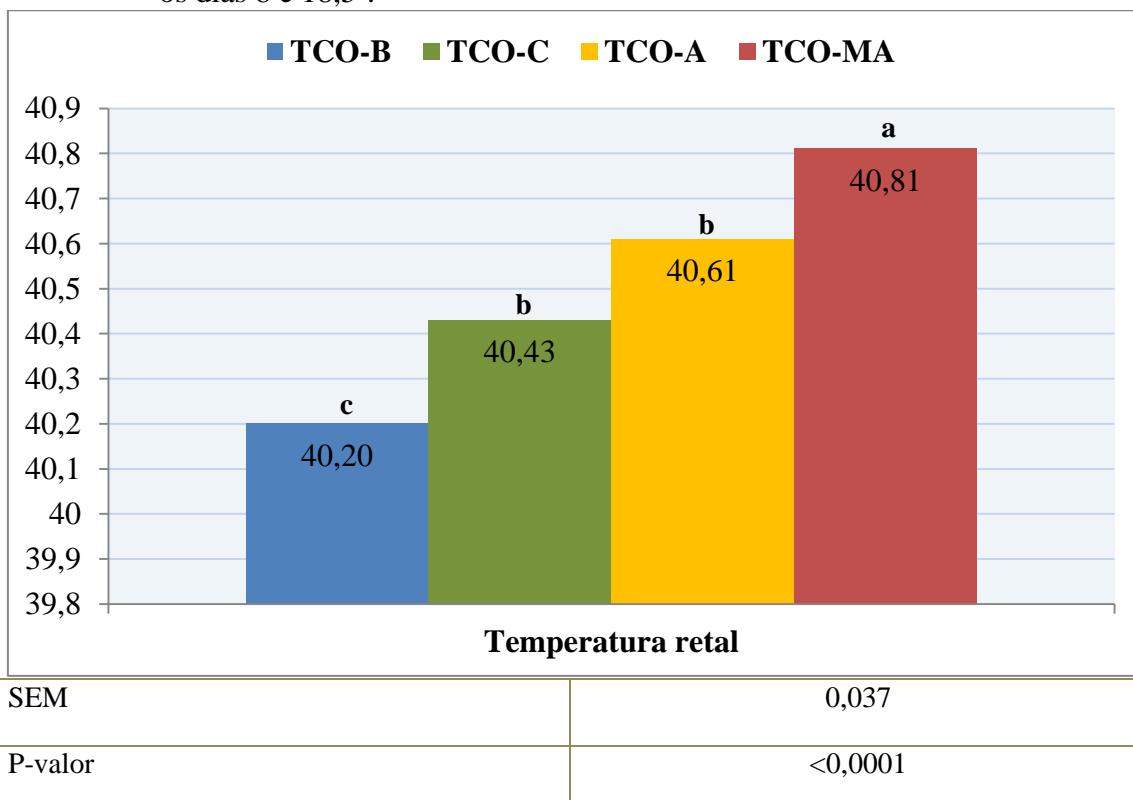
Elevações na temperatura retal podem indicar estresse térmico, e consequentemente afetar de forma negativa o desempenho produtivo das aves (Borges et al. 2003; Yalçin; Siegel, 2003; Morita et al., 2016a). Foi justamente o observado nos resultados da Figura 4 e da Tabela 1. Os frangos de corte que foram submetidos à incubação em TCO muito alta, apresentaram temperatura retal de 40,8°C, sendo significativamente maior que a das aves da TCO controle (40,4°C) ($p\leq 0,05$). Aquelas submetidas à TCO baixa tiveram menor temperatura corporal em comparação às demais ($p\leq 0,05$). Por outro lado, os frangos da TCO alta apresentaram semelhança nesse parâmetro com o controle.

Conforme Morita et al. (2016b), os efeitos da alteração da temperatura de incubação são transferidos para a vida pós-natal. Esses autores observaram que os frangos que foram incubados a 39°C, do dia 13 até a eclosão, apresentaram temperaturas retais mais altas aos 15 dias de idade. Segundo eles, isso pode ser resultado de uma pele mais fina e mais vascularizada, desenvolvida para que haja maior troca de calor após o desafio térmico imposto durante o desenvolvimento embrionário. É o que pode ter acontecido neste presente estudo, tanto que as aves do tratamento TCO baixa

apresentaram resultado contrário, visto que haviam precisado, durante a incubação, diminuir a troca de calor diante da sua exposição à temperatura mais fria.

Sabe-se que a zona de conforto térmico do frango com 42 dias de idade, segundo a Cobb® é de 18°C (Cobb, 2009). Nesse presente estudo, as aves estavam sendo criadas em temperatura ambiente, sendo difícil manter as temperaturas recomendadas após a segunda semana de criação, principalmente porque o período era de estação mais quente. Sendo assim, pode-se inferir que as aves que foram expostas a altas temperaturas constantes, apresentaram altas temperaturas retais em idade de abate por não conseguirem se termoregular, estando sob essa condição de estresse calórico.

Figura 4 – Temperatura retal (°C) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.

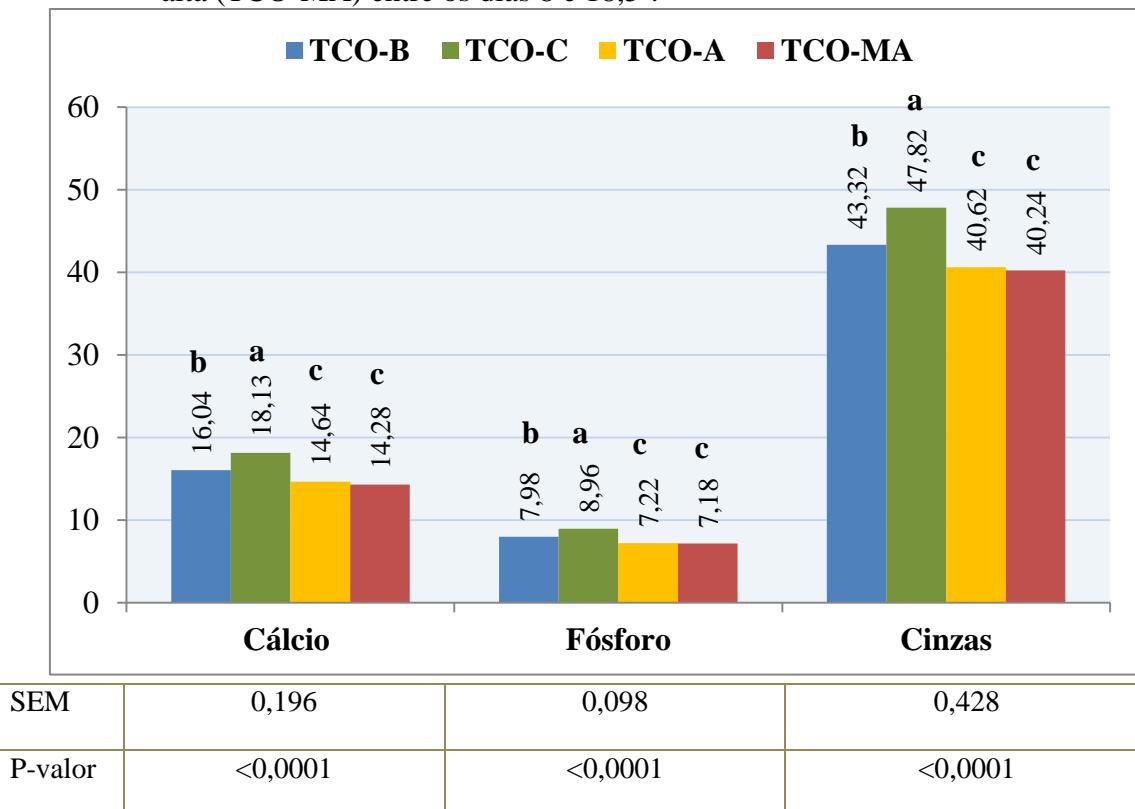


^{a,b,c} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C= controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. $n = 64$.

A Figura 5 apresenta os resultados da composição mineral e de cinzas da tíbia de frangos aos 42 dias de idade. Todas essas variáveis analisadas foram afetadas pelos

tratamentos térmicos de forma similar, em que a TCO baixa, alta e muito alta foram menores que o controle ($p \leq 0,05$), sendo a TCO alta e muito alta semelhantes entre si ($p > 0,05$) e diferentes da TCO baixa ($p \leq 0,05$). Portanto, os teores de Ca, P e cinzas foram mais afetados negativamente pela exposição ao calor (TCO alta e muito alta).

Figura 5 – Composição mineral (%) e cinzas (%) da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.



^{a,b,c} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C = controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. $n = 64$.

É compreendido que o conteúdo de minerais e cinzas ósseas pode atuar como um indicador da mineralização do esqueleto (Shim et al. 2012b; Sanchez-Rodriguez et al. 2019; Ma et al. 2020), e de acordo com Angel (2007), a tíbia é um dos ossos mais mineralizados, sendo, portanto, um bom sinalizador desse processo.

Dessa forma, entende-se que, com base nos achados apontados na Figura 5 e em outras apresentadas anteriormente, como o teor sérico de minerais e hormônios, as alterações da temperatura de incubação, aplicada de forma constante entre os dias 8 e

18,5°, podem causar comprometimento da mineralização óssea, sobretudo em temperaturas mais quentes que a padrão. Igualmente, Van der Eerden et al. (2003) apontaram que os mecanismos bioquímicos que controlam a ossificação endocondral dos ossos longos podem ser afetados pelas temperaturas de incubação aplicadas a partir da segunda semana.

Os resultados atuais diferem do encontrado por Güz et al. (2020). Os autores abordaram que, aves expostas a temperaturas quentes (38,9°C) na segunda semana (8° ao 15° dia) ou frias (36,7°C) na terceira semana (15° dia à eclosão) de incubação, tinham mais conteúdo e densidade mineral óssea na idade de abate do que aquelas do grupo controle (37,8°C). Eles alegaram que a taxa de mineralização óssea é afetada positivamente pela temperatura de incubação modificada devido a interferências nos hormônios tireoidianos e GH-IGF-A, que têm papéis críticos no desenvolvimento ósseo. No entanto, vale ressaltar que esses pesquisadores não analisaram esses parâmetros hormonais das aves estudadas.

Esses achados estão em paralelo com os resultados das características ósseas morfológicas e mecânicas da tíbia, apresentadas pela Tabela 5. Todas as variáveis analisadas demonstraram diferença significativa entre os grupos que sofreram modificações térmicas e o controle ($p \leq 0,05$). No entanto, mais uma vez, as TCO mais altas mostraram comprometer em maior grau o crescimento ósseo das aves, visto que o peso, o comprimento e a largura foram menores nesses tratamentos. Na análise de força para a quebra não foi diferente, sendo necessário cerca de 22 kg para a ruptura ocorrer na TCO muito alta, enquanto o controle precisou de aproximadamente 6kg a mais.

Tabela 5 – Características morfológicas e mecânicas da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.

Temperatura	Peso (g)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Força para quebra (kg)
TCO-B	12,535 ^b	94,673 ^b	7,978 ^b	25,371 ^{ab}
TCO-C	15,036 ^a	103,26 ^a	8,612 ^a	27,981 ^a
TCO-A	11,571 ^{bc}	87,064 ^c	6,844 ^c	23,051 ^{bc}
TCO-MA	11,238 ^c	86,517 ^c	6,416 ^c	22,099 ^c
SEM	0,245	0,915	0,126	0,495
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

^{a,b,c} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C= controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n =64.

Da mesma forma, Yalçin et al. (2007) concluíram que temperaturas baixas (36,9°C) e altas (39,6°C) aplicadas do 10º ao 18º dia de incubação, resultaram em pesos menores da tíbia na idade de abate em comparação com uma temperatura controle (37,8°C). Oviedo-Rondón et al. (2009) também encontraram resultados comparáveis com aves da mesma idade ao aplicar uma TCO alta (38,9°C) durante os últimos 4 dias de incubação em comparação a uma TCO de 36,9°C. No estudo de Morita et al. (2020), em frangos de corte de 6 semanas de idade, nenhum efeito nas dimensões dos ossos ou no conteúdo de cinzas após o aumento da temperatura na terceira semana de incubação foi encontrado.

Güz et al. (2020), pelo contrário, encontraram resultados favoráveis para peso e resistência óssea da tíbia de frangos na idade de abate quando utilizaram altas TCO (38,9°C) na segunda semana de incubação, em comparação com TCO controle (37,8°C). A respeito da TCO baixa (36,7°C) aplicada na terceira semana, esses autores verificaram que essa redução da temperatura não afetou as características morfológicas da tíbia, porém um efeito negativo foi encontrado na força para fratura.

A partir da segunda semana de incubação das aves, o esqueleto, até então apenas modulado por cartilagem, começa a mineralizar e crescer rapidamente, o que perdura

até o período pós-natal (Bellairs e Osmond, 2005; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Barbosa, 2011). A formação e crescimento ósseo ocorre tanto por ossificação intramembranosa como endocondral (Marks e Odgren, 2002; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Long e Ornitz, 2013; Berendsen e Olsen, 2015), sendo que há o crescimento intersticial (longitudinal/comprimento) e o crescimento aposicional (radial/largura/espessura/diâmetro) (Whitehead, 2004). Porém, Oznurlu et al. (2016) citam que os fatores envolvidos na incubação podem controlar a ossificação de embriões, principalmente a temperatura. Nesse caso, as modificações térmicas aplicadas entre o 8º ao 18,5º dia no atual estudo, prejudicaram a formação e mineralização da tíbia, o que pode ser observado nos resultados anteriores de minerais séricos e ósseos. Consequentemente isso impactou negativamente características morfométricas, como peso, comprimento e largura da tíbia.

Al Amaz e Mishra (2024), em uma revisão de literatura, também concluíram que a redução do comprimento e largura da diáfise de ossos longos da perna indica que os processos de crescimento, especificamente os intramembranosos e endocondrais, foram afetados.

Além disso, já foi proposto que o estresse térmico durante o desenvolvimento embrionário, causado por temperaturas acima do padrão, aumenta os níveis de corticosteroides. Esses hormônios, quando em altas quantidades no organismo, promovem o prolongamento da sobrevivência dos osteoclastos, fazendo com que haja um aumento desenfreado da reabsorção óssea. Junto a isso, eles inibem a diferenciação e a função dos osteoblastos, pois reprimem fatores genéticos essenciais para a formação normal dessas células, contribuindo inclusive para o aumento da apoptose, tanto de osteoblastos quanto de osteócitos. Dessa forma, a reposição óssea não é realizada e a qualidade morfológica do tecido se torna prejudicada (Kream e Lukert, 2002; Robson et al., 2002; Hofbauer e Rauner, 2009; Lakatos et al., 2019).

Esses hormônios também promovem a inibição da insulina, outro responsável pela diferenciação celular óssea normal. Sabe-se que a hiperglicemia provoca o comprometimento tanto da ossificação intramembranosa quanto endocondral, demonstrada pela quantidade reduzida de células mesenquimais diferenciadas; consequentemente a osteoblastogênese é afetada, diminuindo a formação de osteóides e a deposição mineral óssea (Lu et al., 2003; Gandhi et al., 2005; Retzepi e Donos, 2010; Saito et al., 2014; Jiao et al., 2015; Cignachi et al., 2020).

Portanto, dentre outros motivos, é provável que as aves desse estudo, expostas a altas temperaturas na incubação, tenham tido menor crescimento comparadas às do controle, devido aos resultados das condições hormonais demonstradas anteriormente e, provavelmente também, devido a uma maior produção dos hormônios oriundos do estresse e seus efeitos, afetando a morfometria dos ossos na idade de abate.

A força óssea é a resistência ou a capacidade de suportar o estresse aplicado, portanto, está relacionado à carga ou tensão final na qual o osso irá quebrar (Rath et al., 2000). O teor de cinzas, Ca e P presentes nos ossos também está associado à resistência ou força para quebra (Sanchez-Rodriguez et al. 2019; Ma et al. 2020). Como os grupos que tiveram a TCO modificada apresentaram ossos menos mineralizados, era esperado que a mecânica deles fosse prejudicada, o que foi observado através dos valores de força para quebra demonstrado. De acordo com Sanchez-Rodriguez et al. (2019), ossos mais porosos, ou seja, menos mineralizados, tendem a terem suas propriedades mecânicas prejudicadas. A maior taxa de crescimento, mineralização e o consequente aumento da força e rigidez do osso ocorrem na última semana de incubação (Applegate e Lilburn; 2002; Yair et al. 2012). Como as modificações térmicas foram aplicadas até o 18,5º dia, houve esse efeito negativo sobre essa característica óssea.

Quando os frangos tinham um dia de idade, Azevedo (2022) identificou que as modificações térmicas também causaram diminuição das medidas morfológicas e mecânicas da tíbia, principalmente a TCO muito alta. Isso demonstra que os efeitos negativos da temperatura de incubação diferente do padrão refletem não só imediatamente após a eclosão, como também se perpetua até a idade de abate.

É importante pontuar que a baixa resistência óssea provavelmente causará fraturas durante a criação, captura e transporte, resultando em um risco aumentado de mortalidade antes mesmo de chegarem ao abate (Julian, 1998).

Com relação às desordens ósseas e locomotoras apresentadas por essas aves, a Tabela 6 aponta cada uma delas. Observa-se que as aves mais afetadas pela discondroplasia tibial (DT) foram aquelas expostas às temperaturas acima das do grupo controle ($p \leq 0,05$), pois apresentaram uma média de pontuação maior para essa alteração. Referente ao teste do *Latency-to-Lie* (LTL) ou comumente chamado de “tempo em pé”, todos os tratamentos de modificação térmica se mostraram diferentes do controle ($p \leq 0,05$), sendo que as aves deste último grupo apresentaram maior média de tempo de permanência em pé, seguido pelas do grupo TCO baixo, e semelhantes estatisticamente, pelas aves TCO alta e muito alta. No teste do *Gait Score* (GS) ou

pontuação de marcha, as aves dos tratamentos de altas temperaturas (38,9°C e 39,4°C) também foram as que sofreram mais impactos negativos, apresentando maior média de pontuação quando comparado ao controle ($p \leq 0,05$). Sobre os resultados da deformidade Valgo-Varo (VV), as aves de todos os tratamentos de temperatura modificada tiveram semelhança estatística entre si ($p > 0,05$), porém com diferença das do controle ($p \leq 0,05$). Esses grupos expostos às modificações térmicas tiveram maiores médias de pontuação para essa desordem. Por fim, os valores para pododermatite (PD) demonstraram que apenas as aves da TCO muito alta diferiram da TCO controle ($p \leq 0,05$), tendo maiores médias pontuadas.

A etiologia completa de alguns distúrbios do desenvolvimento ósseo não é completamente compreendida. No entanto, há evidências de que esses problemas podem começar muito cedo, ou seja, quando os frangos de corte têm a taxa mais rápida de crescimento ósseo: dias antes e alguns dias após a eclosão. Como a diferenciação da placa de crescimento dos ossos longos e o seu desenvolvimento se inicia na embriogênese, é justo pensar que essas doenças ósseas se originam ainda nessa fase (Applegate e Lilburn, 2002; Yalçın et al. 2007; Oviedo-Rondón et al. 2009; Shim e Pesti, 2011; Oznorlu et al. 2016).

Tabela 6 – Desordens ósseas e locomotoras de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com modificação térmica em temperatura baixa (TCO-B), alta (TCO-A) e muito alta (TCO-MA) entre os dias 8 e 18,5°.

Temperatura	DT	VV	PD	LTL	GS
TCO-B	1,56 ^{ab}	1,04 ^a	0,66 ^{ab}	164,08 ^b	1,64 ^{bc}
TCO-C	0,75 ^b	0,47 ^b	0,39 ^b	255,67 ^a	1,14 ^c
TCO-A	1,75 ^a	1,16 ^a	0,91 ^{ab}	117,42 ^c	2,20 ^{ab}
TCO-MA	1,75 ^a	1,35 ^a	1,04 ^a	109,04 ^c	2,43 ^a
SEM	0,125	0,077	0,081	6,442	0,098
Valor de P	0,01	0,0004	0,0251	<0,0001	<0,0001

^{a,b,c} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; TCO-C= controle (37,8°C – sem modificação térmica); TCO-B = modificação térmica a 36,7°C; TCO-A = modificação térmica a 38,9°C; TCO-MA = modificação térmica a 39,4°C. DT = discondroplasia tibial; LTL = Latency-To-Lie; GS = gait score; VV = deformação valgo-varo; PD = pododermatite.

SEM: erro padrão da média. DT: n=64; LTL: n=96; GS, VV e PD: n=192.

A discondroplasia é uma desordem óssea causada pelo acúmulo anormal de cartilagem na placa de crescimento da tibia, que ocorre devido ao comprometimento da ossificação endocondral normal, com retardo ou atrofia da diferenciação dos condrócitos hipertróficos (Farquharson e Jefferies, 2000; Pines e Reshef, 2015; Crespo e Shivaprasad, 2017; Akyüz e Onbasilar, 2020; Güz, 2022). Acredita-se que isso seja causado por algum fator ainda não elucidado, que inibe a angiogênese e consequentemente a mineralização local (Crespo e Shivaprasad, 2017; Huang et al. 2019).

As linhagens atuais de frangos de corte têm um crescimento muito acelerado e um alto ganho de peso. Esse fator genético pode ter relação com o surgimento da DT (Pines e Reshef, 2015). Groves e Muir (2017) apontaram que temperaturas de incubação a partir de 37,8°C promovem alta taxa de crescimento inicial das aves (primeiros 7 dias de vida), e que é justamente isso o determinante para o desenvolvimento dessa doença. Segundo os autores, temperaturas mais baixas (36,9 a 37,3°C), aplicadas entre os dias 7 a 15 de incubação, podem reduzir a incidência de DT em aves com 34 dias, através do atraso no tempo de eclosão e assim, do crescimento acelerado. Todavia, isso não foi

observado no presente estudo, já que a TCO 36,7°C (baixa) se manteve maior, mas estatisticamente igual à TCO 37,8°C (controle), e semelhante às altas temperaturas de incubação, que tiveram as maiores médias de pontuação. Sendo assim, ficou evidenciado que qualquer modificação térmica provoca DT em aves de corte. Para Yalçin *et al.* (2007) e Genin *et al.* (2008), variações de temperatura de incubação afetam a expressão do gene colágeno, o que resulta em uma zona proliferativa maior e com condrócitos não diferenciados em hipertróficos na placa de crescimento tibial, não ocorrendo, dessa forma, a invasão de vasos sanguíneos locais.

A deformidade valgo-varo é um problema considerado difícil e mais frequente em machos de linhagens de crescimento rápido, pois prejudica a locomoção e, em casos graves, leva à morte por fome e desidratação (Shim *et al.* 2012b; Mendonça Júnior *et al.* 2020). A causa não foi totalmente definida, podendo ser de origem genética ou de desenvolvimento. A DT também pode ocasionar o surgimento da VV (Julian, 2005; Crespo e Shivaprasad, 2017; Mendonça Júnior *et al.* 2020). Segundo Oviedo-Rondón *et al.* (2008), fatores ligados à incubação também podem originar essa deformidade, pois altas temperaturas e hipóxia reduzem o desenvolvimento ósseo e aumentam a assimetria relativa dos ossos longos. Guo *et al.* (2019) afirmaram que a VV afeta negativamente o desempenho dos frangos (baixo ganho de peso), a morfometria e a qualidade óssea. Em estudo mais recente, Cai *et al.* (2023) reforçaram que a presença dessa alteração afeta as características ósseas e ainda aquelas ligadas ao abate. No presente estudo, todas as aves submetidas a modificações térmicas na incubação tiveram maiores pontuações para VV e piores índices de desempenho, de morfometria e composição óssea, o que corrobora com as pesquisas citadas.

A pododermatite é uma inflamação da superfície ou coxim plantar dos pés que também causa dor e consequente comprometimento da locomoção das aves e do desempenho (Dibner *et al.* 2007; Bassler *et al.* 2013; Mendonça Júnior *et al.* 2020). No presente estudo foi evidenciado que o grupo TCO alta foi o único tratamento que se diferenciou do controle quanto à gravidade de PD, tendo a pior média de pontuação para essa alteração. Em consonância com Ipek e Sozcu (2016), foi constatado que a temperatura de 39,4°C na incubação provavelmente afetou de forma negativa a resistência da pele, causando maior incidência dessa lesão nesse grupo. Da Costa *et al.* (2014) também relataram que alterações da temperatura de incubação podem causar uma redução no conteúdo de colágeno da pele da superfície plantar, outro motivo justificável para o surgimento da PD. Segundo Jong *et al.* (2012), a qualidade do

pintinho pode determinar a sua susceptibilidade a doenças podais. Sendo assim, fatores físicos da incubação, como a temperatura, podem promover a afecção (Da Costa et al. 2014; Ipek e Sozcu, 2016).

Groves e Muir (2017) também evidenciaram que as aves que apresentaram maiores pontuações de DT, ficaram por menos tempo no teste *Latency-to-Lie* (LTL), indicando que lesões mais graves dessa doença estão associadas a menor força e mobilidade das pernas. Os resultados do LTL do estudo atual coincidem com essa informação, já que os frangos oriundos das incubações com modificações térmicas tiveram maiores pontuações para DT e ficaram por menos tempo em pé, sendo piores para aquelas dos TCO alta e muito alta.

Bradshaw et al. (2002) mencionaram que algumas deformidades nas pernas são dolorosas e podem diminuir a capacidade de andar dos frangos de corte, prejudicando a sua movimentação e acesso ao alimento e à água. Kettukat et al. (2023) apontaram que a DT é uma dessas doenças que levam à capacidade de andar prejudicada. Por isso, no presente estudo, foi evidenciado que as maiores (piores) pontuações de marcha foram observadas nas aves que tiveram maior incidência de DT, que foram as dos tratamentos com alta e muito alta TCO. Güz et al. (2020) afirmaram que uma menor (melhor) pontuação de marcha provavelmente ocorre quando há uma boa resistência óssea, o que, como já demonstrado anteriormente, não foi observado neste presente estudo. Ipek et al. (2016) também destacaram que frangos de corte submetidos na incubação a altas temperaturas têm a capacidade de andar comprometida devido ao pior desenvolvimento ósseo, o que também foi analisado nos resultados já demonstrados até aqui.

Ipek e Sozcu (2016), ao incubar ovos em TCO a 38,9°C-40°C (alta) ou a 33,3-36,7°C (baixa), continuamente entre o 10º ao 18º dia, e compará-las a condições controle (37,8°C a 38,2°C), observaram que, aos 42 dias de idade, as aves do grupo alta tinham maior pontuação de marcha (*Gait Score*) 3 (aves com anormalidade óbvia, com capacidade de movimento afetada, não ficando em pé por mais de 15 segundos e caminha deitada) e 4 (anormalidade grave, não quer andar, usa asas como muletas, dá apenas alguns passos) do que as do controle. Os autores também destacaram que ambas as temperaturas modificadas refletiram negativamente no desempenho das aves, já que esses grupos apresentaram menor PC e pior CA.

Em síntese, nota-se que os distúrbios nas pernas e defeitos na capacidade de locomoção resultam em redução do desempenho dos frangos, incluindo peso vivo, ganho de peso e consumo de ração, e tais defeitos também aumentam a dor e o

desconforto. Sendo assim, é importante pontuar que essas alterações nos padrões de locomoção das aves não só causam impactos econômicos, como também para o bem-estar desses animais (Ipek e Sozcu, 2016; Shim et al. 2012b).

Conclusão

Apesar da temperatura de 39,4°C ter se apresentado como a que mais comprometeu a produção dos frangos de corte, todas as temperaturas de incubação diferentes da comumente utilizada (37,8°C), aplicadas de forma constante entre os dias 8 e 18,5 de incubação, afetam negativamente as características morfológicas, biofísicas e mecânicas da tíbia de frangos de corte em idade de abate, o que desencadeia uma maior incidência de desordens ósseas e locomotoras. Consequentemente, foi observado um comprometimento dos parâmetros fisiológicos e do desempenho geral das aves, incluindo o rendimento de carcaça.

Referências

- Akyüz, H. C., e Onbaşilar, E. E. 2020. Non-infectious skeletal disorders in broilers, *World's Poultry Science Journal*, 76(3): 611-623.
- Al Amaz, S., e Mishra, B. 2024. Embryonic thermal manipulation: a potential strategy to mitigate heat stress in broiler chickens for sustainable poultry production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15(75).
- Al-Musawi, S.L., Stickland, N.C., e Bayol, S.A. 2012. In ovo temperature manipulation differentially influences limb musculoskeletal development in two lines of chick embryos selected for divergent growth rates. *J. Exp. Biol.* 215:1594–1604.
- Angel, R. 2007. Metabolic Disorders: Limitations to Growth of and Mineral Deposition into the Broiler Skeleton after Hatch and Potential Implications for Leg Problems. *Journal Applied Poultry Research*, 16: 138–149.
- AOAC. 2012. *Official Method of Analysis: Association of Analytical Chemists*. 19th Edition, Washington DC, 121-130.
- Applegate, T. J., e Lilburn, M. S. 2002. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry Science*, 8: 1289–1294.
- Aygun, A., e Narinc, D. 2016. The Effects of Thermal Manipulations During Embryogenesis of Broiler Chicks on Growth of Embryo and Skeletal Traits. *Anais da Conferência AIP*, 1726(1).

Azevedo, I. L. 2022. Influência da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento ósseo de embriões e pintos de corte recém-eclodidos. 121 f. *Tese (Doutorado)* – Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador.

Azevedo, I. L., Silva, T.P.B., Franca, T.N., Mercês, N.B., Martins, L.K.S.A., Vidal, L. V.O., e Barbosa, V. M. 2023. Bone development of embryos and broiler chicks incubated at different temperatures. In: Conferência Facta Wpsa-Brasil, 2023. Campinas. Anais [...]. Campinas: FACTA WPSA-Brasil.

Barbosa, V. M. 2011. Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário. Belo Horizonte: FEP MVZ. 124 p.

Bassler, A.W., Arnould, C., Butterworth, A., Colin, L., De Jong, I. C., e Ferrante, V. 2013. Potential risk factors associated with contact dermatitis, lameness, negative emotional state, and fear of humans in broiler chicken flocks. *Poultry Science*, 92: 2811-2826.

Bellairs, R., e Osmond, M. 2005. *The atlas of chick development*, Elsevier.

Belnap, S. C., Currea, J. P., e Lickliter, R. 2019. Prenatal incubation temperature affects neonatal precocial birds' locomotor behavior. *Physiology & Behavior*, 206: 51–5.

Berendsen, A., e Olsen, B.R. 2015. Bone development. *Bone*, 80: 14-18.

Berg, C., e Sanotra, G. 2003. Can a modified Latency-to-Lie test be used to validate gait-scoring results in commercial broiler flocks? *Animal Welfare*, 12(4): 655-659.

Borges, S. A., Fischer da Silva, A. V., Ariki, J., Hooge, D. M., e Cummings, K. R. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. *Poultry Science*, 82: 428-435.

Bradshaw, R. H., Kirkden, R. D., e Broom, D. M. 2002. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broilers in relation to welfare. *Avian Poultry Biology Reviews*, 13: 45-103.

Brookes, M. U., e May, K. U. 1972. The influence of temperature on bone growth in the chick. *Journal of Anatomy*, 111: 351–363.

Cai, C., Zhang, L., Liu, X., Li, J., Ma, Y., Jiang, R., Li, Z., Li, G., Tian, Y., Kang, X., e Han, R. 2023. Carcass composition, meat quality, leg muscle status, and its mRNA expression profile in broilers affected by valgus-varus deformity. *Poultry Science*, 102.

Capelo, L. P., Beber, E. H., Huang, S. A., Zorn, T. M. T., Bianco, A. C., e Gouveia, C. H. A. 2008. Deiodinase-mediated thyroid hormone inactivation minimizes thyroid hormone signaling in the early development of fetal skeleton. *Bone*, 43: 921–930.

Ceylan, N., Yavas, I., e Çenesiz, A. A. 2020. Effects of herbal vitamin D3 and phytase supplementation to broiler feed on performance, bone development and serum parameters of broilers. *Journal of Agricultural Sciences*, 26:212-219.

- Cignachi, N. P., Riveiro, A., Machado, G. D. B., Cignachi, A. P., Kist, L. W., Bogo, M. R., Silva, R. B. M., e Campos, M. M. 2020. Bone regeneration in a mouse model of type 1 diabetes: Influence of sex, vitamin D3, and insulin. *Life Sciences*, 263.
- Clark, D. L., Walter, K. G., e Velleman, S. G. 2017. Incubation temperature and time hatch impact broiler muscle growth and morphology. *Poultry Science*, 96: 4085-4095.
- Cobb-Vantress. 2009. Manual de manejo de frangos de corte. Disponível em: Cobb-Manual-Frango-Corte-BR.pdf. Acesso em: 20 de out. de 2024.
- Crespo, R., e Shivaprasad, H. L. 2017. Developmental, Metabolic, and Other Noninfectious Disorders. In: SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*, 13th Ed., Ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa. 1160-1162.
- Da Costa, M. J., Eviedo-Rondón, E. O., Wineland, M. J., Wilson, J., e Montiel, E. 2014. Effects of breeder feeding restriction programs and incubation temperatures on progeny footpad development. *Poultry Science*, 93: 1900–1909.
- Dacke, C. G. 2000. The Parathyroids, Calcitonin, and Vitamin D. In: WHITTOW, G. C. *Sturkie's Avian Physiology*, Fifth Edition, Elsevier.
- Dibner, J. J., Richards, J. D., Kitchell, M. L., e Queiroz, M. A. 2007. Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research*. 16: 126-137.
- Edwards, H. M., e Veltmann, J. R. 1983. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in Young chicks. *The Journal of Nutrition*, 113(8): 1568-1575.
- Farquharson, C., e Jefferies, D. 2000. Chondrocytes and Longitudinal Bone Growth: The Development of Tibial Dyschondroplasia. *Poultry Science*, 79: 994-1004.
- Franca, T. N. 2024. Influência da temperatura na fase inicial de incubação sobre a embriogênese e desenvolvimento ósseo de pintos de corte. 150 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador.
- French, N.A. 1997. Modelling incubation temperature: the effect of incubator design, embryonic development and egg size. *Poultry Science*, 76: 124 – 133.
- Gandhi, A., Beam, H. A., O'Connor, P., Parsons, J. R., e LIN, S. S. 2005. The effects of local insulin delivery on diabetic fracture healing. *Bone*, 37: 482 – 490.
- Genin, O., Hasdai, A., Shinder, D., e Pines, M. 2008. Hypoxia, Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α), and Heat-Shock Proteins in Tibial Dyschondroplasia. *Poultry Science*, 87: 1556–1564.
- Gogakos, A. I., Basset, J. H. D., e Williams, G. R. 2010. Thyroid and bone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 503: 129-136.
- Gouveia, C. H. A., Miranda-Rodrigues, M., Martins, G. M., e Neofiti-Papi, B. 2018. Thyroid Hormone and Skeletal Development. In: LITWACK, G. *Vitamins and Hormones*, 106: 1-544, Elsevier.

- Groves, P. J., e Muir, W. I. Incubation can affect broiler leg strength. Australian Poultry Science Symposium, 2011.
- Groves, P. J., e Muir, W. I. 2017. Earlier hatching time predisposes Cobb broiler chickens to tibial dyschondroplasia. *Animal*, 11(1): 112–120.
- Guo, Y., Tang, H., Wang, X., Li, W., Wang, Y., Yan, F., Kang, X., Li, Z., e Han, R. 2019. Clinical assessment of growth performance, bone morphometry, bone quality, and serum indicators in broilers affected by valgus-varus deformity. *Poultry Science*, 98: 4433–4440.
- Güz, B. C., Molenaar, R., De Jong, I. C., Kemp, B., Van Den Brand, H., e Van Krimpen, M. 2019. Effects of dietary organic minerals, fish oil and hydrolyzed collagen on growth performance. *Poultry Science*, 98: 6552-6563.
- Güz, B. C., Molenaar, R., De Jong, I. C., Kemp, B., Van Krimpen, M., e Van Den Brand, H. 2020. Effects of eggshell temperature pattern during incubation on tibia characteristics of broiler chickens at slaughter age. *Poultry Science*, 99: 3020-3029.
- Güz, B. C. 2022. Healthy bones for broiler chickens. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Graduate School of Wageningen Institute of Animal Sciences (WIAS). Wageningen, p. 326.
- Hammond, C. L., Simbi, B. H., e Stickland, N. C. 2007. In-ovo temperature manipulation influences embryonic motility and growth of limb tissues in the chick (*Gallus domesticus*). *The Journal of Experimental Biology*, 210: 2667–2675.
- Hartmann, K., Koenen, M., Schauer, S., Wittig-Blaich, S., Ahmad, M., Baschant, U., e Tuckermann, J. P. 2016. Molecular Actions of Glucocorticoids in Cartilage and Bone During Health, Disease, and Steroid Therapy. *Physiology Review*, 96(2): 409-47.
- Ha-Young, K., e Subburaman, M. 2013. Role and Mechanisms of Actions of Thyroid Hormone on the Skeletal Development. *Bone Research*, 2: 146-16.
- Hofbauer, L. C.; Rauner, M. 2009. Minireview: live and let die: molecular effects of glucocorticoids on bone cells. *Molecular Endocrinology*, 23(10): 1525-1531.
- Huang, S., Rehman, M. U., Lan, Y., Qiu, G., Zhang, H., Iqbal, M. K., Luo, H., Mehmood, K., Zhang, L., e Li, J. 2019. Tibial dyschondroplasia is highly associated with suppression of tibial angiogenesis through regulating the HIF-1 α /VEGF/ VEGFR signaling pathway in chickens. *Scientific REPOrTS*, 7.
- Hulet, R., Gladys, G., Hill, D., Meijerhof, R., e El Shiekh, T. 2007. Influence of eggshell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. *Poultry Science*, 86: 408-412.
- Imari, Z. K., Hassanabadi, A., e Moghaddam, H. N. 2020. Response of broiler chickens to calcium and phosphorus restriction: effects on growth performance, carcass traits, tibia characteristics and total tract retention of nutrients. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1): 929-939.

- Ipek, A., Sahan, U., Baycan, S. C., e Sozcu, A. 2014. The effects of different eggshell temperatures on embryonic development, hatchability, chick quality, and first-week broiler performance. *Poultry Science*, 93(2): 464-472.
- Ipek; A., e Sozcu, A. 2016. The effects of egg-shell temperature fluctuations during incubation on welfare status and gait score of broilers. *Poultry Science*, 95: 1296–1303.
- Janish, S., Sharifi, A. S., Wicke, M., e Krischek, C. 2015. Changing the incubation temperature during embryonic myogenesis influences the weight performance and meat quality of male and female broilers. *Poultry Science*, 94(10): 2581-2588.
- Jiao, H., Xiao, E., e Graves, D. T. 2015. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Current Osteoporosis Reports*, 13(5): 327–335.
- Jong, I. C., Harn, J., Gunnink, H., Hindle, V. A., e Lourens, A. 2012. Footpad dermatitis in Dutch broiler flocks: Prevalence and factors of influence. *Poultry Science*, 91: 1569–1574.
- Joseph, N. S., Lourens, A., e Moran Jr, E. T. 2006. The Effects of Suboptimal Eggshell Temperature During Incubation on Broiler Chick Quality, Live Performance, and Further Processing Yield. *Poultry Science*, 85: 932–938.
- Julian, R. J. 1998. Rapid Growth Problems: Ascites and Skeletal Deformities in Broilers. *Poultry Science*, 77: 1773–1780.
- Julian, R. J. 2005. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry – A review. *The Veterinary Journal*, 169: 350–369.
- Kamanli, S., Yalçın, Z. S., Tasdemir, A. N., Tarim, B., T'Lek, E., Aygören, H., Meral, O., Karsli, B., Ansal Balci, T., e Bozkurt, M. 2021. Effect of eggshell temperatures on hatching performance, egg production, and bone morphology of laying hens. *Turkey Journal Veterinary Animal Science*, 45: 11-20.
- Kettrukat, T., Grochowska, E., Therkildsen, M. 2023. The effect of incubation temperature in the development of the locomotor system and welfare in broiler chickens: A review. *Livestock Science*, 276.
- Krausova, T., e Peterka, M. 2007. Teratogenic and lethal effects of 2–24 h hyperthermia episodes on chick embryos. *Journal of Thermal Biology*, 32: 193–203.
- Kream, B. E., e Lukert, B. P. 2002. Clinical and Basic Aspects of Glucocorticoid Action in Bone. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., v. 1.
- Krischek, C., Kuembet, U., Wicke, M., e Gerken, M. 2013. A higher incubation temperature between embryonic day 3 and 6 influences growth and meat quality characteristics of broiler after hatch. *Arch.Geflügelk.*, 77(1): 59- 65.
- Lakatos, P., Szili, B., Bakos, B., Takacs, I., Putz, Z., e Istenes, I. 2019. Thyroid Hormones, Glucocorticoids, Insulin, and Bone. *Handbook of Experimental Pharmacology*, v. 262: 93-120.

- Lefebvre, V., e Bhattaram, P. 2010. Vertebrate Skeletogenesis. Current Topics in Developmental Biology, 90.
- Leterrier, C., e Nys, Y. 1992. Clinical and anatomical differences in varus and valgus deformities of chick limbs suggest different aetio-pathogenesis. Avian Pathology, 21: 429–442.
- Lin, Y. M., Druyan, S., Yahav, S., e Brake, J. 2017. Thermal treatments prior to and during the beginning of incubation affects development of the broiler embryo and yolk sac membranes, and live performance and carcass characteristics. Poultry Science, 96(6): 1939-1947.
- Long, F., e Ornitz, D. M. 2013. Development of the Endochondral Skeleton. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 5.
- Lourens, A., Van Den Brand, H., Meijerhof, R., e Kemp, B. 2005. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and post-hatch development. Poultry Science, 84: 914-920.
- Lourens, A., Van Den Brand, H., Heetkamp, M. J. W., Meijerhof, R., e Kemp, B. 2007. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. Poultry Science, 86: 2194-2199.
- Lu, H., Kraut, D., Gerstenfeld, L. C., e Graves, D. T. 2003. Diabetes Interferes with the Bone Formation by Affecting the Expression of Transcription Factors that Regulate Osteoblast Differentiation. Endocrinology, 144(1): 346–352..
- Ma, H., Xu, B., Li, W., Wei, F., Kim, W. K., Chen, C., Sun, Q., Fu, C., Wang, G., e Li, S. 2020. Effects of alpha-lipoic acid on the behavior, serum indicators, and bone quality of broilers under stocking density stress. Poultry Science, 99: 4653-4661.
- Marks, S. C., e Odgren, P. R. 2002. Structure and Development of the Skeleton. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. Principles of bone biology, 2th ed., v. 1.
- Matuszewski, A., Lukasiewicz, M., e Niemiec, J. 2020. Calcium and phosphorus and their nanoparticle forms in poultry nutrition. World's Poultry Science Journal, 76(2): 328-345.
- McNabb, F. M. A. 2000. Thyroids. In: Whittow, G. C. Sturkie's Avian Physiology, Fifth Edition , Elsevier.
- Mendonça júnior, C. X., Furlan, R. L., Amoroso, L., e Almeida, E. A. 2020. Fisiopatologia do sistema locomotor. In: Andreatti Filho, R. L.; Berchieri Júnior, A.; Silva, E. N.; Back, A. Fabio, J.; Zuanaze, M. A. F. Doenças das aves. 3 ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, p. 245-267.
- Molenaar, R., Reijrink, I. A. M., Meijerhof, R., e Van Den Brand, H. 2010. Meeting Embryonic Requirements of Broilers Throughout Incubation: A Review. Brazilian Journal of Poultry Science, 12(3): 137 – 148.

- Molenaar, R., Hulet, R., Meijerhof, R., Maatjens, C. M., Kemp, B., e Brand, H. V. D. 2011. High eggshell temperatures during incubation decrease growth performance and increase the incidence of ascites in broiler chickens. *Poultry Science*, 90: 624–632.
- Morita, V. S., Almeida, V. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Van Den Brand, H., e Boleli, I. C. 2016a. Incubation Temperature during Fetal Development Influences Morphophysiological Characteristics and Preferred Ambient Temperature of Chicken Hatchlings. *PLoS ONE*, 11(5).
- Morita, V. S., Almeida, V. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Van Den Brand, H., e Boleli I. C. 2016b. Incubation temperature alters thermal preference and response to heat stress of broiler chickens along the rearing phase. *Poultry Science*, 95: 1795–1804.
- Morita, V. S., Almeida, A. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Zanirato, G. L., e Boleli, I. C. 2020. Neither altered incubation temperature during fetal development nor preferred rearing temperature improves leg bone characteristics of broilers. *Journal of Thermal Biology*, 93: 102726.
- Namgung, R., e Tsang, R. C. 2012. Perinatal calcium and phosphorus metabolismW. Oh, J.P. Guignard, S. Baumgart (Eds.), *Nephrology and Fluid/Electrolyte Physiology. Neonatology Questions and Controversies* (2nd ed.), Elsevier Saunders, Philadelphia, pp. 85-103.
- Ohlsson, C., Bengtsson, B., Isaksson, O. G. P., Andreassen, T. T., e Slootweg, M. C. 1998. Growth Hormone and Bone. *Endocrine Reviews*, 19(1): 55–79.
- Okubo, Y., e Hari Reddi, A. 2003. Thyroxine downregulates Sox9 and promotes chondrocyte hypertrophy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306: 186–190.
- Oviedo-Rondón, E. O., Small, J., Wineland, M. J., Christensen, V. L., Mozdziak, P. S., Koci, M. D., Funderburk, S. V. L., Ort, D. T., e Mann, K. M. 2008. Effects of incubator temperature and oxygen concentration during the plateau stage of oxygen consumption on turkey embryo long bone development. *Poultry Science*, 87: 1484–1492.
- Oviedo-Rondón, E. O., Wineland, M. J., Small, J., Cutchin, H., McElroy, A., Barri, A., e Martin, S. 2009. Effect of incubation temperatures and chick transportation conditions on bone development and leg health. *Journal of Applied Poultry Research*, 18: 671–678.
- Oznurlu, Y., Sur, E., Ozaydin, T., Celik, I., e Uluisik, D. 2016. Histological and histochemical evaluations on the effects of high incubation temperature on the embryonic development of tibial growth plate in broiler chickens. *Microscopy Research and Technique*, 79: 106–110.
- Piestun, Y., Druyan, S., Brake, J., e Yahav, S. 2013. Thermal manipulations during broiler incubation alter performance of broilers to 70 days of age. *Poultry Science*, 92: 1155–1163.
- Pines, M., e Hurwitz, S. 1991. The Role of the Growth Plate in Longitudinal Bone Growth. *Poultry Science*, 70: 1806-1814.

- Rath, N. C., Balog, J. M., Huff, G. R., Kulkarni, G. B., e Tierce, J. F. 2000. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- and seventy-two-ween-old male and female broiler breeder chickens. *Poultry Science*, 78: 1232-1239.
- Retzepi, M., e Donos, N. 2010. The effect of diabetes mellitus on osseous healing. *Clinical Oral Implants Research*, 21: 673-681.
- Robson, H., Siebler, T., Shalet, S. M., e Williams, G. R. 2002. Interactions between GH, IGF-I, glucocorticoids, and thyroid hormones during skeletal growth. *Pediatric Research*, 52(2): 137-147.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., e Hannas, M.I. et al. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. Viçosa: UFV. 488p.
- Saito, M., Kida, Y., Kato, S., e Marumo, K. 2014. Diabetes, Collagen, and Bone Quality. *Current Osteoporosis Report*, 12:181-188.
- Sanchez-Rodriguez, E., Benavides-Reyes, C., Torres, C., Dominguez-Gasca, N., Garcia-Ruiz, A. I., Gonzales-Lopez, S., e Rodriguez-Navarro, A. B. 2019. Changes with age (from 0 to 37 D) in tibiae bone mineralization, chemical composition and structural organization in broiler chickens. *Poultry Science*, 98: 5215-5225.
- Scanes, C. G., e Harvey, S. 1984. Hormones and Growth in Poultry. *Poultry Science*, 63: 2062-2074.
- Semenenko, M., Kuzminova, E., Semenenko, K., Vlasenko, A., e Zholobova, I. 2021. Biochemical markers of bone tissue metabolism in broiler chickens. *Web of conferences*, 2073.
- Shao, Y. Y., Wang, L., e Ballock, R. T. 2006. Thyroid hormone and the growth plate. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 7: 265-271.
- Shim, M. Y., Karnuah, A. B., Anthony, N. B., Pesti, G. M., e Aggrey, S. E. 2012a. The effects of broiler chicken growth rate on valgus, varus, and tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 91: 62-65.
- Shim, M. Y., Karnuah, A. B., Mitchell, A. D., Anthony, N. B., Pesti, G. M., e Aggrey, S. E. 2012b. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. *Poultry Science*, 91: 1790-1795.
- Sozcu, A., e Ipek, A. 2015. Acute and chronic eggshell temperature manipulations during hatching term influence hatchability, broiler performance, and ascites incidence. *Poultry Science*, 94: 319-327.
- Stanford, M. 2006. Calcium metabolism. In: Harrison GJ, Lightfoot TL, editors. *Clinical avian medicine*, v. 1, Palm Beach (FL): Spix Publishing; p. 141-51.
- Stern, P. H. 2002. Thyroid hormone and bone. In: Bilezikian, J. P., Raisz, L. G., e Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., v. 1.

- Sun, Z. W., Fan, Q. H., Wang, X. X., Guo, Y. M., Wang, H. ., Dong, X. 2018. High stocking density alters bone-related calcium and phosphorus metabolism by changing intestinal absorption in broiler chickens. *Poultry Science*, 97: 219-226.
- Tilgar, V., Kilgas, P., Viitak, A., Reynolds, S. J. 2008. The rate of bone mineralization in birds is directly related to alkaline phosphatase activity. *Physiological and biochemical zoology*, 81(1): 106-111.
- Tinawi, M. 2021. Disorders of Calcium Metabolism: Hypocalcemia and Hypercalcemia. *Cureus*, 13(1).
- Tzschentke, B., e Halle, I. 2009. Influence of temperature stimulation during the last 4 days of incubation on secondary sex ratio and later performance in male and female broiler chicks. *British Poultry Science*, 50(5): 634-640.
- Van Der Eerden, B. C. J., Karperien, M., e Wit, J. M. 2003. Systemic and local regulation of the growth plate. *Endocrine Reviews*, 24(6): 782-801.
- Van Der Pol, C. W., Van Roovert-Reijrink, I. A. M., Maatjens, C. M., Van Den Anker, I., Kemp, B., e Van Den Brand, H. 2014. Effect of eggshell temperature throughout incubation on broiler hatchling leg bone development. *Poultry Science*, 93: 2878–2883.
- Veum, T. L. 2010. Phosphorus and calcium nutrition and metabolism. In: Vitti, D. M. S. S., e Kebreab, E. *Phosphorus and Calcium Utilization and Requirements in Farm Animals*, ed. CAB International, Oxfordshire, UK. p. 94–111.
- Vimalraj, S. 2020. Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754.
- Walstra, I., Napel, J., Kemp, B., e Van Den Brand, H. 2010. Temperature manipulation during layer chick embryogenesis. *Poultry Science*, 89: 1502–1508.
- Weglarz, P.M., e Angel, R. 2013. Calcium and phosphorus metabolism in broilers: Effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. *Journal of Applied Poultry Research*, 22: 609–627.
- Werner, C., Wecke, C., Liebert, F., e Wicke, M. 2010. Increasing the incubation temperature between embryonic day 7 and 10 has no influence on the growth and slaughter characteristics as well as meat quality of broilers. *Animal*, 4(5): 810–816.
- Werner, C., e Wicke, M. 2008. Increasing the temperature at a certain period during the incubation of broiler eggs improves the carcass and breast yields without a negative impact on the meat quality. *Arch Tierz Dummerstorf*, 51(Special Issue): 11-16.
- Whitehead, C. C. 2004. Overview of bone biology in the egg-laying hen. *Poultry Science*, 83: 193-199.
- Willemse, H., Kamers, B., Dahlke, F., Han, H., Song, Z., Pirsaraei, Z.A., Tona, K., Decuypere, E., e Everaert, N. 2010. High and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. *Poultry Science*, 89: 2678–2690.

- Wineland, M. W., Christensen, V. L., Yildrum, I., Fairchild, B. D., Mann, K. M. e Ort, D. T. 2006. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage in oxygen consumption affects intestinal maturation of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 5(3): 229-240.
- Wojcicka, A., Bassett, J. H. D., e Williams, G. R. 2013. Mechanisms of action of thyroid hormones in the skeleton. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830: 3979–3986.
- Yahav, S., e Mcmurtry, J. P. 2001. Thermoregulatory Responses of Broiler Chickens to Temperature Acclimation. *Poultry Science*, 80(6): 1026-1033.
- Yair, R., Uni, Z., e Shahar, R. 2012. Bone characteristics of late-term embryonic and hatchling broilers: Bone development under extreme growth rate. *Poultry Science*, 91: 2614-2620.
- Yalçın, S., Molayoglu, H. B., Baka, M., Genin, O., e Pines, M. 2007. Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the Incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 86: 1772-1783.
- Yalçın, S., e Siegel, P. B. 2003. Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos. *Poultry Science*, 82: 1388-1392.
- Yalçın, S., Aksit, M., Ozkan, S., Hassanzadeh, M., Bilgen, G., e Helva, I. B. 2022. Effect of temperature manipulation during incubation on body weight, plasma parameters, muscle histology, and expression of myogenic genes in breast muscle of embryos and broiler chickens from two commercial strains. *British Poultry Science*, 63(1): 21-30.

CAPÍTULO 2

**Manipulação térmica pré-natal e seus efeitos no desenvolvimento ósseo
e no desempenho de frangos de corte em idade de abate**

Manipulação térmica pré-natal e seus efeitos no desenvolvimento ósseo e no desempenho de frangos de corte em idade de abate

Resumo

O desenvolvimento ósseo se inicia durante a incubação e pode ser impactado pela temperatura aplicada. O objetivo desse estudo foi avaliar se a manipulação intermitente da temperatura da casca do ovo, acima ou abaixo do padrão, afeta características fisiológicas, ósseas, locomotoras, desempenho e rendimento de frangos de corte aos 42 dias de idade. 2.408 ovos de matrizes Cobb 500® com 52 semanas foram distribuídos em quatro incubadoras reguladas para manter diferentes temperaturas de casca (TCO). Uma delas foi programada para TCO de 37,8°C durante todo o período da incubação, sendo o controle (C). Nas demais, entre os dias 8 e 18,5 de incubação, durante 6 horas diárias, uma máquina foi regulada para TCO de 36,7°C (MT-B), outra para TCO de 38,9°C (MT-A) e a última para TCO de 39,4°C (MT-MA). 800 pintos machos nascidos foram alojados até os 42 dias de idade em galpão experimental convencional e submetidos às condições de manejo padrão recomendada. Foram avaliados no final da criação: perfil mineral, bioquímico, hormonal e fisiológico das aves (Ca, P, fosfatase alcalina, GH, T₃, T₄, PTH, vitamina D₃ e temperatura retal); características morfométricas, químicas e mecânicas dos ossos (peso, comprimento, largura, Ca, P, cinzas e resistência); existência de desordens ósseas e de locomoção (DT; VV, PD, GS e LTL); desempenho zootécnico (CR, GP, PC, CA e VIAB.); e rendimento de carcaça e partes (peito, asa, coxa e sobrecoxa). A MT-B a 36,7°C prejudicou a maioria das variáveis analisadas, como: o desempenho zootécnico geral; os parâmetros fisiológicos como Ca, P, FA, PTH, vitamina D₃ e a temperatura corporal; Ca, P e cinzas ósseas; e os parâmetros morfométricos da tibia. O rendimento de abate e GS, no entanto, não foi tão prejudicado por esse tratamento. Por outro lado, as MT a 38,9°C ou 39,4°C promoveram a melhora das variáveis, como o desempenho, rendimento de abate, níveis séricos de Ca, P, FA e hormônios (T₃ e T₄, PTH, vitamina D₃), temperatura corporal, teores de Ca, P e cinzas ósseas, comprimento e largura da tibia, e GS. Para a análise de GH e de força para a quebra da tibia, o grupo MT-A foi o único que apresentou elevação significativa em relação ao controle e ao grupo MT-B, respectivamente ($p \leq 0,05$). Na análise de desordens locomotoras, todos os grupos manipulados termicamente foram melhores que o controle nos quesitos DVV e LTL (menores e maiores, respectivamente) ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para as alterações DT e PD ($p > 0,05$). As MT em temperaturas altas demonstraram ser uma ferramenta adequada e viável para o desenvolvimento ósseo e desempenho zootécnico de frangos de corte em idade de abate.

Palavras-chave: Avicultura. Desempenho das aves. Parâmetros ósseos. Temperatura da casca do ovo. Temperatura intermitente.

1. Introdução

Nas últimas décadas a indústria avícola tem preconizado desenvolver linhagens de corte com alto ganho de massa muscular e alta eficiência alimentar, junto a um abate mais precoce (Aygün e Narinc, 2016). No entanto, o desenvolvimento ósseo não

conseguiu acompanhar essa evolução genética (Suchý et al., 2009; Yair et al., 2017). Isso tem provocado o surgimento de ossos frágeis, imaturos e menos compactos e, consequentemente, diversos problemas locomotores (Torres e Korver, 2018). Essa condição traz prejuízos econômicos, devido à queda no bem-estar e no desempenho dos lotes, e promove mortalidade e condenações na linha de abate (Pines e Reshef, 2015; Halgrain et al., 2022; Kettrukat et al., 2023).

O desenvolvimento ósseo e a diferenciação da placa de crescimento das aves se iniciam na embriogênese, sendo que a maior taxa de crescimento ocorre dias antes da eclosão e alguns dias após (Applegate e Lilburn, 2002; Shim e Pesti, 2011; Oznorlu et al., 2016). Dessa forma, distúrbios do desenvolvimento ósseo podem surgir durante o período de incubação (Yalçın et al., 2007; Yair et al., 2012; Groves e Muir, 2014; Kettrukat et al., 2023). Portanto, a manipulação térmica pré-natal (MT), junto a um monitoramento da temperatura da casca do ovo (TCO), tem sido testada na tentativa de modular as características ósseas antes e após a eclosão, e consequentemente maximizar o desempenho e minimizar as perdas causadas por distúrbios ósseos (Yalçın e Siegel, 2003; Yahav et al., 2004; Lourens et al., 2005; Morita et al., 2020). Além disso, ela pode ser considerada uma ferramenta para induzir adaptação epigenética à temperatura e aumentar assim a termotolerância dos frangos durante a criação (Tzschenk e Plagemann, 2006; Tzschenk, 2007; Walstra et al., 2010; Narinç et al., 2016).

Pesquisas demonstram que o período considerado ideal para que a MT tenha esse efeito desejado é aquele correspondente ao desenvolvimento do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide-adrenal (HHTA), que ocorre a partir do 10º de incubação. Este está diretamente ligado ao metabolismo, termorregulação e fisiologia de diversos sistemas corporais, incluindo o sistema esquelético (Yahav et al., 2004; Decuypere e Bruggeman, 2005; Tzschenk, 2007; Debonne et al., 2008; Furlan e Macari, 2008; Piestun et al., 2011; Tzschenk e Tatge, 2013).

Ainda há uma escassez de estudos que foquem em investigar os efeitos das MT na incubação sobre o desempenho zootécnico dos frangos em idade de abate e suas características ósseas e locomotoras. Aqueles já existentes, não investigaram quesitos importantes a serem analisados, como parâmetros bioquímicos, minerais e hormonais, e muitos apresentam resultados diferentes, devido à diversas metodologias adotadas. Por isso, os dados dessa pesquisa podem preencher o conhecimento a respeito do assunto e indicar uma nova técnica de manejo térmico para incubação que diminuiria os problemas associados às características ósseas de frangos de corte.

O objetivo desse estudo foi avaliar se a manipulação térmica pré-natal, utilizando temperaturas mais baixas ou mais altas que a padrão na fase intermediária do desenvolvimento embrionário, e monitoradas através da mensuração da temperatura da casca do ovo, afetam características fisiológicas, ósseas, locomotoras e o desempenho de frangos de corte em idade de abate.

2. Material e métodos

2.1 *Planejamento experimental*

Todos os protocolos experimentais utilizados estão de acordo com as diretrizes da Universidade Federal da Bahia e do Comitê de Ética do Uso de Animais – CEUA, sob protocolo nº. 22/17. A incubação e as análises bioquímicas e minerais foram realizadas no Núcleo Brasileiro de Pesquisas em Incubação Artificial de Ovos (NUPIA), pertencente à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (EMEVZ-UFBA), localizado na cidade de Salvador/Bahia. O alojamento e criação das aves, assim como as análises locomotoras, ósseas e de rendimento de carcaça ocorreram no Instituto Federal Baiano (IFBaiano) *campus* Senhor do Bonfim/Bahia. O período de criação foi de um a 42 dias de idade das aves.

Foram definidos quatro tratamentos utilizando uma manipulação térmica em diferentes temperaturas intermitentes, com controle da temperatura da casca do ovo (TCO), entre os dias 8 e 18,5 de incubação, sendo: tratamento controle (C – TCO padrão a 37,8°C); tratamento temperatura baixa (MT-B – TCO a 36,7°C por 6 horas/dia); tratamento temperatura alta (MT-A – TCO a 38,9°C por 6 horas/dia); e tratamento temperatura muito alta (MT-MA – TCO a 39,4°C por 6 horas/dia).

2.2 *Manejo da incubação*

Um total de 2.408 ovos incubáveis de matrizes pesadas da linhagem Cobb® 500, com 52 semanas, adquiridos de matrizeiro comercial foram utilizados no estudo. Os ovos coletados eram pertencentes à segunda coleta do dia. Logo após a coleta, ainda no matrizeiro, os ovos foram desinfetados pelo método de fumigação com paraformaldeído na concentração de 10g/m³, sendo em seguida transportados para o incubatório em veículo climatizado, com temperatura programada de 20°C (abaixo do ponto zero

fisiológico). Ao chegar ao ambiente do incubatório, os ovos foram selecionados e aqueles caracterizados como não incubáveis (sujos, trincados, quebrados, pequenos e deformados) foram descartados. Posteriormente, todos os ovos incubáveis foram pesados e aqueles que se apresentavam com 66 a 68,5g foram colocados em bandejas de incubação com capacidade para 86 ovos cada. 28 bandejas foram selecionadas e identificadas aleatoriamente, sendo sete bandejas identificadas para cada tratamento (temperatura da casca do ovo baixa, controle, alta e muito alta). Os ovos dos respectivos tratamentos permaneceram na sala de armazenamento por três dias a uma temperatura média de 20,5°C e umidade relativa do ar (UR) de 79,5%. Após esse período, os ovos foram pré-aquecidos durante 10 horas em temperatura e UR média de 28°C e 55%, respectivamente, sendo então transferidos do incubatório para o NUPIA em veículo climatizado. Ao chegarem, cada bandeja com 86 ovos foi pesada de acordo com os tratamentos.

A incubação foi realizada em quatro máquinas modelo Premium Ecológica® IP600 de estágio único, com capacidade para 600 ovos cada e controle digital de temperatura, umidade e viragem. Os ovos foram virados em um ângulo de 45° a cada hora e a UR foi mantida entre 45 e 60%. No início da incubação, as quatro máquinas incubadoras foram reguladas para manter a TCO constante em 37,8°C (C) e o teor de UR de 55%. Porém, entre os dias 8 e 18,5° de incubação, durante 6 horas por dia, uma máquina foi regulada para a TCO de 36,7°C (MT-B), outra foi regulada para a TCO de 38,9°C (MT-A) e uma terceira máquina foi programada para a TCO de 39,4°C (MT-MA) diariamente. A incubadora controle não sofreu alteração da programação inicial.

Para o controle da TCO utilizou-se sete sensores de temperatura (TI-33Ri plus®) em cada máquina, os quais foram fixados à região equatorial das cascas dos ovos por meio de fita adesiva (Scotch® Tough Duct Tape – 3M). O programa SITRAD® (versão 4.13) foi utilizado para monitorar a TCO três vezes ao dia e, quando necessário, ajustes nas máquinas de incubação foram realizados para manter as temperaturas de casca desejadas em cada tratamento. A ovoscopia diária foi realizada entre os dias 8 e 18,5 de incubação nos ovos que continham os sensores para que houvesse a confirmação da viabilidade embrionária.

2.3 Manejo da eclosão

No 18,5º dia de incubação, os ovos foram transferidos para bandejas de nascimento e todas as máquinas foram reguladas para manter a temperatura fixa em 37,8°C (100°F) até o nascimento.

Assim que os ovos foram colocados nas incubadoras, foi definido o momento inicial da incubação como hora zero. O momento em que os pintos começaram a eclodir até o nascimento dos últimos pintos em cada bandeja foi registrado. Os ovos dos tratamentos C, MT-A e MT-MA começaram a eclodir a partir das 480 horas, e a incubação foi encerrada com 516 horas. Os pintos do tratamento MT-B começaram a eclodir às 492 horas, sendo a incubação encerrada às 528 horas.

Os pintos nascidos foram colocados em caixas devidamente identificadas de acordo com os tratamentos e horário da retirada.

2.4 Período de criação das aves

Após a eclosão, os pintos foram selecionados, retirando-se aqueles considerados de não qualidade (refugos, desidratados, com canela vermelha, com ponto vermelho no bico, com caixa craniana ou cavidade abdominal aberta, balofos e com anormalidades). Posteriormente, foram vacinados contra doença de Marek, sexados e pesados. 800 pintos machos (200 por tratamento) foram transportados em veículo climatizado (32°C e UR de 65%) do NUPIA para a Fazenda experimental do Instituto Federal Baiano (IFBaiano) em Senhor do Bonfim/BA.

Logo após a chegada, foi feito o alojamento dos pintos em um galpão experimental de instalação convencional, sendo distribuídos em 32 boxes (8 boxes por tratamento), com 1,7m² cada (25 pintos/box; densidade de aproximadamente 15 frangos/m²). Com o intuito de homogeneizar as amostras em relação ao tempo de permanência no nascedouro, um número semelhante de aves por retirada constituiu os boxes experimentais. O galpão possuía cortinas laterais e maravalha como material de cama, a qual foi disposta com espessura de 7 cm no piso de cada box. Para a primeira semana de vida das aves, os boxes foram equipados com bebedouro tipo copo pressão (capacidade de 3 litros) e um comedouro tubular (capacidade de 5kg). Para as semanas seguintes, houve a substituição dos bebedouros para o modelo pendular automático, e os comedouros para os tubulares (capacidade de 15 kg), seguindo assim até o final do

experimento. Durante toda a fase de criação era fornecido acesso à água e alimento *ad libitum*. As dietas foram à base de milho e soja, e formuladas para o período inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 33 dias) e final (34 a 42 dias) (Tabela 1). A formulação da dieta e as exigências levou em conta os valores nutricionais dos ingredientes estabelecidos na Tabelas Brasileiras sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017). Aos 8 dias de idade as aves foram vacinadas contra Newcastle e Gumboro, via água de bebida. No 18º dia de idade houve reforço vacinal contra Gumboro. Nas primeiras semanas os pintos foram aquecidos utilizando-se campânulas com lâmpadas de infravermelho de 250 watts (uma em cada box). A luz foi mantida de forma artificial por 24h nos primeiros 14 dias de idade e iluminação natural após esse período. Da primeira à sexta semana de criação, os valores médios semanais de temperatura e UR ambiente foram 32,8°C, 29,9°C, 28,1°C, 26,9°C, 25,7°C e 25,1°C, e 55%, 65%, 60%, 66%, 67% e 64%, respectivamente.

Logo na chegada dos pintos e alojamento, as 25 aves por box foram pesadas em balança de precisão de 0,5g. Ao longo de todo o período experimental, os frangos e as rações foram pesados semanalmente para avaliar o desempenho semanal e acumulado do peso corporal, do ganho de peso, do consumo de ração e a conversão alimentar (CA). A mortalidade foi registrada diariamente e usada para ajustar a taxa de CA (consumo de ração:ganho de peso). Ademais, junto com a taxa de refugos, pôde ser calculado o percentual de viabilidade no final do período de criação.

Tabela 1 – Composição percentual (%) da ração inicial, de crescimento e final e seus respectivos níveis nutricionais.

INGREDIENTES	Ração inicial	Ração de crescimento	Ração final
Milho	58,31	66,53	66,33
Farelo de soja (45% PB)	32,50	24,50	24,00
Farinha de carne e ossos (48% PB)	5,60	5,20	4,80
Calcário	0,39	0,38	0,44
Óleo de soja	1,90	2,10	3,50
Sal comum	0,30	0,28	0,29
L-Lisina HCL	0,11	0,16	0,12
DL-Metionina	0,08	0,06	0,09
Bicarbonato de sódio	0,19	0,18	0,11
Suplemento vitamínico mineral*	0,60	0,60	0,30
TOTAL	100	100	100
Composição nutricional			
Energia (kcal/kg)	2998,6	3100,6	3194,5
Proteína bruta (%)	22,06	18,96	18,48
Met. + Cis. Dig. (%)	0,94	0,82	0,77
Lisina total (%)	1,3	1,12	1,06
Treonina total (%)	0,86	0,74	0,72
Cálcio (%)	1,00	0,93	0,88
Fósforo total (%)	0,68	0,63	0,60
Sódio (%)	0,22	0,21	0,19

*Produto comercial: Suplemento Vitamínico Mineral com agente anticoccídiano e promotor. Cada 1,0 kg contém: Vit. A 3.500.000 UI, Vit. D3 625.000 mg, Vit E 6.250 mg, Vit K3 750 mg, Vit. B1 500 mg, Vit. B2 1.250 mg, Vit. B6 1.000 mg, Vit B12 6.250 mcg, Biotina 25 mg, Niacina 8.750 mg, Ácido Fólico 250 mg, Ácido Pantotênico 3.000 mg, Selênio 45 mg, Iodo 175mg, Ferro 12.525 mg, Cobre 2.500 mg, Manganês 19.500 mg, Zinco 13.750 mg, Bacitracina de Zinco 18.750 mg, Antioxidante 500 mg; Fitase – 75 ftu; BHT 25.000 mg.

2.5 Parâmetros fisiológicos

Duas aves por box tiveram a temperatura retal mensurada, após a pesagem aos 42 dias e em horário mais quente do dia (12:00 h), utilizando termômetro digital (Medeqco Geratherm®) com precisão de +-0,1°C. O instrumento foi inserido na cloaca (aproximadamente 3 cm). De acordo com Yahav e Mcmurtry (2001), a temperatura retal estima a temperatura corporal das aves.

Além disso, para avaliar o status fisiológico dos frangos, as mesmas 2 aves, no mesmo período, foram selecionadas para coleta de amostras de sangue por meio da veia ulnar (asa), sendo estas amostras imediatamente acondicionadas em tubos tipo Vaccutaner® e centrifugadas por 15 minutos a 4500 rpm para obtenção do soro. As alíquotas de soro foram transferidas com o auxílio de micropipetas para tubos *ependorff*

devidamente identificados de acordo com os tratamentos e conservados a -20°C até o processamento das amostras serem iniciado.

Para determinar as análises bioquímicas, as concentrações de cálcio¹ (Ca⁺), fósforo (P⁺) e Fosfatase Alcalina (FA) foram mensuradas por meio de um analisador bioquímico automático (BioSystems[®]) utilizando-se kits comerciais ¹Cálcio Liquiform 90, ²Fósforo 42 e ³Fosfatase Alcalina 40 (Labtest Diagnóstica[®], Lagoa Santa, MG, BR. Metologia: Colorimétrico (Azevedo et al., 2023).

As determinações de hormônio do crescimento (GH)¹, triiodotironina (T₃)², tiroxina (T₄)³ (Morita et al., 2016), 1,25-dihidroxivitamina D₃ (Vit.D₃)⁴ e o paratormônio (PTH)⁵ (Güz et al., 2019), foram determinadas por ELISA utilizando kits comerciais (¹Chicken growth hormone kit – Catalog nº MBS266317, MyBioSource[®], San Diego, CA, USA; ²Total Triiodothyronine AccuBind[®] kit – Product Code: 125-300, Monobind, Lake Forest, CA; ³Total Thyroxine AccuBind[®] kit – Product Code: 225-300, MonoBind, Lake Forest, CA; ⁴1,25-dihydroxyvitamin D3 kit – Elabscience[®], Houston, Texas, EUA; ⁵Chicken PTH – Parathyroid Hormone – Catalog nº E-EL-Ch0433 – Elabscience[®], Houston, Texas, EUA).

2.6 Avaliação das alterações locomotoras

2.6.1 Gait score

A avaliação de *gait score* (pontuação de marcha) foi realizada os 41 dias de idade e classifica as aves de acordo com a sua capacidade de se locomover (Kestin et al., 1992). Foram selecionadas, aleatoriamente, 6 aves por box para avaliação individual. Para a realização do teste, um único avaliador sentou-se no chão e conseguiu visualizar a parte posterior das pernas do frango enquanto ele caminhava. Após definir uma pontuação a seu critério, foi calculada a média para cada grupo. Considerou-se uma escala de seis pontos para a classificação do *gait score* das aves, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Descrição dos sistemas de pontuação da marcha usados para avaliar a capacidade de caminhar de frangos de corte em idade comercial (Kestin et al., 1992).

Pontuação da marcha (Gait score)	Critério de avaliação das aves
0	Normal, ágil e bem equilibrada.
1	Leve anormalidade e andar irregular, mas difícil de definir.
2	Caminhada irregular com passos encurtados; falta de equilíbrio; se apoia nas asas; anormalidade definida e identificável.
3	Anormalidade óbvia; afeta capacidade de se movimentar; não fica em pé por mais de 15 segundos; caminha deitada.
4	Anormalidade grave; sem vontade de andar; usa asas como muletas; dá apenas alguns passos.
5	Incapaz de andar.

Pododermatite

As mesmas aves utilizadas na análise anterior foram avaliadas quanto à presença de pododermatite (também conhecida como dermatite plantar) seguindo o protocolo estabelecido pela *Welfare quality*[®]. A observação e determinação da pontuação foram feitas pelo mesmo avaliador, o qual pontuou como: 0 (ausência de lesões); 1 (evidência mínima de lesão); 2 (evidência aparente); 3 (lesão grave); ou 4 (lesão gravíssima com comprometimento do sistema locomotor).

2.6.2 *Latency-to-Lie*

Três aves por box com 42 dias de idade foram selecionadas aleatoriamente e submetidas ao teste de *Latency-To-Lie* (LTL), também chamado de “Tempo em pé”, baseando-se no método de Berg e Sanotra (2003). Os frangos foram colocados, individualmente, em uma banheira contendo uma profundidade de aproximadamente 3 cm de água com uma temperatura de 31-33°C (morna). O tempo até que a ave se sentasse foi cronometrado por um mesmo avaliador a fim de verificar a sua capacidade de permanecer em pé, até um máximo de 300 segundos. Quando a ave ficava mais do

que esse período, considerava-se como esse tempo. No fim, obteve-se a média para cada tratamento.

2.7 Avaliação de deformidades ósseas

2.7.1 Valgo-Varo

Aos 42 dias, 6 aves por repetição foram selecionadas de forma aleatória para análise individual de pontuação deformidade valgo-varo, segundo os métodos descritos por Leterrier e Nys (1992) e atualizado por Shim et al. (2012a). Após a pega dos frangos pelas asas e com auxílio de um goniômetro, a classificação era realizada de acordo com a angulação observada da articulação tarsal do membro, como: normal (escore = 0); leve (ângulo tibia-metatarso entre 10 e 25°; escore = 1); intermediária (ângulo entre 25 e 45°; escore = 2); e grave (ângulo maior de 45°; pontuação = 3).

2.7.2 Discondroplasia tibial

Duas aves de cada box, aos 42 dias, foram selecionadas (faixa de $\pm 10\%$ da média de peso do box) e eutanasias por deslocamento cervical. Seguindo a metodologia de Edwards e Veltmann (1983) e atualizada por Shim et al. (2012a), a tibia direita de cada ave foi cortada longitudinalmente e pontuada para avaliar a incidência de discondroplasia tibial (DT). As tibias foram avaliadas pelo mesmo avaliador em todas as repetições e pontuadas de acordo com a presença anormal de massas de cartilagem sob as placas de crescimento desse osso, sendo: 0) cartilagem considerada normal, estreita com poucas irregularidades; 1) cartilagem espessada ou com irregularidades consideráveis (lesão leve); 2) cartilagem espessada, com evidência de cartilagem pré-hipertrófica persistente que não está calcificada e não foi invadida por vasos da metáfise, além de aparência de irregularidades profundas dessa cartilagem (lesão intermediária); e 3) grande massa de cartilagem na extremidade proximal da tibia (lesão grave).

2.8 Análises ósseas

As mesmas duas aves por repetição da análise anterior, eutanasiadas aos 42 dias de idade, foram utilizadas para as análises ósseas seguintes.

2.8.1 Peso, comprimento e largura da tíbia

As tíbias esquerdas foram removidas, dissecadas e limpas de qualquer tecido mole ou cartilagem aderente, e pesadas em balança analítica digital (0,001 g). Após a pesagem, foram mensuradas externamente por um paquímetro digital (Digimess® resolução 300 mm, 0-0,001 mm). O comprimento foi medido da extremidade proximal na eminência intercondilar até a extremidade da epífise distal. Para a largura foi considerado o diâmetro mediolateral. Após estes procedimentos, as tíbias foram envoltas em gaze embebida com soro e armazenadas em sacos plásticos a -20°C para análises posteriores.

2.8.2 Resistência da tíbia

Para verificar a força para a fratura (Shim et al. 2012b), as tíbias esquerdas foram descongeladas à temperatura ambiente dentro dos sacos plásticos e, no momento da análise, cada amostra óssea foi retirada do saco e mantida umedecida com gaze embebido em água destilada até ser colocada no equipamento. Para evitar variação adicional na medida de força, cada osso foi orientado para garantir que a flexão ocorresse em torno do ponto médio da face ântero-posterior. A resistência à fratura óssea foi medida utilizando uma máquina universal EMIC®, Instron, DL 3000, controlada pelo software Blue Hill®, através do teste de flexão de 3 pontos, com célula de carga de 2000N. O osso foi ancorado em dois pontos de apoio medindo 5 mm de distância. Uma sonda de base redonda foi acoplada a uma célula de carga de 5kg e a força foi aplicada no ponto médio da face ântero-posterior de cada osso (velocidade de aplicação da carga de 1 mm/min.). O valor referente à força máxima para quebra foi obtido.

2.8.3 Cinzas e minerais

Após as análises anteriores, o conteúdo de cálcio, fósforo e cinzas das tíbias desengorduradas, foram determinados de acordo com a AOAC (2012), objetivando definir o grau de mineralização óssea. Uma pequena secção da diáfise média do osso (cerca de 15% do comprimento) foi removida para a quantificação de cinzas usando o método descrito por Yair et al. (2012). Cada amostra foi colocada em um recipiente com acetona por 12 horas para remover todos os lipídeos. Em seguida, as amostras foram dispostas em copos de cerâmica e aquecidas em forno (105°C por 6h) para a remoção de toda a água. Imediatamente após esse processo, a amostras foram pesadas (determinação do peso seco) em balança analítica digital (0,001g), e então levadas para a mufla a 600°C por 10 horas, para que todo material orgânico fosse queimado. As cinzas remanescentes foram pesadas e assim o percentual de cinzas foi determinado em cada amostra. 100 a 150 mg de cada amostra de cinzas das tíbias foram coletadas para examinar o conteúdo dos minerais cálcio (mg) e fósforo (mg) por meio de espectrofotômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Varian®, Mulgrave, Austrália) utilizando soluções padrão (Certipur Merck®, Darmstadt, Alemanha). Os resultados do conteúdo desses minerais foram expressos como porcentagem em relação ao peso (mg) total das cinzas, permitindo uma comparação direta entre as amostras.

2.9 Rendimento de carcaça e cortes

Duas aves por box foram selecionadas aleatoriamente para cumprirem o período de jejum alimentar pré-abate por 8 horas. Após esse período, individualmente, foi obtido o peso corporal vivo (PV) das aves selecionadas. Logo após, as aves foram insensibilizadas por eletronarcose e sacrificadas por sangria mediante corte da veia jugular, sendo encaminhadas para o processamento (depenagem; lavagem; evisceração; e retirada de patas). Ao fim do processo, foi registrado o peso da carcaça, e os cortes peito, coxas, sobrecoxas e asas foram pesados para mensurar o rendimento de carcaça. Foram calculados o percentual de rendimento (peso da carcaça/PC vivo x 100%) e o percentual de cada corte (peso do corte/peso da carcaça x 100%).

2.10 Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. O modelo geral usado para todos os dados foi:

$$Y_i = \mu + Temperatura_i + \varepsilon_i$$

Onde Y_i = a variável dependente, μ é a média geral, $Temperatura_i = TCO$ ($i = C$; $MT-B$; $MT-A$; $MT-MA$), e ε_i = o erro.

A análise estatística foi feita usando o pacote de software SAS® OnDemand (Instituto SAS Inc., Cary, NC). Todos os dados foram analisados através da ANOVA de 1 fator e então o teste de Tukey foi usado para determinar as diferenças entre as médias, adotando-se o nível de significância de 5%.

Para a avaliação de desempenho, foram utilizadas 25 aves por box, sendo o box a unidade experimental (repetição). Já para as análises de rendimento, parâmetros sanguíneos, temperatura retal, análises ósseas e desordens locomotoras e ósseas, a ave foi considerada a unidade experimental. As análises estatísticas foram precedidas da verificação das premissas do modelo.

3. Resultados e discussão

A manipulação da temperatura de incubação entre os dias 8 e 18,5 apresentou efeito significativo na maioria das variáveis analisadas.

Os dados de desempenho dos frangos e rendimento de abate aos 42 dias estão disponíveis na Tabela 3 e 4, respectivamente.

Referente ao desempenho, todos os parâmetros zootécnicos observados apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$). A manipulação térmica com temperatura baixa (MT-B) foi o pior tratamento em todas as variáveis analisadas, sendo o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP), o peso corporal (PC) e a viabilidade (VIAB) menor do que os demais tratamentos. Consequentemente a conversão alimentar (CA) também foi piorada. Os grupos alta (MT-A) e muito alta (MT- MA), no entanto, demonstraram ser semelhantes ou maiores que o controle (MT-C) em todos os parâmetros.

Tabela 3 – Desempenho dos frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.

Temperatura	CR (g)	GP (g)	PC (g)	CA (g)	VIAB (%)
MT-B	4337,42 ^c	2627,58 ^c	2671,76 ^c	1,65 ^a	91,54 ^b
C	4762,91 ^b	3080,10 ^b	3126,26 ^b	1,54 ^b	96,66 ^a
MT-A	4977,08 ^a	3309,85 ^a	3356,54 ^a	1,50 ^b	97,30 ^a
MT-MA	4851,68 ^{ab}	3224,85 ^a	3271,23 ^a	1,50 ^b	97,02 ^a
SEM	48,4921	50,2321	50,4599	0,01268	0,4395
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

^{a,b,c} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=32.

A Tabela 4 apresenta o efeito da manipulação térmica sobre o rendimento de carcaça. Todos os tratamentos MT demonstraram ser melhores do que o controle para as variáveis carcaça e peito ($p \leq 0,05$). Com relação ao rendimento de asa e coxa, apenas os grupos MT-A e MT-MA foram maiores que o grupo exposto ao padrão de incubação ($p \leq 0,05$). Na análise do rendimento da sobrecoxa, houve diferença entre todos os grupos ($p \leq 0,05$), sendo a MT-A com a maior porcentagem em relação ao controle, seguida pela MT-MA e MT-B. De uma forma geral, as temperaturas acima do controle se mostraram ser melhores para essa avaliação de abate.

Tabela 4 – Rendimento de carcaça e cortes (%) de frangos de corte com 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.

Temperatura	CARCAÇA	PEITO	ASA	COXA	SOBRECOXA
MT-B	73,26 ^b	23,32 ^b	7,39 ^b	12,93 ^b	9,40 ^c
C	72,51 ^c	22,79 ^c	7,28 ^b	12,53 ^b	9,30 ^d
MT-A	76,44 ^a	26,58 ^a	7,77 ^a	14,15 ^a	9,82 ^a
MT-MA	76,06 ^a	26,19 ^a	7,67 ^a	13,98 ^a	9,75 ^b
SEM	0,2348	0,2310	0,0404	0,1024	0,0293
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

De acordo com Decuypere et al. (2001), a qualidade do pintinho se tornou um fator importante na indústria de frangos de corte, pois está diretamente relacionada ao desempenho dos frangos. Sendo assim, a uniformidade do lote, o tamanho e o peso das aves no primeiro dia de vida são os fatores mais relevantes do processo de produção (Cervantes, 1994). Na mesma linha do estudo atual, Silva (2024) analisou os efeitos da manipulação térmica sob o rendimento de incubação e pintos de um dia, e constatou que a MT-B foi a que mais causou mortalidade dos embriões durante o período intermediário da incubação, maior taxa de pintos refugos, menor peso ao nascer e menor *Yolk Free Body Mass* (YFBM).

Dessa forma, constata-se que os efeitos da MT-B refletem não só na embriogênese e no pós-eclosão imediato, como também na idade de abate. Certifica-se, portanto, que a manipulação térmica com temperaturas abaixo da ideal causa uma redução da taxa metabólica das aves, comprometendo a sua viabilidade, crescimento e desempenho.

Com relação às temperaturas altas, Tzschenk e Halle (2009), após incubarem ovos do dia 18 até a eclosão, em temperatura quente intermitente (38,2-38,4°C por 2 horas/dia), também encontraram resultados zootécnicos positivos em frangos machos com 35 dias de idade. Os autores observaram maior CR, PC final e GP médio diário; e

CA significativamente menor comparado aos machos e fêmeas do grupo controle (37,2–37,4°C) e do grupo de incubação térmica constante (38,2–38,4°C por 24 horas). Além disso, não encontraram nenhuma diferença no rendimento de abate de ambos os sexos entre os diferentes grupos incubados.

Piestun et al. (2013) não encontraram diferença no peso corporal da eclosão até o abate, mas o consumo de ração das aves com 70 dias, incubadas em MT de 39,5°C por 12 horas/dia do 7º ao 16º, foi menor do que a das aves controle (37,8°C), o que resultou em melhor CA. Um maior peso relativo do músculo peitoral também foi exibido pelas aves MT, sugerindo que houve proliferação de células musculares no embrião e na ave durante a criação.

Como exposto, as temperaturas elevadas promoveram melhor rendimento de carcaça e partes. Igualmente, Colin et al. (2007) relataram que uma MT alta e intermitente (39,5°C por 3 horas/dia) entre os dias 16 e 18 da embriogênese, causou maior rendimento do músculo do peito sem prejuízo de sua qualidade, quando comparado ao grupo controle (37,8°C). Piestun et al. (2009) mostraram que a incubação a 39,5°C (aumento de 1,7°C em relação às condições normais) do 16º ao 18º dia por 3 ou 6 horas diárias aumentou o diâmetro das miofibras a partir dos 13 dias de idade, e aumentou o crescimento muscular até o dia 35, em relação ao controle. As MTs tiveram efeitos imediatos na elevação da proliferação de células musculares já no 17º dia de embriogênese, e efeitos posteriores, até 2 semanas após a eclosão. Da mesma forma, Piestun et al. (2011; 2013) também encontraram maior peso relativo do músculo peitoral em aves em idade de abate que na incubação foram submetidas a MT intermitente (39,5°C por 12 h/dia do dia 7 ao 16 de incubação). Al-Zghoul e El-Bahr (2019) apontaram que o peso corporal no 14º dia de idade, e os pesos de carcaça e músculo peitoral aos 35 dias aumentaram significativamente após a MT alta durante o 10º ao 18º dia de incubação.

Todos esses autores afirmaram que a temperatura elevada estimulou ainda mais o processo de proliferação dos mioblastos, que já é intensa na última semana de incubação. Segundo El-Shater et al. (2021), isso ocorre devido ao fenômeno da adaptação epigenética, que afeta a expressão gênica em resposta a manipulações térmicas durante as fases críticas de desenvolvimento da miogênese. Halevy et al. (2001) também relataram que a exposição ao calor moderado em idade precoce resulta na aceleração da miogênese de células satélites mediada pela expressão específica do fator de crescimento local. Clark et al. (2017), inclusive, apontaram que a MT de

39,5°C/12 horas ao dia, entre os dias 14 e 18 de incubação, reduziu as características microscópicas que estão presentes em muitas miopatias comuns na indústria avícola, sendo considerada uma estratégia viável para melhorar não só o rendimento de abate como também a qualidade da carne.

Al Amaz e Mishra (2024) recentemente também afirmaram que se a temperatura mais alta for aplicada e sincronizada com o tempo perfeito da embriogênese, ela pode melhorar o PC na idade de abate.

Sozcu e Ipek (2015), ao contrário, não encontraram resultados positivos para a temperatura alta (38,8 a 39°C) aplicada de forma intermitente (3 horas/dia) durante os últimos três dias de incubação, relatando, inclusive, que ela induz a doenças metabólicas. Isso porque as aves apresentaram menor PC e maior CA que o controle (36,8 a 37°C) nas semanas 1 a 6 de criação, além de maior mortalidade total e mortalidade por ascite, quando submetidas após os 21 dias de idade a condições indutoras de ascite (temperatura ambiente gradualmente reduzida para 14°C até os 42 dias). Dalab e Ali (2019) tiveram resultados diferentes quando realizaram a MT em períodos distintos da incubação. 39°C entre os dias 7–11 por 18 h/dia resultou em aumento significativo do peso corporal e consequentemente do peso da carcaça; enquanto que entre os dias 7-18 esses parâmetros diminuíram significativamente, em comparação ao controle. Em codornas, El-Shater et al. (2023) verificaram que a MT de 41°C entre os dias 6–8 e 12–14 de incubação por 3 horas/dia, diminuiu significativamente o peso da carcaça e o peso do músculo do peito. Vale ressaltar que todos esses autores apontados utilizaram uma metodologia com espécie, temperatura, intervalo e período de aplicação da MT diferentes das do presente estudo, o que pode ter interferido nos resultados obtidos.

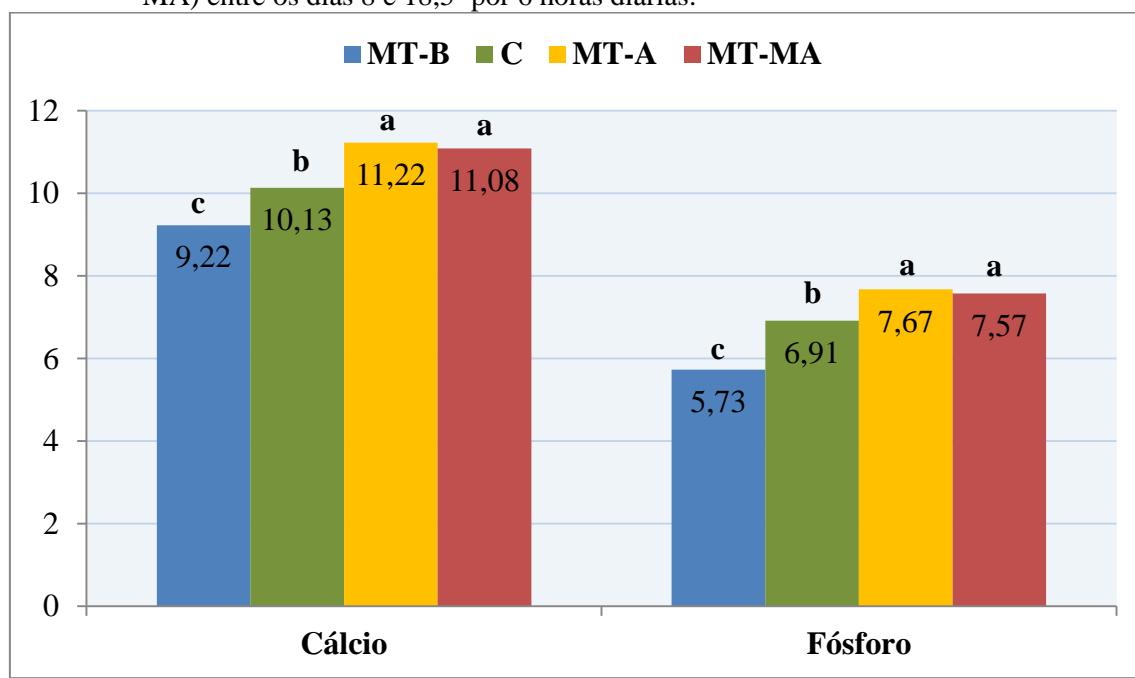
Com isso, ao contrário da temperatura baixa, é sugerido que temperaturas intermitentes acima da considerada padrão, melhoram a taxa metabólica das aves, promovendo maior desempenho zootécnico na criação e maior rendimento de abate.

As Figuras 1, 2 e 3 apresentam os resultados das análises sanguíneas realizadas nos frangos de corte com 42 dias de idade.

Focando nos teores de cálcio e fósforo (Figura 1), nota-se que ambos foram significativamente alterados pelos tratamentos térmicos ($p \leq 0,05$), se apresentando menores na MT-B e maiores na MT-A e MT-MA, em comparação ao controle. Com relação ao cálcio, este foi reduzido 8,98% na MT-B, em comparação ao controle. Já nos tratamentos MT-A e MT-MA, houve uma elevação desse mineral de 10,76% e de

9,37%, respectivamente. Quanto ao fósforo, o grupo MT-B apresentou uma queda de 17,07%, enquanto os tratamentos MT-A e MT-MA tiveram um acréscimo de 10,99% e 9,55%, nesta ordem. Esses dados demonstram que a manipulação térmica entre os dias 8 e 18,5 de incubação, exercem influência sobre os parâmetros de Ca e P séricos, sendo as temperaturas intermitentes acima daquela rotineiramente recomendada, as que mais tiveram impactos positivos nesse aspecto.

Figura 1 – Teores sanguíneos de cálcio e fósforo (mg/dL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.



SEM	0,118	0,108
P-valor	<0,0001	<0,0001

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

Esse mesmo resultado foi observado quando as aves tinham um dia de idade (Silva, 2024), o que parece ter reverberado para a idade de abate. Segundo a autora, isso tem relação com a mobilização dos minerais oriundos da casca do ovo, em que as MT altas e intermitentes aumentaram a atividade metabólica do embrião, ao contrário da MT baixa, que reduziu. Portanto, houve a facilitação ou a redução da transferência de

Ca e P para a ave, o que desencadeou maiores e menores teores desses minerais no sangue.

É compreendido que esses minerais são de extrema importância para a mineralização dos ossos, a qual se inicia na segunda semana e prevalece até o período pós-natal, sendo responsáveis pela formação da hidroxiapatita e por 50 a 70% da composição de matriz inorgânica do osso (Bellairs e Osmond, 2005; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Barbosa, 2011). Dessa forma, entende-se que a homeostase do cálcio é um importante fator na manutenção da resistência óssea. O teor sérico adequado de Ca, evita a secreção do hormônio paratormônio (PTH) e a síntese de vitamina D₃, e a consequente ativação de osteoclastos e reabsorção óssea (Rath et al., 2000).

A Figura 2 expõe os teores de Fosfatase Alcalina (FA) encontrada no sangue das aves em idade de abate que foram incubadas sob as condições térmicas citadas.

Os achados demonstram que as manipulações térmicas impactaram significativamente esse parâmetro ($p \leq 0,05$), em que o grupo submetido à baixa temperatura (MT-B) teve os níveis de FA menores em comparação aos demais, sendo 11,21% menor que o controle. Os grupos expostos a temperaturas mais altas, por sua vez, tiveram aumento desse quesito, embora a MT-A tenha se apresentado estatisticamente semelhante ao controle. Dessa forma, a MT-MA foi a que se mostrou em maior destaque, com nível de 9,87% acima do controle. Esse resultado também foi semelhante ao do estudo de Silva (2024), que avaliaram esse parâmetro em embriões e pintos recém-eclodidos.

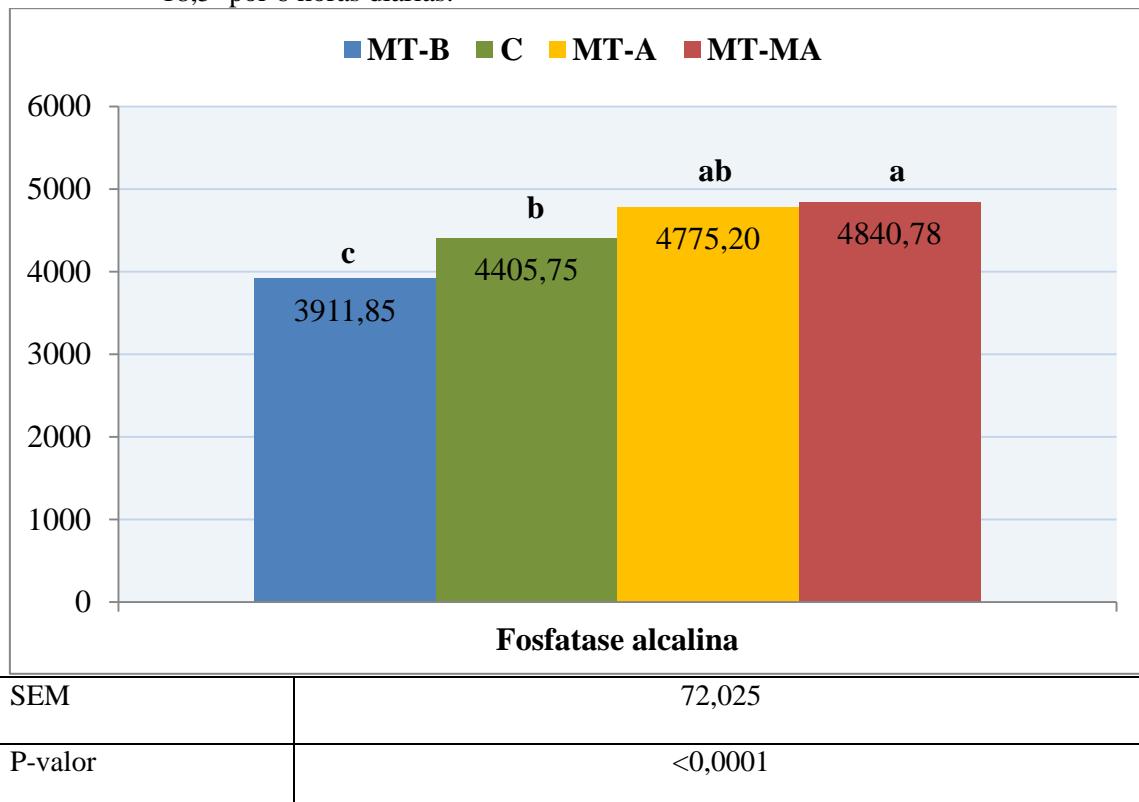
A FA é uma enzima glicoproteica envolvida na ativação da mineralização da matriz óssea (Zur Nieden et al., 2003). É considerada um marcador de diferenciação de condrócitos e osteoblastos, ou seja, é um importante indicador do estado do metabolismo ósseo. É capaz de produzir fosfato livre através da decomposição de compostos de fosfato, o qual se combina com o Ca presente na matriz celular para formar o fosfato de cálcio, envolvido na regulação do processo de calcificação. Quanto maior a sua atividade, mais rápido é o metabolismo e a formação óssea (Clarke, 2008; Li et al., 2014; Vimalraj, 2020).

Yalçin et al. (2007) tiveram resultado oposto. Eles demonstraram que a MT alta (39°C por 6h/dia entre 0 e 8º dia), causaram menor atividade da FA, comparado ao controle (37,8°C), indicando que os condrócitos não sofreram diferenciação. É importante mencionar que os autores aplicaram a manipulação térmica em um período da embriogênese considerado crucial para a diferenciação da placa de crescimento óssea

(fase inicial), e esse desvio da temperatura padrão parece ter desregulado esse processo. Além disso, eles avaliaram a FA encontrada no osso e não no sangue. De acordo com Penido et al. (2013), o monitoramento da atividade da FA específica do osso pode fornecer informações mais precisas sobre o metabolismo ósseo do que aquela obtida a nível total (sérico). Porém, isso não foi mensurado na presente pesquisa.

Portanto, o aumento de FA sérica nos tratamentos MT-A e MT-MA, demonstrado no presente estudo, indica que o metabolismo e formação óssea foram muito ativos nos frangos em idade de abate, o que não foi observado nas aves do MT-B, e condiz com os resultados a serem observados mais adiante sobre o índice de mineralização óssea.

Figura 2 – Fosfatase alcalina (U/L) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.



^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

Em se tratando dos níveis séricos hormonais (Figura 3), as manipulações térmicas realizadas na incubação surtiram efeitos significativos em todos os hormônios

analisados, e tiveram resultados semelhantes aos de Silva (2024) quando avaliados os impactos nos embriões e pintos de um dia.

Na análise do hormônio do crescimento (GH), o grupo MT-A foi o único que apresentou diferença significativa em relação ao controle ($p \leq 0,05$), com valores de 1,79 ng/mL e 1,6 ng/mL, respectivamente, o que representou uma elevação de 11,87% para o MT. Os demais não diferiram do controle ($p > 0,05$), estando também o grupo MT-MA semelhante ao MT-A.

O GH é o hormônio que mais se destaca com relação à importância para o crescimento ósseo longitudinal pós-natal, juntamente com o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) (sintetizado no fígado a partir da secreção do GH). Ambos estimulam a diferenciação de condrócitos na placa de crescimento encontrados em diferentes estágios de maturação, e a proliferação de osteoblastos (Pines e Hurwitz, 1990; Ohlsson et al., 1998; Robson et al., 2002; Van Der Eerden et al., 2003; Cong et al., 2023). Logo, a temperatura de 38,9°C aplicada de forma intermitente parece promover a maior secreção desse hormônio, sendo benéfico para o desenvolvimento ósseo de frangos de corte.

Os hormônios tireoidianos (HT) (T_3 e T_4) apresentaram a mesma tendência estatística, pois ambos mostraram diferenças significativas entre os tratamentos. O grupo MT-B foi semelhante ao controle ($p > 0,05$), no entanto, os grupos MT-A e MT-MA foram diferentes desse padrão ($p \leq 0,05$), mas semelhantes entre si ($p > 0,05$). Dessa forma, em relação ao tratamento controle, a manipulação térmica utilizando temperaturas mais altas tiveram elevações expressivas de 39,28% para o grupo MT-A e de 45,53% para o grupo MT-MA na avaliação de T_3 ; e de 22,31% e 24,54% para MT-A e MT-MA, respectivamente, na avaliação de T_4 .

Conforme Christensen et al. (2005), os HT têm importância significativa no crescimento embrionário das aves, assim como na maturação de órgãos e tecidos no período tardio da incubação. Eles regulam o metabolismo intermediário, o consumo de oxigênio, a taxa metabólica basal, a manutenção da temperatura corporal e são necessários para o desenvolvimento, diferenciação e modulação do esqueleto (Scanes e Harvey, 1984; Glass e Holloway, 1990; Darras et al., 2000; Stern, 2002; Ha-Young e Subburaman, 2013). Dessa forma, baixos níveis desses hormônios na circulação sanguínea, resultam em inibição da proliferação celular e consequente atraso da ossificação endocondral e intramembranosa (Gouveia et al., 2018; Cong et al., 2023). Capelo et al. (2008) mencionaram, inclusive, que a deficiência dos HT pouco afeta a

evolução óssea do embrião até o 16,5º dia de vida, sendo essa função mais significativamente relevante nos últimos dias de incubação e principalmente no início do período pós-natal. Além disso, como mencionado por Cong et al. (2023), o T₄ e o T₃ podem regular o metabolismo e afetar não só o desenvolvimento ósseo, como também o crescimento muscular. Morita et al. (2016) também relataram que o metabolismo e o crescimento das aves são afetados negativamente por temperaturas baixas de incubação.

Ademais, os HT ajudam a regular a produção e a liberação do GH/IGF-I, mantendo níveis adequados para o desenvolvimento dos ossos, colaborando para a maturação dos condróцитos e osteoblastos. Como também o GH aumenta o metabolismo das enzimas envolvidas na conversão do T₄ em T₃, favorecendo o crescimento do tecido ósseo. Portanto, há uma relação sinérgica e proporcional entre eles; ambos em níveis adequados exercem influências diretas e indiretas um sobre o outro (Wakita et al., 1998; Mcnabb, 2000; Gouveia et al., 2018).

Dessa forma, em consonância com os resultados já demonstrados e com outros que ainda serão abordados, esse presente estudo evidencia que MT altas e intermitentes, na fase intermediária da incubação, afeta diretamente a função tireoidiana, através do aumento dos níveis de T₃ e T₄ sérico das aves em idade de abate, o que indica maior desenvolvimento do tecido ósseo e de carcaça/partes; o que também foi evidenciado pelo maior teor de GH. Apesar dos teores de HT da MT-B terem sido semelhantes ao controle, esse resultado, em conjunto com outras alterações encontradas, promoveu piores índices de desenvolvimento para as aves desse tratamento.

Focando na análise do paratormônio (PTH), todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si ($p \leq 0,05$). O MT-B se mostrou com o maior teor desse hormônio (38,77 pg/mL), representando uma elevação de 15,04% em relação ao controle. Em contraste, o tratamento MT-A foi menor (25,12 pg/mL), estando 25,45% abaixo do controle. O MT-MA demonstrou uma diminuição ainda mais expressiva (22,66 pg/mL), correspondendo a 32,75% a menos.

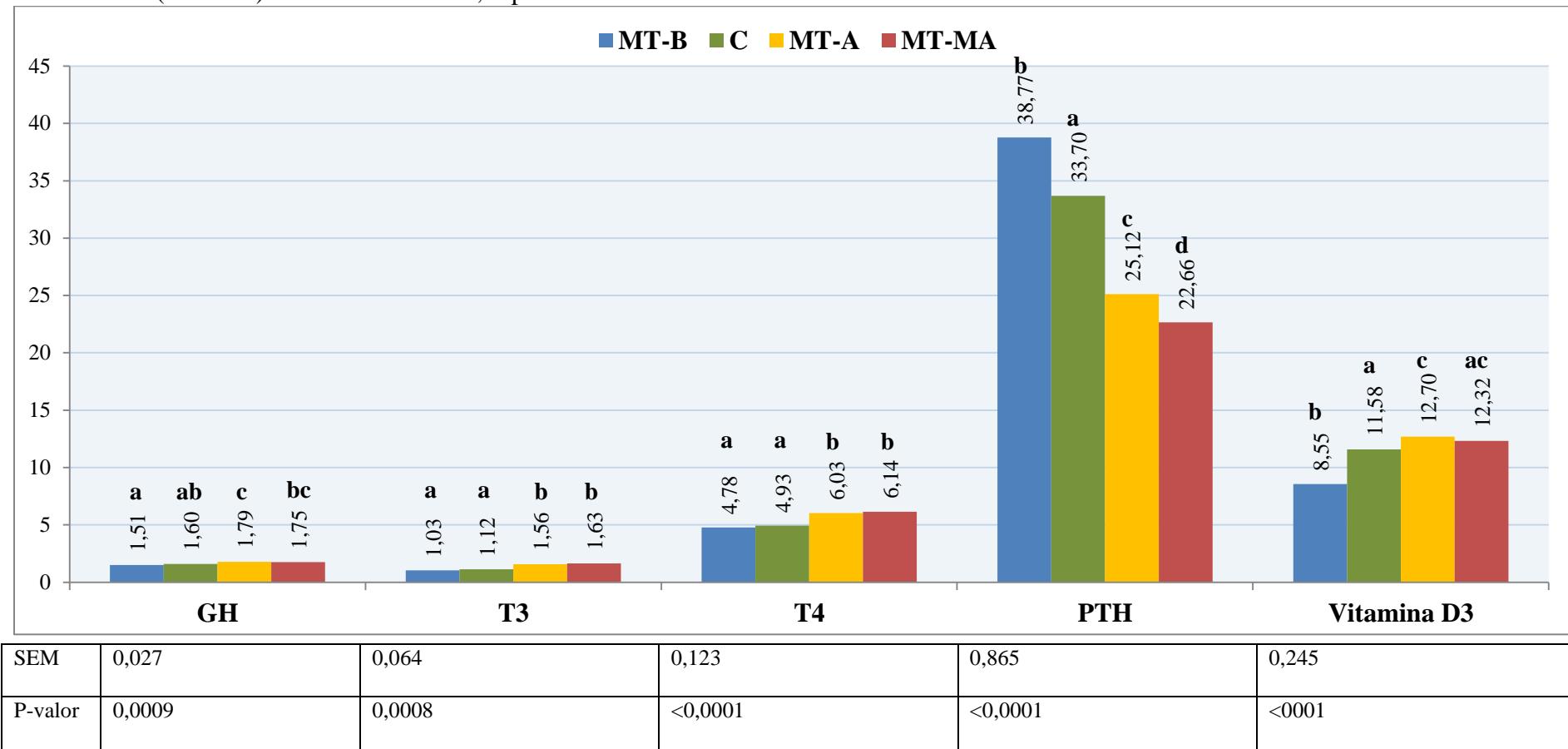
Por fim, a vitamina D₃ também mostrou ser impactada significativamente pelas manipulações térmicas. O tratamento controle foi semelhante apenas ao MT-MA ($p > 0,05$) (valores de 11,58 e 12,32 pg/mL, respectivamente). Este último também mostrou semelhança com o MT-A. Por outro lado, os demais tratamentos MT-B (8,55 pg/mL) e MT-A (12,7 pg/mL) foram diferentes do padrão ($p \leq 0,05$), sendo 26,16% menor e 9,67% maior, nesta ordem.

Sabe-se que a secreção de PTH está diretamente ligada a baixos níveis sanguíneos de Ca (Pizauro Junior et al., 2017; Matuszewski et al., 2020), que foi justamente o resultado encontrado no tratamento MT-B, como mostrado anteriormente, justificando assim os altos níveis desse hormônio neste grupo. O PTH se liga a receptores de células-alvo nos ossos, promovendo a reabsorção através da ativação dos osteoclastos, na tentativa de manter a homeostase do Ca; e também tem efeitos indiretos sobre o intestino e rins, estimulando a secreção da enzima 1 α -hidroxilase renal e consequentemente a produção da vitamina D₃, a qual aumenta a absorção intestinal de Ca e P, diminui a excreção renal e aumenta a reabsorção tubular desses minerais (Palacios, 2006; De Matos, 2008; Shanmugasundaram e Selvaraj, 2012; Hartmann et al., 2016; Pizauro Junior et al., 2017; Matuszewski et al., 2020; Tinawi, 2021). Vale ressaltar que, embora o PTH seja o principal regulador da conversão da vitamina D em sua forma ativa, o processo pode ser multifatorial, envolvendo outros elementos que contribuem para isso (Shanmugasundaram e Selvaraj, 2012; Matuszewski et al., 2020). Isso justifica o fato de que, apesar do PTH estar muito alto no grupo MT-B, o seu nível de vitamina D se apresentou mais baixo comparado a outros grupos.

Por outro lado, a redução do PTH na MT-A e principalmente na MT-MA, indica que não há necessidade em adotar esse mecanismo para regular o teor sanguíneo de cálcio, visto que está em quantidade suficiente, como supracitado. Nesses grupos, o teor de vitamina D₃ foi maior, indicando que as temperaturas de MT altas utilizadas favorecem a produção desse hormônio na sua forma ativa, contribuindo para o desenvolvimento ósseo. Como citado por Clarke (2008), níveis satisfatórios desse hormônio promovem diferenciação de osteoblastos, e proliferação e apoptose de condrócitos hipertróficos na placa epifisária.

Sendo assim, houve um impacto direto da manipulação térmica durante a incubação sobre os níveis séricos hormonais de frangos de corte com 42 dias de idade. Acredita-se que ela promove uma modificação da atividade metabólica das aves, sendo negativo quando se utiliza baixas temperaturas e positivo quando se usa temperaturas elevadas.

Figura 3 – Teores sanguíneos de GH, T₃, T₄ (ng/mL), PTH e vitamina D₃ (pg/mL) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.

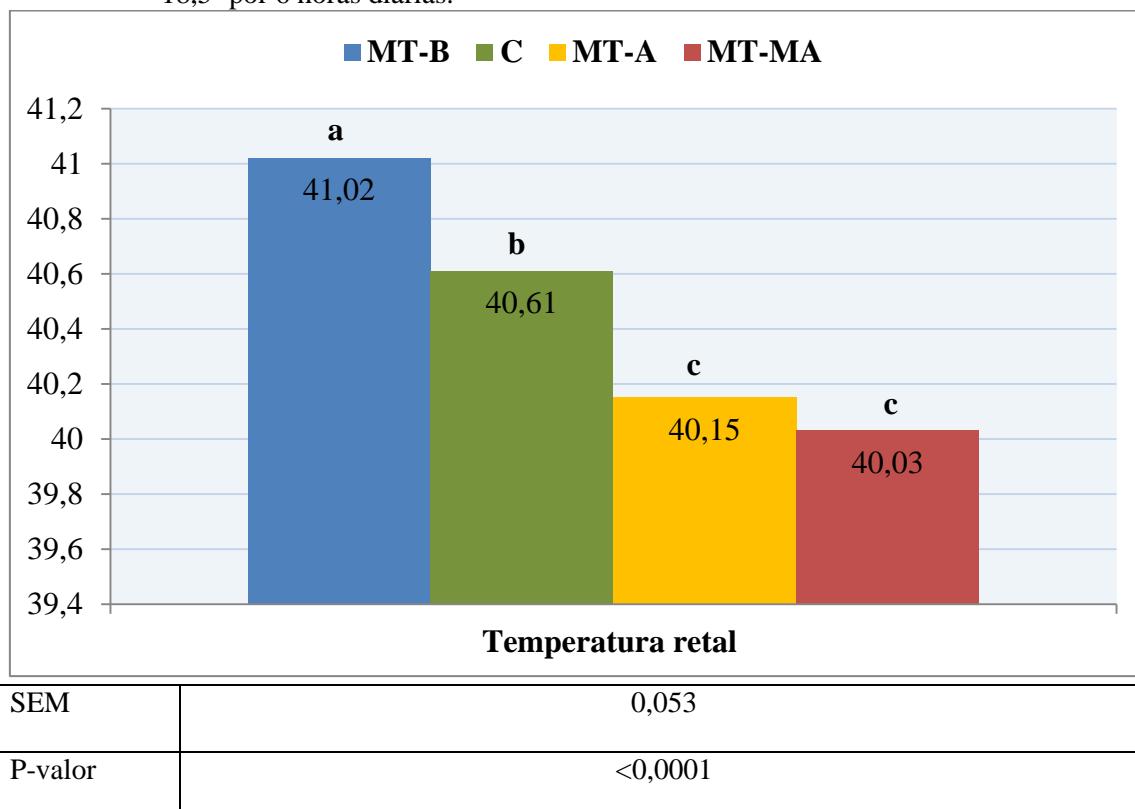


^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C = controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

Como exposto pela Figura 4, as temperaturas retais médias dos frangos apresentaram diferenças significativas. Em comparação ao controle (40,61°C), as aves que foram submetidas a MT-B foram as que tiveram maior temperatura corporal (41,02°C) ($p \leq 0,05$). Aquelas expostas a MT-A e MT-MA exibiram temperaturas mais baixas ($p \leq 0,05$) do que o controle, mas semelhantes entre si (40,15°C e 40,03°C, respectivamente) ($p > 0,05$).

Figura 4 – Temperatura retal (°C) de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.



^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

O desenvolvimento adequado do sistema termorregulador é essencial para o equilíbrio da temperatura corporal das aves no pós-eclosão. Essa ontogenia, que se inicia a partir da segunda semana de incubação e termina por volta do 10º dia de vida, é muito sensível e gera adaptabilidade do organismo frente a determinadas exposições térmicas na vida adulta (Nichelmann et al., 2001; Nichelmann e Tzschentke, 2002;

Tzschentke, 2007; Furlan e Macari, 2008; Ikefuti, 2018). Essa adaptação em longo prazo ocorre por meio de processos epigenéticos, realizando um *imprinting* neural (impressões permanentes) das funções corporais, modificando a expressão gênica (Shinder et al., 2011; Tzschentke e Plagemann, 2006; Tzschentke, 2007; Tzschentke e Tatge, 2013; Costa et al., 2020). Sendo assim, a manipulação térmica na incubação deve coincidir com o desenvolvimento desse sistema, para que haja o controle ideal da produção e interações hormonais, do metabolismo basal e da produção de calor corporal, e contribuir para um melhor desempenho final de frangos de corte (Nichelmann e Tzschentke, 2002; Baarendse et al., 2017; Amjadian e Shahir, 2020).

No presente estudo, a MT foi aplicada do 8º ao 18,5º dia de incubação, período que condiz com a formação do eixo HHTA, essencial para a termorregulação (Yahav et al., 2004; Decuypere e Bruggeman, 2005; Piestun et al., 2008; 2011). Vale ressaltar que a mensuração da temperatura retal é um método eficaz para analisar o estado térmico do animal, sendo que aquelas que se apresentam mais baixas sugerem melhor controle da temperatura corporal (Nichelmann et al., 1994).

Pode-se dizer, portanto, que os grupos MT-A e MT-MA manifestaram uma adaptação do sistema termorregulador, já que as aves apresentaram menor temperatura interna, em comparação aos demais grupos MT-B e controle. Apesar de na eclosão a MT-B ter sido estatisticamente semelhante ao controle (Silva, 2024), é sugerido que essa temperatura mais baixa de incubação tenha causado um provável incômodo térmico no embrião, fazendo com que eles adquirissem uma impressão genética sobre isso, e mantivessem assim uma maior produção de calor corporal durante a criação, a fim de manter a sua homeostasia. Segundo Furlan e Macari (2008), em situações de estresse térmico por frio, o organismo ativa mecanismos para aumentar a produção de calor, ocorrendo um desvio do metabolismo energético para essa função, refletindo negativamente na produtividade. Isso corrobora com os achados de desempenho demonstrados anteriormente nesse estudo.

Para fortalecer esses achados, Morita et al. (2016; 2020) demonstraram que a temperatura de incubação afeta a espessura e a vascularização da pele, pois aves expostas ao frio apresentaram uma pele mais espessa e menos vascularizada, enquanto aquelas submetidas ao calor tiveram uma pele mais fina e mais vascularizada. Nesse último caso, segundo os autores, essa característica permite a perda de calor por condução, através da superfície corporal, desencadeando uma manutenção mais baixa da temperatura interna sem causar alterações metabólicas. Sendo assim, no nosso

estudo, provavelmente as aves do tratamento MT-A e MT-MA tiveram menores temperaturas retais devido a essa menor necessidade metabólica por terem se adaptado a essa condição ambiental ainda quando embriões.

Loyau et al. (2013), ao avaliar uma MT de 39,5°C por 12 horas/dia, entre os dias 7 aos 16 da embriogênese, verificaram que ela não afetou a eclodibilidade dos ovos e diminuiu a temperatura corporal dos pintos na eclosão e até 28º dia de vida, quando comparado ao tratamento padrão. Já Colin et al. (2007) encontraram resultados diferentes. Os autores testaram uma MT de 39,5°C por 3 horas/dia nos dias 0 a 10 (MT precoce), 16 a 18 (MT tardia) ou ambos (MT precoce-tardia), e constataram que a aplicação em todos os períodos não melhorou a aquisição de termotolerância das aves, pois foi observado que as temperaturas corporais nos dias 28, 35 e 41 de idade, não diferiram das do grupo controle (37,8°C). No entanto, é relevante pontuar que esses pesquisadores aplicaram a MT em períodos da incubação que não estão alinhados ao período de desenvolvimento do eixo HHTA.

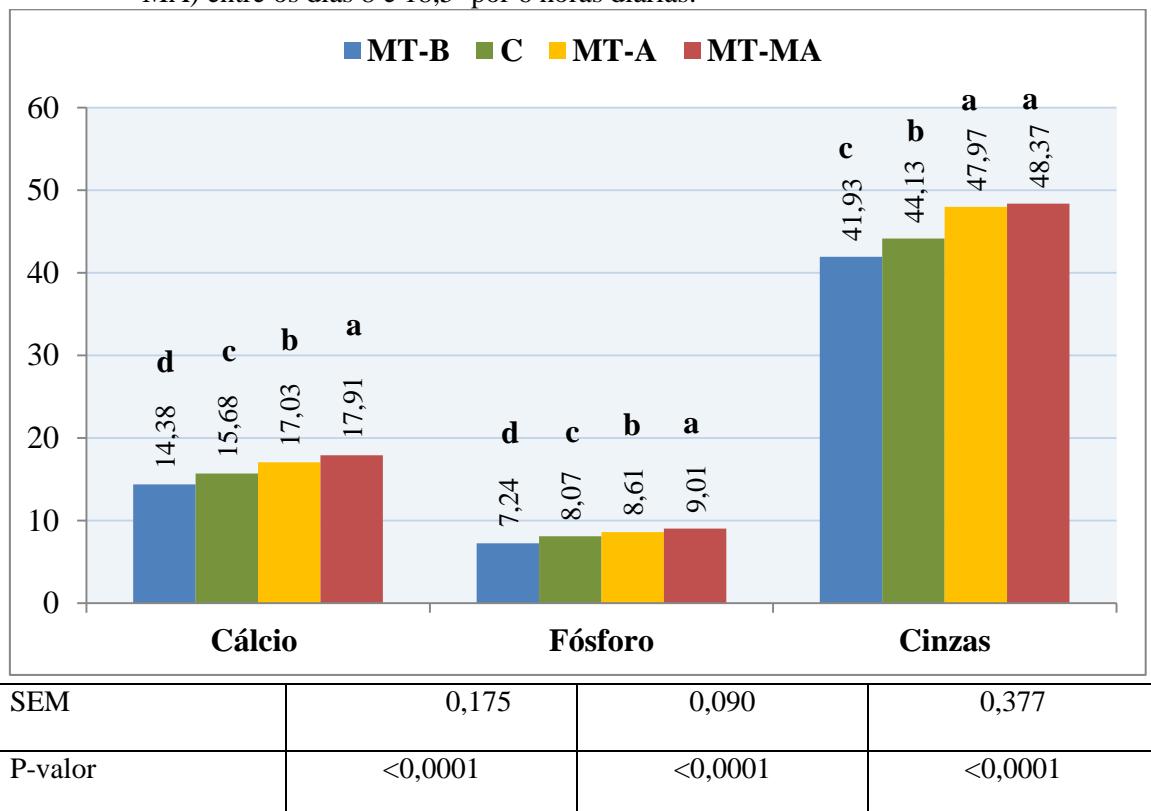
De acordo com Piestun et al. (2011) e Cong et al. (2023), a MT pode melhorar a resistência ao estresse térmico ambiental de frangos de corte sem reduzir o desempenho da produção, o que é um requisito essencial da indústria avícola. Isso foi constatado no presente estudo, pois as aves da MT utilizada, mesmo diante de temperaturas ambientais acima da preconizada pela Cobb® como ideal para manter a zona de conforto térmico aos 42 dias de idade (18°C) (Cobb, 2009), diminuíram a temperatura corporal e mantiveram bons parâmetros zootécnicos.

A Figura 5 e as Tabelas 5 e 6 exibem os dados referentes às análises ósseas e locomotoras dos frangos de 42 dias submetidos às diferentes TCO aplicadas intermitentemente na incubação.

De acordo com Angel (2007), a tíbia é um dos ossos mais mineralizados do esqueleto e também um bom indicador da mineralização esquelética geral. Por isso, foi mensurada a sua composição mineral e de cinzas (Figura 5), as quais apresentaram diferenças significativas. Os teores de cálcio e fósforo tiveram o mesmo resultado estatístico, em que a MT-B apresentou o menor valor dentre os outros tratamentos ($p \leq 0,05$). Neste tratamento houve uma diminuição equivalente a 8,29% para o Ca e 10,28% para o P, em relação ao controle. A MT-A, por outro lado, foi maior que os tratamentos baixo e controle ($p \leq 0,05$), correspondendo a uma elevação de 8,6% para o Ca e de 6,62% para o P, comparando-a com a padrão. Já a MT-MA, dentre todos os outros tratamentos, se manifestou com os maiores teores dos minerais apontados

($p \leq 0,05$), estando acima do controle em 14,24% para o Ca e 11,61% para o P. Além disso, as temperaturas mais altas demonstraram elevar o teor de cinzas da tibia, pois tanto a MT-A quanto a MT-MA foram maiores que o grupo controle ($p \leq 0,05$), mas semelhantes entre si ($p > 0,05$). No entanto, a MT-B seguiu a mesma disposição que o resultado de Ca e P, se apresentando menor que os demais tratamentos ($p \leq 0,05$).

Figura 5 – Composição mineral (%) e cinzas (%) da tibia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.



^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

No período da eclosão (Silva, 2024), esses níveis minerais apresentaram tendências parecidas com os atuais, porém, no experimento dessa pesquisadora, estatisticamente, apesar da MT-B ter causado a diminuição dos teores de Ca e P, a MT-A e MT-MA se mantiveram semelhantes ao controle. No caso das cinzas, observou-se uma tendência idêntica ao do presente estudo.

Sabe-se que a quantificação de Ca, P e cinzas ósseas fornecem informações relevantes a respeito da saúde esquelética (Robison e Karcher, 2019). A mineralização do osso afeta a sua resistência, portanto essa mensuração é crítica para saber o quanto forte o osso está e a sua vulnerabilidade a distúrbios ósseos (Shim et al., 2012; Sanchez-Rodriguez et al., 2019). Shim et al. (2012) abordaram, por exemplo, que aves que apresentam menor porcentagem de minerais e cinzas ósseas, geralmente têm mais desordens esqueléticas.

Segundo Oznurlu et al. (2016), a temperatura de incubação pode ser um fator importante que controla a mineralização óssea nas aves. O resultado do presente estudo constata essa informação, já que as manipulações térmicas realizadas com temperaturas abaixo do padrão prejudicaram a deposição mineral no osso desde a eclosão até a idade de abate. Apesar disso, as manipulações mais altas exerceram efeito contrário, auxiliando na mineralização da tíbia. Os fatores hormonais também estão diretamente ligados a essa conformação mineral óssea (Almeida Paz e Bruno, 2006), e como apresentado anteriormente, os resultados séricos de minerais e hormônios após a manipulação térmica baixa, alta e muito alta estão alinhados com esses achados ósseos.

Yair et al. (2012) já haviam demonstrado que temperaturas mais altas de incubação aceleram o metabolismo do embrião, aumentando a demanda por minerais. No presente estudo, notou-se que isso refletiu não só quando as aves tinham um dia de idade, como também em idade de abate. Yalçin et al. (2007), de forma semelhante, também encontraram um maior teor de cinzas na tíbia, tanto em pintos recém-eclodidos quanto quando estavam com 49 dias de idade, após incubar os ovos em MT a 39°C por 6 horas diárias entre os dias 10 a 18.

As variáveis morfométricas e mecânicas da tíbia de frangos de corte aos 42 dias (Tabela 5) foram significativamente diferentes entre os tratamentos. Observou-se que o grupo manipulado termicamente em baixa temperatura (MT-B) obteve menor peso, comprimento e largura desse osso comparado aos demais tratamentos ($p \leq 0,05$). Apesar de os grupos MT-A e MT-MA terem sido semelhantes ao controle na análise de peso ($p > 0,05$), eles apresentaram maiores índices quando analisado o comprimento e largura ($p \leq 0,05$). Em se tratando da característica mecânica da tíbia, a força para quebra foi semelhante entre todos os grupos ($p > 0,05$), com exceção daquele manipulado termicamente em temperatura alta (MT-A de 38,9°C), que se apresentou maior que o manipulado em temperatura baixa (MT-B de 36,7°C) ($p \leq 0,05$).

Tabela 5 – Características morfométricas e mecânicas da tíbia de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5º por 6 horas diárias.

Temperatura	Peso (g)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Força para quebra (kg)
MT-B	11,97 ^b	89,21 ^c	7,10 ^c	24,55 ^b
C	13,89 ^a	98,40 ^b	8,02 ^b	26,25 ^{ab}
MT-A	14,86 ^a	104,83 ^a	8,57 ^a	28,37 ^a
MT-MA	14,46 ^a	103,98 ^a	8,72 ^a	28,05 ^{ab}
SEM	0,217	0,842	0,103	0,510
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0253

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. SEM: erro padrão da média. n=64.

A partir da segunda semana da embriogênese, a deposição de Ca e P são iniciadas, sendo responsáveis pelas respostas de crescimento do osso (Sun et al., 2018; Robison e Karcher, 2019). Esse crescimento e mineralização ocorrem por ossificação intramembranosa e endocondral, de forma intersticial, ou seja, em comprimento, e aposicional, em largura (Marks e Odgren, 2002; Whitehead, 2004; Lefebvre e Bhattaram, 2010; Barbosa, 2011; Berendsen e Olsen, 2015). Entre os dias 14 a 19 de incubação, esses ossos chegam a dobrar suas métricas morfológicas e minerais (Bellairs e Osmond, 2005; Angel, 2017; Güz, 2020). Isso ocorre devido à diferenciação dos condrócitos na placa de crescimento (Applegate e Lilburn, 2002; Yalçın et al., 2007). Esse processo de mineralização consiste também na deposição de outros minerais além de Ca e P, como zinco, cobre, manganês e magnésio, o que compõe as cinzas ósseas (Oviedo-Rondón e Ferket, 2005; Dibner et al., 2007).

A quantidade de cinzas está diretamente ligada à resistência do osso; quanto mais minerais, mais resistente. Isso pode ser mensurado através da força para quebra (Rath et al., 2000; Shim et al., 2012; Sanchez-Rodriguez et al., 2019). Além disso, desde o final da incubação e ao longo de toda a vida da ave, o osso passa por remodelação, para preservar a sua resistência mecânica, substituindo o osso mais velho e microdanificado (realizado pelos osteoclastos), por um osso mais novo e saudável (realizado pelos

osteoblastos) (Väänänen e Zhao, 2002). Todo esse processo ocorre mediado por hormônios calciotrópicos, como PTH e vitamina D₃, que regulam a deposição ou remoção de minerais no esqueleto (Clarke, 2008; De Matos, 2008; Pizauro Junior et al., 2017; Matuszewski et al., 2020).

Porém, como dito por Yalçin et al. (2007), um dos parâmetros conhecidos por afetar todo esse crescimento e metabolismo ósseo é o estresse térmico. Sendo assim, com base nos resultados, analisa-se que a manipulação térmica intermitente em temperaturas baixas, aplicada no período intermediário da incubação (entre segunda e terceira semana), promoveu um estresse térmico no embrião, o que prejudicou a ossificação endocondral e intramembranosa, e consequentemente a qualidade estrutural do esqueleto. Isso ocorreu na eclosão (Silva, 2024) e perdurou até a idade de abate dos frangos de corte. Como mostrado na Figura 5, isso é originado de uma menor deposição mineral de Ca e P, que resulta em ossos mais frágeis e porosos, comprometendo seu crescimento e resistência. A Figura 3 também evidencia esses achados com a questão hormonal, como já analisado.

Em contraste, a manipulação utilizando temperaturas mais elevadas e intermitentes apresentam resultados iguais ou superiores àquela padrão, sendo positiva para o desenvolvimento e qualidade óssea, por promoverem maior metabolismo e mineralização. Kettrukat et al. (2023) já haviam relatado que a resistência óssea pode possivelmente ser melhorada pelo aumento da temperatura na primeira ou segunda semana de incubação.

Por fim, a Tabela 6 apresenta as médias de pontuações para determinadas desordens ósseas e locomotoras.

Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para as alterações discondroplasia tibial (DT) e pododermatite (PD) ($p>0,05$), ou seja, as médias obtidas de pontuação foram semelhantes. Na análise de deformidade valgo-varo (VV) e do “tempo em pé”, também conhecido como teste *Latency-to-Lie* (LTL), por sua vez, os grupos manipulados termicamente (MT-B, MT-A e MT-MA) foram diferentes do controle ($p\leq0,05$) e semelhantes entre si ($p>0,05$). VV foi menor nas aves tratadas com MT, enquanto que no LTL as pontuações foram maiores para esses grupos. Na avaliação utilizando o teste do *Gait Score* (GS) (pontuação de marcha/capacidade de se locomover) os grupos que tiveram manipulação térmica na incubação foram semelhantes entre si ($p>0,05$). Porém, o único que mostrou semelhança também com o grupo controle foi o MT-B ($p>0,05$). Os demais, MT-A e

MT-MA, tiveram a média de pontuação significativamente menor que o controle ($p \leq 0,05$).

Tabela 6 – Desordens ósseas e locomotoras de frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos à incubação em TCO controle (C), ou a incubação com manipulação térmica em temperatura baixa (MT-B), alta (MT-A) e muito alta (MT-MA) entre os dias 8 e 18,5° por 6 horas diárias.

Temperatura	DT	VV	PD	LTL	GS
MT-B	0,93	0,47 ^b	0,79	260,71 ^a	0,81 ^{ab}
C	1,43	0,95 ^a	0,62	222,79 ^b	1,39 ^a
MT-A	0,68	0,35 ^b	0,41	279,96 ^a	0,56 ^b
MT-MA	0,68	0,41 ^b	0,39	274,5 ^a	0,50 ^b
SEM	0,123	0,059	0,078	3,871	0,092
Valor de P	0,1030	0,001	0,2292	<0,0001	0,0019

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

TCO = temperatura da casca do ovo; C= controle (37,8°C – sem manipulação térmica); MT-B = manipulação térmica a 36,7°C; MT-A = Manipulação térmica a 38,9°C; MT-MA = manipulação térmica a 39,4°C. DT = discondroplasia tibial; LTL = Latency-To-Lie; GS = gait score; VV = deformação valgo-varo; PD = pododermatite. SEM: erro padrão da média. DT: n=64; LTL: n=96; GS, VV e PD: n=192.

A pesquisa de Yalçin et al. (2007) demonstrou que a incidência de DT aos 49 dias de idade foi correlacionada com a incubação em uma temperatura alta e intermitente (39°C por 6 horas/dias) durante os estágios iniciais do desenvolvimento do embrião (0 a 8° dia), o que sugere a existência de um estágio crítico para o desenvolvimento e diferenciação da placa de crescimento. Os autores citaram que isso pode ocorrer devido a um atraso na diferenciação de condrócitos da placa de crescimento dos ossos nesse período. No caso do presente estudo, a DT não apresentou diferença entre os grupos. As MT foram aplicadas em outro estágio da embriogênese (8° a 18,5° dia), o que provavelmente promoveu uma maturação mais intensificada dessas células, permitindo aumento do crescimento ósseo e menor incidência de desordens. Isso pode ser visto de forma mais evidente nas MT mais altas, como já constatado pelos resultados morfométricos do osso e pelo desempenho zootécnico das aves desses grupos.

A presença de claudicação moderada a grave está associada a uma série de alterações no sistema locomotor, como pododermatite, discondroplasia tibial, deformidades ósseas e dentre outras (Güz et al., 2020; Granquist et al., 2019). No

entanto, de acordo com Fernandes et al. (2012), a maneira como os frangos de corte andam nem sempre é afetada pela incidência de alguns problemas ósseos. Segundo os autores, a pontuação de marcha pode ser a mesma para aves com ou sem essas lesões, e a dificuldade de andar pode estar mais relacionada a problemas de deformidade de articulações, como o valgo-varo, que nesse presente estudo esteve mais evidenciado no grupo controle do que nos grupos MT.

Dessa forma, as manipulações da temperatura de incubação, tanto a baixa quanto as mais elevadas, fizeram com que as aves apresentassem incidência menor ou igual ao controle, de pontuações mais altas referentes a anormalidades ósseas e locomotoras graves, como a DT, VV e PD. Isso pôde ser constatado não só pela análise direta, como também indireta, através dos testes LTL e GS, pois indicaram que as aves desses grupos conseguiram se manter por mais tempo em pé e tiveram melhor capacidade de se locomover (com andar normal, ágil e equilibrado). Isso significa que a maior parte delas sentiram menos dor ou incômodo, e têm menos alterações negativas nos ossos da perna. Apesar da MT-B ter promovido parâmetros ósseos minerais, morfológicos e mecânicos menores comparados aos outros tratamentos, isso não parece ter impactado na maior incidência de desordens locomotoras consideradas graves.

Embora a densidade de criação, o ambiente e a elevada taxa de crescimento oriunda do melhoramento genético possam desencadear esses distúrbios locomotores (Güz et al., 2020; Granquist et al., 2019), os efeitos da incubação, portanto, não podem ser negligenciados. As MT podem colaborar diretamente para o desenvolvimento ósseo, principalmente as que utilizam temperaturas mais altas (como já abordado em resultados supracitados) e consequentemente para a saúde das pernas dos frangos de corte.

4. Conclusão

A manipulação térmica intermitente em temperatura de 36,7°C por 6 horas ao dia, aplicada entre o 8º ao 18,5º dia de incubação, afeta negativamente as características ósseas de frangos de corte em idade de abate, assim como suas características fisiológicas, desempenho e rendimento de carcaça e partes. No entanto, esses impactos não parecem ser suficientes para promover alterações ou pontuações mais evidentes de distúrbios locomotores graves. Por outro lado, a manipulação térmica utilizando

temperaturas mais altas de 38,9°C e 39,4°C de forma intermitente por 6 horas diárias promove melhoria de todas essas características.

Com isso, conclui-se que a técnica de manipulação térmica em temperatura de 38,9°C e 39,4°C por 6 horas diárias entre o 8º e 18,5º dia de incubação é uma ferramenta vantajosa para a obtenção de melhores resultados zootécnicos, podendo ser aplicada em larga escala na produção avícola. Além disso, ela pode evitar prejuízos econômicos negativos para a indústria, devido ao descarte de parte da carcaça ou carcaças inteiras, oriundas de lesões ou fraturas causadas por distúrbios locomotores graves.

Referências

- Al-Zghoul, M. B., e El-Bahr, S. R. 2019. Thermal manipulation of the broilers embryos: expression of muscle markers genes and weights of body and internal organs during embryonic and post-hatch days. *BMC Veterinary Research*, 15:166.
- Al Amaz, S., e Mishra, B. 2024. Embryonic thermal manipulation: a potential strategy to mitigate heat stress in broiler chickens for sustainable poultry production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15(75).
- Almeida Paz, I.C.L., e Bruno, L.D.G. 2006. Bone mineral density: review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 8(2): 69-73.
- Amjadian, T., e Shahir, M. H. 2020. Effects of repeated thermal manipulation of broiler embryos on hatchability, chick quality, and post-hatch performance. *International Journal of Biometeorology*, 64 (12): 2177-2183.
- Angel, R. 2007. Metabolic Disorders: Limitations to Growth of and Mineral Deposition into the Broiler Skeleton after Hatch and Potential Implications for Leg Problems. *Journal Applied Poultry Research*, 16: 138–149.
- AOAC. 2012. Official Method of Analysis: Association of Analytical Chemists. 19th Edition, Washington DC, 121-130.
- Applegate, T. J., e Lilburn, M. S. 2002. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry Science*, 8: 1289–1294.
- Aygun, A., e Narinc, D. 2016. The Effects of Thermal Manipulations During Embryogenesis of Broiler Chicks on Growth of Embryo and Skeletal Traits. *Anais da Conferência AIP*, 1726(1).
- Azevedo, I. L., Silva, T.P.B., Franca, T.N., Mercês, N.B., Martins, L.K.S.A., Vidal, L. V.O., e Barbosa, V. M. 2023. Bone development of embryos and broiler chicks incubated at different temperatures. In: *Conferência Facta Wpsa-Brasil*, 2023. Campinas. Anais [...]. Campinas: FACTA WPSA-Brasil.

- Baarendse, P. J. J., Debonne, M., Decuyupere, E., Kemp, B., e Van Den Brand, H. Ontogeny of avian thermoregulation from a neural point of view. *World's Poultry Science Journal*, 63: 267-276, 2020.
- Barbosa, V. M. 2011. Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário. Belo Horizonte: FEP MVZ. 124 p.
- Bellairs, R., e Osmond, M. 2005. The atlas of chick development, Elsevier.
- Berg, C., e Sanotra, G. 2003. Can a modified Latency-to-Lie test be used to validate gait-scoring results in commercial broiler flocks? *Animal Welfare*, 12(4): 655-659.
- Berendsen, A., e Olsen, B.R. 2015. Bone development. *Bone*, 80: 14-18.
- Capelo, L. P., Beber, E. H., Huang, S. A., Zorn, T. M. T., Bianco, A. C., e Gouveia, C. H. A. 2008. Deiodinase-mediated thyroid hormone inactivation minimizes thyroid hormone signaling in the early development of fetal skeleton. *Bone*, 43: 921–930.
- Cervantes, H. 1994. Una nueva fórmula para definir la calidad del pollito. *Indústria Avícola*, 41: 10-16.
- Christensen, V. L. 2001. Factors associate with early embryonic mortality. *World's Poultry Science Journal*, 57.
- Clark, D.L., Walter, K.G., e Velleman, S. G. 2017. Incubation temperature and time of hatch impact broiler muscle growth and morphology. *Poultry Science*, 96: 4085-4095.
- Clarke, B. 2008. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal American Society Nephrology*, 3: 131–139.
- Cobb-Vantress. 2009. Manual de manejo de frangos de corte. Disponível em: Cobb-Manual-Frango-Corte-BR.pdf. Acesso em: 20 de out. de 2024.
- Colin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Requena Rodón, F. E., Skiba-Cassy, S., Crochet, S., Duclos, M. J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggeman, V., Decuyupere, E., Picard, M., e Yahav, S. 2007. Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens. *Poultry Science*, 86: 795–800.
- Cong, W., Han, W., Liu, J., Zhao, R., e Wu., L. 2023. Embryonic thermal manipulation leads growth inhibition and reduced hepatic insulin-like growth factor1 expression due to promoter DNA hypermethylation in broilers. *Poultry Science*, 102(4):
- Costa, B. T. A., Lopes, T. S. B., Mesquita, M. A., Lara, L. J. C., e Araújo, I. C. S. 2020. Thermal manipulations of birds during embryogenesis. *World's Poultry Science Journal*, 76(4).
- Dalab, A. S., e Ali, A.M. 2019. Morphological investigations of the effect of termal manipulation during embryogenesis on body performance and structure of pectoral and thigh muscle of ross broiler chicken. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 21.

- Darras, V. D., Van Der Geyten, S., e Kühn, E. R. 2000. Thyroid hormone metabolism in poultry. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 4: 13-20.
- Debonne, M., Baarendse, P. J. J., Van Den Brand, H., Kemp, B., Bruggeman, V., e Decuypere, E. 2008. Involvement of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and its interaction with the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the ontogeny of avian thermoregulation: a review. *World's Poultry Science Journal*, 64: 309-321.
- Decuypere, E., Tona, K., e Bruggeman, F. 2001. The day-old chick: a crucial hinge between breeders and broilers. *World's Poultry Science Journal*, 57:127-138.
- Decuypere, E., e Bruggeman, V. 2005. Endocrine aspects of development: new challenges for the control of incubation process. *World's Poultry Science Journal*, 61: 278-284.
- De Matos, R. 2008. Calcium Metabolism in Birds. *Veterinary Clinical Exotic Animals*, 11: 59–82.
- Dibner, J. J., Richards, J. D., Kitchell, M. L., e Queiroz, M. A. 2007. Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research*. 16: 126-137.
- Edwards, H. M., e Veltmann, J. R. 1983. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. *The Journal of Nutrition*, 113(8): 1568-1575.
- El-Shater, S. N., Rizk, H., Abdelrahman, H. A., Awad, M. A., Khalifa, E. F., e Khalil, K. M. 2021. Embryonic thermal manipulation of Japanese quail: effects on embryonic development, hatchability, and post-hatch performance. *Tropical Animal Health and Production*, 53(263).
- El-Shater, S. N., Khalil, K.M., Rizk, H., Zaki, H.M.B.A., Abdelrahman, H.A., Abozeid, H.H., et al. 2023. Effects of thermal manipulation of Japanese quail embryo on post-hatch carcass traits, weight of internal organs, and breast meat quality. *Slov. Vet. Research*, 60:67-73.
- Fernandes, B. C. S., Martins, M. R. F. B., Mendes, A. A., Almeida Paz, I. C. L., Komiyama, C. M., Milbradt, E. L., Martins, B. B. 2012. Locomotion problems of broiler chickens and its relationship with the gait score. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(8): 1951-1955.
- Furlan, R. L., e Macari, M. 2008. Termorregulação. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*, Ed.2^a, 209–230.
- Glass, C. K., e Holloway, J. M. 1990. Regulation of gene expression by the thyroid hormone receptor. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1032: 157-176.
- Gouveia, C. H. A., Miranda-Rodrigues, M., Martins, G. M., e Neofiti-Papi, B. 2018. Thyroid Hormone and Skeletal Development. In: LITWACK, G. Vitamins and Hormones, 106: 1-544, Elsevier.

- Granquist, E.G., Vasdal, G., Jong, I.C., e Moe, R. O. 2019. Lameness and its relationship with health and production measures in broiler chickens. *Animal*, 13(10): 2365-2372.
- Groves, P., e Muir, W.A. 2014. Meta-analysis of experiments linking incubation conditions with subsequent leg weakness in broiler chickens. *PLoS One*, 9(7).
- Güz, B. C., Molenaar, R., De Jong, I. C., Kemp, B., Van Den Brand, H., e Van Krimpen, M. 2019. Effects of dietary organic minerals, fish oil and hydrolyzed collagen on growth performance. *Poultry Science*, 98: 6552-6563.
- Güz, B. C., Molenaar, R., De Jong, I. C., Kemp, B., Van Krimpen, M., e Van Den Brand, H. 2020. Effects of eggshell temperature pattern during incubation on tibia characteristics of broiler chickens at slaughter age. *Poultry Science*, 99: 3020-3029.
- Halevy, O., Krispin, A., Leshem, Y., McMurtry, J.P., e Yahav, S. 2001. Early-age heat exposure affects skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation in chicks. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 281:302–309.
- Halgrain, M., Bernardet, N., Crepeau, M., Meme, N., Narcy, A., Hincke, M., e Réhault-Godbert, S. 2022. Eggshell decalcification and skeletal mineralization during chicken embryonic development: defining candidate genes in the chorioallantoic membrane. *Poultry Science*, 101.
- Hartmann, K., Koenen, M., Schauer, S., Wittig-Blaich, S., Ahmad, M., Baschant, U., e Tuckermann, J. P. 2016. Molecular Actions of Glucocorticoids in Cartilage and Bone During Health, Disease, and Steroid Therapy. *Physiology Review*, 96(2): 409-47.
- Ha-Young, K., e Subburaman, M. 2013. Role and Mechanisms of Actions of Thyroid Hormone on the Skeletal Development. *Bone Research*, 2: 146-16.
- Ikefuti, J. F. 2018. Melhoria no rendimento de incubação em função da manipulação térmica de ovos de pesos distintos de matriz leve. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Brasil.
- Ipek, A., e Sozcu, A. 2016. The effects of egg-shell temperature fluctuations during incubation on welfare status and gait score of broilers. *Poultry Science*, 95: 1296–1303.
- Kettrukat, T., Grochowska, E., e Therkildsen, M. 2023. The effect of incubation temperature on the development of the locomotory system and welfare in broiler chickens: A review. *Livestock Science*, 276.
- Lefebvre, V., e Bhattaram, P. 2010. Vertebrate Skeletogenesis. *Current Topics in Developmental Biology*, 90.
- Leterrier, C., e Nys, Y. 1992. Clinical and anatomical differences in varus and valgus deformities of chick limbs suggest different aetio-pathogenesis. *Avian Pathology*, 21: 429–442.

- Li, C., Geng, F., Huang, X., Ma, M., e Zhang, X. 2014. Phosvitin phosphorus is involved in chicken embryo bone formation through dephosphorylation. *Poultry Science*, 93 (12): 3065-3072.
- Lourens, A., Van Den Brand, H., Meijerhof, R., e Kemp, B. 2005. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and post-hatch development. *Poultry Science*, 84: 914-920.
- Loyau, T.; Berri, C.; Bedrani, L.; Métayer-Coustard, S.; Praud, C.; Duclos, M. J.; Tesseraud, S.; Rideau, N.; Everaert, N.; Yahav, S.; Mignon-Grasteau, S.; Collin, A. 2013. Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality. *Journal of Animal Science*, 91: 3674-3685.
- Marks, S. C., e Odgren, P. R. 2002. Structure and Development of the Skeleton. In: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., v. 1.
- Matuszewski, A., Lukasiewicz, M., e Niemiec, J. 2020. Calcium and phosphorus and their nanoparticle forms in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 76(2): 328-345.
- McNabb, F. M. A. 2000. Thyroids. In: Whittow, G. C. *Sturkie's Avian Physiology*, Fifth Edition, Elsevier.
- Morita, V. S., Almeida, V. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Van Den Brand, H., e Boleli, I. C. 2016. Incubation Temperature during Fetal Development Influences Morphophysiological Characteristics and Preferred Ambient Temperature of Chicken Hatchlings. *PLoS ONE*, 11(5).
- Morita, V. S., Almeida, A. R., Matos Jr, J. B., Vicentini, T. I., Zanirato, G. L., e Boleli, I. C. 2020. Neither altered incubation temperature during fetal development nor preferred rearing temperature improves leg bone characteristics of broilers. *Journal of Thermal Biology*, 93: 102726.
- Narınç, D., Erdogan, S., Tahtabiçen, E., e Aksoy, T. 2016. Effects of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chickens on developmental stability, hatchability and chick quality. *Animal*, 10(8): 1328–1335.
- Nichelmann, M., Lange, B., Pirow, R., Langbein, J., e Herrmann, S. 1994. Avian thermoregulation during the perinatal period. In: Zeisberger, E., Schoenbaum, E., e Lomax, P. *Thermal balance in health and diseases. Aps Advances in Pharmacological Sciences*. Birkhäuser Basel, 167-173.
- Nichelmann, M., Janke, O., Hochel, J., e Tzschenk, B. 2001. Development of physiological control systems in avian embryos. *New Biomed Science*, 15-25.
- Nichelmann, M., e Tzschenk, B. 2002. Ontogeny of thermoregulatory in precocial birds. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 14(1): 751-763.
- Ohlsson, C., Bengtsson, B., Isaksson, O. G. P., Andreassen, T. T., e Slootweg, M. C. 1998. Growth Hormone and Bone. *Endocrine Reviews*, 19(1): 55–79.

- Oviedo-Rondón, E. O., e Ferket, P. R. 2005. Nutritional factors that affect leg problems in meat poultry: A Review. 32nd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference.
- Oviedo-Rondón, E. O., Wineland, M. J., Small, J., Cutchin, H., McElroy, A., Barri, A., e Martin, S. 2009. Effect of incubation temperatures and chick transportation conditions on bone development and leg health. *Journal of Applied Poultry Research*, 18: 671–678.
- Oznurlu, Y., Sur, E., Ozaydin, T., Celik, I., e Ulusik, D. 2016. Histological and histochemical evaluations on the effects of high incubation temperature on the embryonic development of tibial growth plate in broiler chickens. *Microscopy Research and Technique*, 79: 106–110.
- Palacios, C. 2006. The Role of Nutrients in Bone Health, from A to Z. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8): 621-628.
- Penido, M. G. M. G., e Alon, U. S. 2012. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatry Nephrology*, 27: 2039–2048.
- Pines, M., e Hurwitz, S. 1991. The Role of the Growth Plate in Longitudinal Bone Growth. *Poultry Science*, 70: 1806-1814.
- Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Brake, J., e Yahav, S. 2008. Thermal Manipulations During Broiler Embryogenesis: Effect on the Acquisition of Thermotolerance. *Poultry Science*, 87: 1516–1525.
- Piestun, Y., Halevy, O., e Yahav, S. 2009. Thermal manipulations of broiler embryos- The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. *Poultry Science* 88(12): 2677-2688.
- Piestun, Y., Halevy, O., Shinder, D., Ruzal, M., Druyan, S., e Yahav, S. 2011. Thermal manipulations during broiler embryogenesis improves post-hatch performance under hot conditions. *Journal of Thermal Biology*, 36(7): 469–474.
- Piestun, Y., Druyan, S., Brake, J., e Yahav, S. 2013. Thermal manipulations during broiler incubation alter performance of broilers to 70 days of age. *Poultry Science*, 92: 1155–1163.
- Pines, M., e Reshef, R. 2015. Poultry bone development and bone disorders. In: Sturkie's Avian Physiology, Elsevier Inc.
- Pizauro Junior, J. M., Gonçalves, A. M., e Santos, L. F. J. 2017. Regulação do metabolismo ósseo por hormônios e íons inorgânicos. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. Fisiologia das aves comerciais. Jaboticabal: Funep, p. 516-530.
- Rath, N. C., Balog, J. M., Huff, G. R., Kulkarni, G. B., e Tierce, J. F. 2000. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- and seventy-two-ween-old male and female broiler breeder chickens. *Poultry Science*, 78: 1232-1239.

- Robson, H., Siebler, T., Shalet, S. M., e Williams, G. R. 2002. Interactions between GH, IGF-I, glucocorticoids, and thyroid hormones during skeletal growth. *Pediatric Research*, 52(2): 137-147.
- Robison, C.I., e Karcher, D. M. 2019. Analytical bone calcium and bone ash from mature laying hens correlates to bone mineral content calculated from quantitative computed tomography scans. *Poultry Science*, 98: 3611-3616.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., e Hannas, M.I. et al. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. Viçosa: UFV. 488p.
- Sanchez-Rodriguez, E., Benavides-Reyes, C., Torres, C., Dominguez-Gasca, N., Garcia-Ruiz, A. I., Gonzales-Lopez, S., e Rodriguez-Navarro, A. B. 2019. Changes with age (from 0 to 37 D) in tibiae bone mineralization, chemical composition and structural organization in broiler chickens. *Poultry Science*, 98: 5215-5225.
- Scanes, C. G., e Harvey, S. 1984. Hormones and Growth in Poultry. *Poultry Science*, 63: 2062-2074.
- Shanmugasundaram, R., e Selvaraj, R. K. 2012. Vitamin D-1 α -hydroxylase and vitamin D-24-hydroxylase mRNA studies in chickens. *Poultry Science*, 91: 1819–1824.
- Shim, M. Y., e Pesti, G. M. 2011. Effects of incubation temperature on the bone development of broilers. *Poultry Science*, 90: 1867–1877.
- Shim, M. Y., Karnuah, A. B., Anthony, N. B., Pesti, G. M., e Aggrey, S. E. 2012a. The effects of broiler chicken growth rate on valgus, varus, and tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 91: 62–65.
- Shim, M. Y., Karnuah, A. B., Mitchell, A. D., Anthony, N. B., Pesti, G. M., e Aggrey, S. E. 2012b. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. *Poultry Science*, 91: 1790–1795.
- Shinder, D., Ruzal, M., Giloh, M., Druyan, S., Piestun, Y., e Yahav, S. 2011. Improvement of cold resistance and performance of broilers by acute cold exposure during late embryogenesis. *Poultry Science*, 90: 633–641.
- Silva, T. P. B. Técnica de manipulação térmica pré-natal: efeitos sobre as características morfofisiológicas e o desenvolvimento ósseo de embriões e pintos de corte. 144 f. *Tese* (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador.
- Sozcu, A., e Ipek, A. 2015. Acute and chronic eggshell temperature manipulations during hatching term influence hatchability, broiler performance, and ascites incidence. *Poultry Science*, 94: 319–327.
- Stern, P. H. 2002. Thyroid hormone and bone. In: Bilezikian, J. P., Raisz, L. G., e Rodan, G. A. *Principles of bone biology*, 2th ed., v. 1.

- Suchý, P., Straková, E., Herzig, I., Steinhauser, L., Králik, G., e Zapletal, D. 2009. Chemical composition of bone tissue in broiler chickens intended for slaughter. *Czech Journal of Animal Science*, 54(7): 324–330.
- Sun, Z. W., Fan, Q. H., Wang, X. X., Guo, Y. M., Wang, H., Dong, X. 2018. High stocking density alters bone-related calcium and phosphorus metabolism by changing intestinal absorption in broiler chickens. *Poultry Science*, 97: 219-226.
- Tinawi, M. 2021. Disorders of Calcium Metabolism: Hypocalcemia and Hypercalcemia. *Cureus*, 13(1).
- Torres, A. C., e Korver, D. R. 2018. Influences of trace mineral nutrition and maternal flock age on broiler embryo bone development. *Poultry Science*, 97: 2996–3003.
- Tzschenk, B., e Plagmann, A. 2006. Imprinting and critical periods in early development. *World's Poultry Science Journal*, 62: 626-637.
- Tzschenk, B. 2007. Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors. *Poultry Science*, 86: 1025-1036.
- Tzschenk, B., e Tatge, S. 2013. Incubação circadiana® – Treinamento térmico embrionário para a robustez em aves. In: Macari, M., Gonzales, E., Patrício, I. S., Nääs, I. A., e Martins, P. C. Manejo da Incubação. 3. ed., FACTA: 136–141.
- Väänänen, K., e Zhao, H. Osteoclast Function: Biology and Mechanisms. 2002. In: Bilezikian, J. P., Raisz, L. G., Rodan, G. A. Principles of bone biology, 2th ed., 1.
- Van Der Eerden, B. C. J., Karperien, M., e Wit, J. M. 2003. Systemic and local regulation of the growth plate. *Endocrine Reviews*, 24(6): 782-801.
- Vimalraj, S. 2020. Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754.
- Wakita, R., Izumi, T., e Itoman, M. 1998. Thyroid hormone-induced chondrocyte terminal differentiation in rat femur organ culture. *Cell Tissue Research*, 293: 357-364.
- Walstra, I., Napel, J., Kemp, B., e Van Den Brand, H. 2010. Temperature manipulation during layer chick embryogenesis. *Poultry Science*, 89: 1502–1508.
- Whitehead, C. C. 2004. Overview of bone biology in the egg-laying hen. *Poultry Science*, 83: 193-199.
- Yahav, S., Sasson-rath, R., e Shinder, D. 2004. The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, body weight and thermoregulation after hatch. *Journal of Thermal Biology*, 29: 245–250.
- Yahav, S., e Mcmurtry, J. P. 2001. Thermoregulatory Responses of Broiler Chickens to Temperature Acclimation. *Poultry Science*, 80(6): 1026-1033.
- Yair, R., Uni, Z., e Shahar, R. 2012. Bone characteristics of late-term embryonic and hatchling broilers: Bone development under extreme growth rate. *Poultry Science*, 91: 2614-2620.

- Yair, R., Cahaner, A., Uni, Z., e Shahar, R. 2017. Maternal and genetic effects on broiler bone properties during incubation period. *Poultry Science*, 96:2301–2311.
- Yalcin, S., e Siegel, P. B. 2003. Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos. *Poultry Science*, 82: 1388-1392.
- Yalcin, S., Molayoglu, H. B., Baka, M., Genin, O., e Pines, M. 2007. Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the Incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 86: 1772-1783.
- Zur Nieden, N. I., Kempka, G., e Ahr, H. J. 2003. In vitro differentiation of embryonic stem cells into mineralized osteoblasts. *Differentiation*, 71(1): 18–27.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

As enormes perdas econômicas atribuídas às desordens esqueléticas na indústria avícola são causadas pelo aumento da mortalidade e pelas condenações durante o processamento de abate. Na busca pela solução, foca-se em melhorar quesitos como nutrição, manejo e ambiência, no entanto, é necessário dar atenção também aos fatores físicos utilizados durante a incubação, principalmente a temperatura, já que esses distúrbios ósseos podem ser originados nessa fase e esse fator apontado é crucial para o desenvolvimento de tecidos vitais.

Sendo assim, perfis térmicos na incubação podem variar de acordo com as variáveis utilizadas, como linhagem, circunstâncias ambientais e técnicas de manejo adotadas. Com base nas evidências deste nosso estudo, modificações térmicas tanto abaixo (36,7°C) quanto acima (38,9°C e 39,4°C) da considerada padrão (37,8°C), aplicadas de forma constante no período intermediário da incubação (8° e 18,5° dia), demonstraram comprometer os parâmetros fisiológicos, ósseos e de desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade. Isso provavelmente se deve a um estresse térmico que pareceu prejudicar o desenvolvimento do organismo e do metabolismo como um todo, constatado também pela alta temperatura retal. Com isso, não indica-se a modificação desse perfil a nível industrial.

Por outro lado, as temperaturas acima da padrão (38,9°C e 39,4°C) aplicadas intermitentemente por 6 horas diárias, durante o mesmo estágio de desenvolvimento embrionário, mostraram resultados satisfatórios para os mesmos parâmetros citados. Isso parece ser resultado de um aumento do metabolismo, proporcionando melhoria dos índices apontados. Apesar da temperatura abaixo da faixa comercial (36,7°C) ter causado resultados negativos para os mesmos quesitos, isso não pareceu ser suficiente para promover o surgimento de desordens esqueléticas e locomotoras nas aves. Dessa forma, a manipulação das condições térmicas durante o desenvolvimento embrionário de frangos de corte, aplicada intermitentemente e com controle da temperatura da casca do ovo, é uma técnica promissora que influencia positivamente o desenvolvimento ósseo e o desempenho zootécnico das aves. Além disso, promove maior termotolerância frente a climas quentes de criação.

Dessa forma, tendo em vista que a indústria avícola utiliza rotineiramente uma temperatura constante de incubação nas máquinas de estágio único, a nossa pesquisa elucida a importância de conhecer os resultados que este e o perfil intermitente obtêm,

comparando-os, a fim de encontrar e demonstrar para o setor a melhor alternativa a ser adotada para a obtenção de melhores índices produtivos e econômicos.

Pesquisas adicionais podem evidenciar os resultados encontrados e trazer uma compreensão mais profunda a respeito dos mecanismos fisiológicos que podem ser impactados. Além disso, novos estudos são necessários para otimizar essa técnica e determinar sua praticidade em uma escala de produção maior. No geral, essas descobertas têm implicações relevantes para o aprimoramento de estratégias que previnam o surgimento de desordens esqueléticas. Consequentemente, haverá a diminuição das perdas econômicas para a indústria avícola e melhores condições de bem-estar serão proporcionadas para esses animais.

ANEXOS



PRINCIPAIS FISIOPATOLOGIAS DO SISTEMA LOCOMOTOR DE FRANGOS DE CORTE



PRINCIPAIS FISIOPATOLOGIAS DO SISTEMA LOCOMOTOR DE FRANGOS DE CORTE

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - EMEVZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

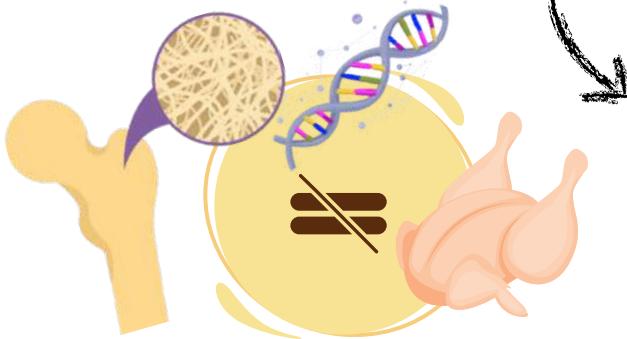
Doutoranda: Nayana Borges das Mercês
Orientadora: Profª. Drª. Vanessa Michalsky Barbosa
Co-orientador: Marcos Barcellos Café
Colaboradora: Lia Muniz Barretto Fernandes

Salvador/BA
2024

INTRODUÇÃO

A formação óssea leva aproximadamente 4 a 6 meses para ser concluída. No entanto, em aves de crescimento rápido, como as atuais linhagens de frangos de corte, que têm vida curta e são abatidas em média aos 42 dias, o desenvolvimento e maturidade do osso não é completa.

(CLARKE, 2008; RATH et al., 2000)



Aliado a isso, a seleção genética, que priorizou a obtenção de aves com maior peso e musculatura, não fez com que o crescimento ósseo acompanhasse essa evolução. Como resultado, isso tem levado à ocorrência de deformidades ósseas e problemas locomotores.

(SUCHÝ et al., 2009; PINES; RESHEF, 2015)

Essas anormalidades são importantes para a avicultura mundial por atingirem 2 a 8% das aves comerciais, sendo mais incidentes em idade avançada (7 a 8 semanas) e nos machos, os quais têm o crescimento mais acelerado e são normalmente mais pesados que as fêmeas.

(BILGILI et al., 2009; OVIEDO-RONDÓN et al., 2009a; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

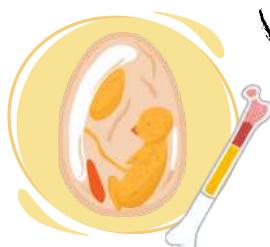


Defeitos graves prejudicam a locomoção das aves, levando à queda dos resultados zootécnicos e mortalidade por fome e desidratação; mas mesmo deformidades leves demonstraram causar desconforto ou dor, e causam depreciação ou perda de carcaça no abate, pela presença de calos no peito, feridas nos pés e dermatites de contato. Portanto, além de causarem problemas econômicos, as doenças ósseas também afetam o bem-estar.

(COOK, 2000; ALMEIDA PAZ, 2008; SHIM et al., 2012a; MARTINS et al., 2020; SZAFRANIEC et al., 2022)

As inúmeras anomalias ósseas da perna das aves, podem ser causadas desde por problemas de desenvolvimento, até por questões genéticas, degenerativas, nutricionais, ambientais ou infecciosas, estando essas causas frequentemente associadas.

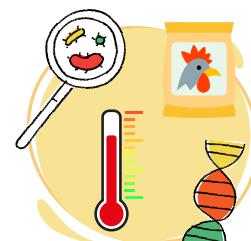
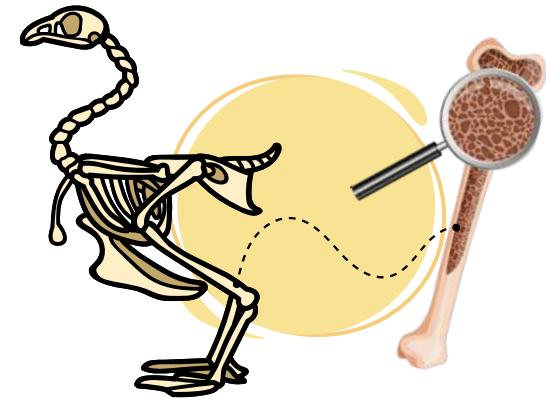
(DIBNER et al., 2007; FLEMING, 2008; GROVES; MUIR, 2011; NICOL, 2013; OZNURLU et al., 2016)



Além disso, o desenvolvimento ósseo e a diferenciação da placa de crescimento se iniciam na embriogênese, e a maior taxa de crescimento ocorre dias antes e alguns dias após a eclosão. Assim, distúrbios do desenvolvimento ósseo também podem surgir durante o período da incubação.

(HAMMOND et al., 2007; YALÇIN et al., 2007; OVIEDO-RONDÓN et al., 2008; 2009a; OZNURLU et al., 2016)

A seguir, nesta cartilha, serão pontuadas as principais patologias do sistema locomotor encontradas em frangos de corte.

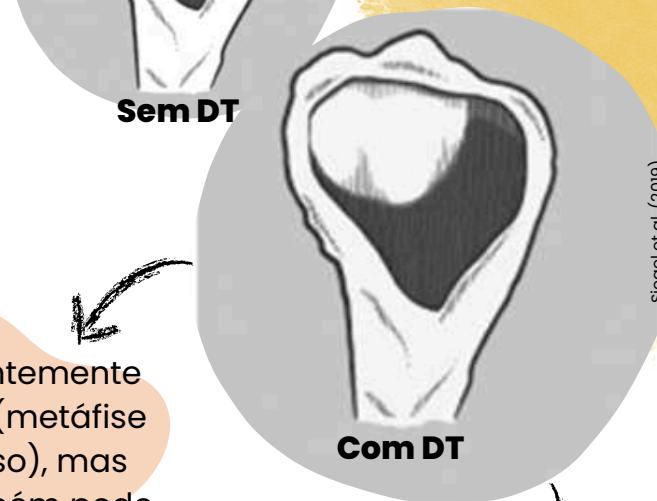


DISCONDROPLASIA TIBIAL

Descrita pela primeira vez por Leach e Nesheim (1965) como uma anormalidade da cartilagem óssea



A condição é frequentemente descrita sendo tibial (metáfise proximal do tibiotarso), mas ocasionalmente também pode atingir o tarsometatarso proximal



Siegel et al. (2019)



É uma das anomalias esqueléticas mais prevalentes nas espécies aviárias de corte. Geralmente surge entre 2-8 semanas de idade em frangos

Acúmulo anormal e persistente de uma massa branca, opaca, não vascularizada e não mineralizada de cartilagem com formato irregular na placa de crescimento de ossos longos



Na maioria das vezes é bilateral

SINAIS CLÍNICOS



Arqueamento das pernas
Inchaço bilateral das articulações femoro-tibiais
Claudicação
Relutância em se mover (dor)
Fraturas
Fraqueza
Desidratação e inanição

Lesões pequenas provavelmente serão subclínicas

Bem-estar é bastante afetado!



DISCONDROPLASIA TIBIAL

Afeta também o desempenho zootécnico:

Menor ganho de peso

Menor qualidade da carne do músculo peitoral

(Cao et al., 2020)



Compromete a formação óssea endocondral normal

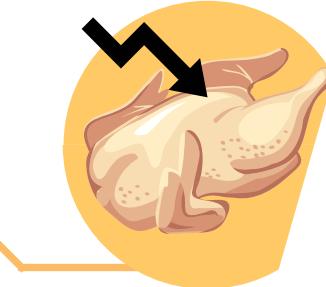


PATOGENESE

Altamente associada à inibição da angiogênese tibial, por regular negativamente fatores indutores do crescimento endotelial vascular.

Com o suprimento sanguíneo insuficiente, ocorre a morte dos condrócitos sem que haja a maturação correta

(HUANG et al., 2017)



NOTA

SINAIS MICRO

Retardo ou atrofia da diferenciação dos condrócitos da zona pré-hipertrófica em condrócitos hipertróficos, os quais são necessários para que ocorra vascularização, mineralização e reabsorção de cartilagem

(YALÇIN et al., 2007; CRESPO; SHIVAPRASAD, 2008; 2017; AKYÜZ; ONBAŞILAR, 2020; GÜZ, 2022)



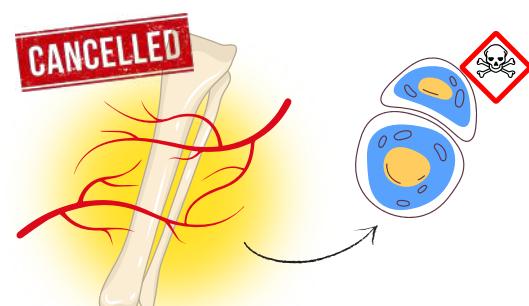
Mitocôndrias dos condrócitos anormais retêm menos cálcio e fósforo em comparação com condrócitos normais

(CRESPO; SHIVAPRASAD, 2017)



Alterações na composição da matriz extracelular. Por exemplo, a Fosfatase Alcalina e o colágeno tipo X, que são marcadores da diferenciação dos condrócitos, se apresentam em quantidades reduzidas

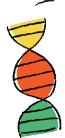
(FARQUHARSON; JEFFERIES, 2000; CRESPO; SHIVAPRASAD, 2017)



CAUSAS

Seleção genética
objetivando promover alta taxa de crescimento das aves

(PINES; RESHEF, 2015)



Fatores ambientais
(temperatura, luz e densidade de alojamento)

(EDWARDS; VELTMANN, 1983; GROVES; MUIR, 2011)



Fatores nutricionais

Desequilíbrio eletrolítico (Na^+ , K^+ , Cl^-) e da relação Ca:P na ração; excesso de aminoácidos; nível de ácido ascórbico; presença de micotoxinas ou de ditiocarbamatos

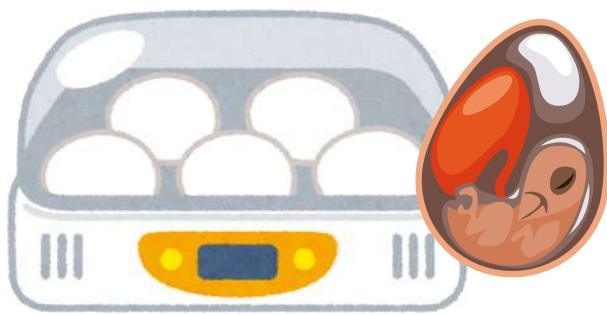
(ORTH; COOK, 1994; WHITEHEAD, 1997; PINES et al., 2005; LEACH; MONSONEGO-ORNAN, 2007; ZHANG et al., 2020)



DISCONDROPLASIA TIBIAL

Estudos...

Segundo Groves e Muir (2017), a incidência e gravidade da DT podem ser reduzidas manipulando a temperatura de incubação durante o desenvolvimento embrionário



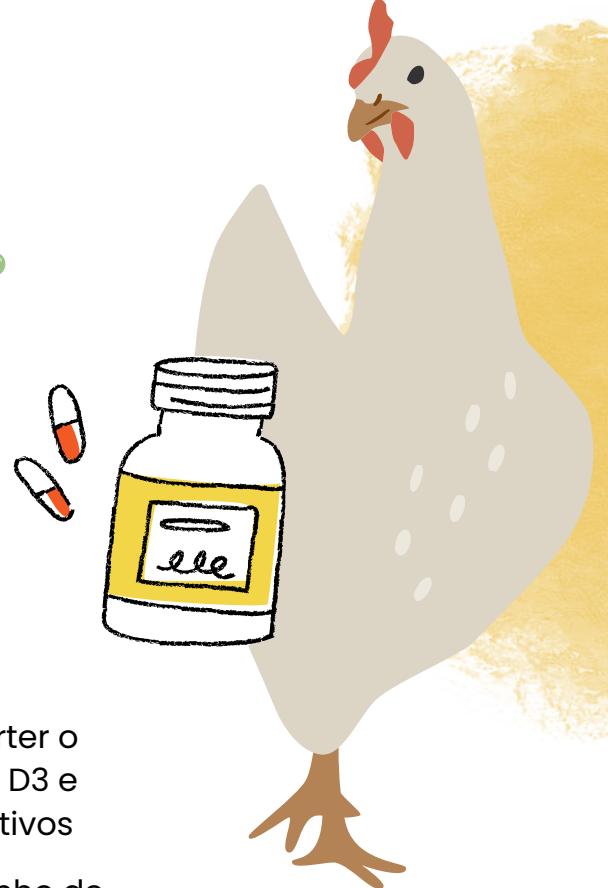
POR QUE ESSE EFEITO?

Porque pode prevenir o crescimento rápido na primeira semana de vida!

Os autores abordam que os pintinhos que são incubados em temperatura padrão de 37,8°C, apresentam maior taxa de crescimento inicial (primeiros 7 dias de vida), o que pode ser determinante para o desenvolvimento da doença



De acordo com Genin et al. (2008), o superaquecimento cíclico durante os primeiros 8 dias de incubação pode causar DT, devido à promoção da hipóxia da placa de crescimento



TRATAMENTO

Ainda não se sabe ao certo o que pode reverter o quadro, porém a administração de vitamina D3 e seus metabólitos demonstraram efeitos positivos (CRESPO; SHIVAPRASAD, 2008)

Além, claro, da restrição da rápida taxa de ganho de peso, o que para a indústria é inviável

(WHITEHEAD, 1997; PINES et al., 2005; LEACH E MONSONEGO-ORNAN, 2007; ZHANG et al., 2020)

DEFORMIDADES ANGULARES DAS PERNAS

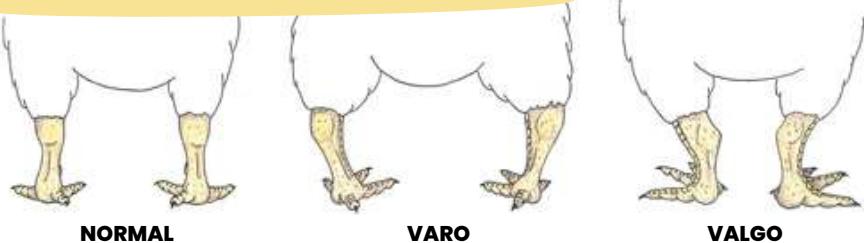
Também chamadas de “twisted legs” (pernas torcidas), “bower legs” (pernas arqueadas) e “bent legs” (pernas curvas ou tortas)



Descritas pela primeira vez em frangos de corte por Osbaldiston e Wise (1967) como angulação lateral da articulação tibiotársica. Randall e Mills (1981) e Julian (1984) atualizaram o termo impreciso para **angulação valgo-varo**.

Deformidade valgo-varo (DVV)

A mais comum que atinge as pernas de frangos de corte e se caracteriza por uma rotação para fora/lateral (valgo) ou para dentro/medial (varo) do osso tibiotársico que resulta no desvio do tarsometatarso



Problema considerado difícil e mais frequente em machos de linhagens de crescimento rápido, pois prejudica muito a capacidade de locomoção. Em casos graves, leva à morte por fome e desidratação



Queda do desempenho (baixo ganho de peso) + características ósseas comprometidas (GUO et al., 2019; Cai et al., 2023)

O osso mais afetado é a tíbia (tibiotarso), mas também pode acometer o fêmur e o metatarso



O desvio valgo pode se manifestar entre 2-7 semanas e o desvio varo entre 5-15 dias de idade (LETERRIER E NYS, 1992; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

No abate, pode haver condenação
por emaciação ou por atrofia do
músculo da perna afetada ou por
formação de calos
(JULIAN, 1998)

As perdas
económicas são
significativas



DEFORMIDADES ANGULARES DAS PERNAS

Apresenta vários graus de gravidade:

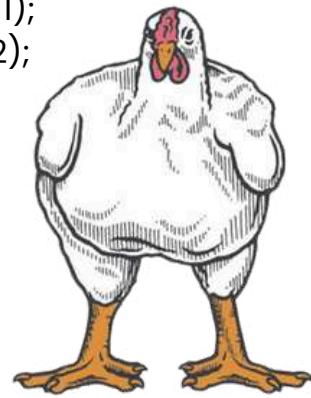
Normal (desvio menor que 5° do ângulo tibia-metatarso; escore = 0);

Deformidade leve (ângulo tibia-metatarso entre 10 e 25°; escore = 1);

Deformidade intermediária (ângulo entre 25° a 45°; pontuação = 2);

Grave deformidade (ângulo maior que 45°; escore = 3)

(LETERRIER; NYS, 1992; BRADSHAW et al., 2002)



NORMAL

CAUSAS

Genética ou de desenvolvimento

(rápido aumento na taxa de crescimento)



Ambiente de criação

(piso ou gaiola)



Discondroplasia tibial

(LETERRIER; NYS, 1992; JULIAN, 2005; CRESPO; SHIVAPRASAD, 2017; MENDONÇA JÚNIOR ET AL, 2020)

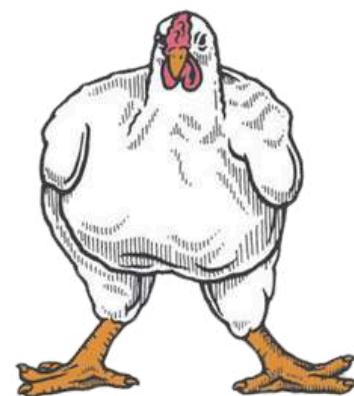


Manejo durante a incubação

(CRESPO E SHIVAPRASAD, 2008; OVIEDO-RONDÓN ET AL, 2008)



Atividade física, alterações metabólicas sistêmicas, infecções, dieta desbalanceada (em minerais e vitaminas), iluminação, fatores antinutricionais, micotoxinas, neuropatias e lesões articulares também contribuem para a ocorrência e agravamento das DVV



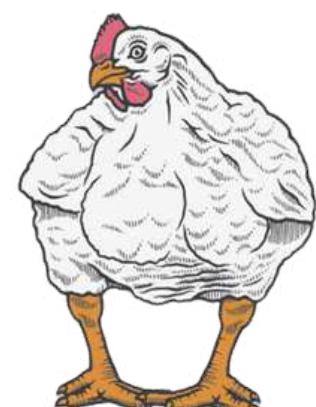
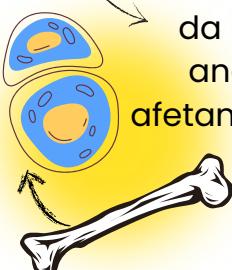
VALGO

(arqueada para dentro)

PATOGENESE

Provavelmente ocorre devido à vascularização irregular da placa de crescimento, causada por uma carga anormal sobre a metáfise ainda no osso imaturo, afetando também a orientação colunar dos condrócitos durante a sua proliferação

(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)



VARO

(arqueada para fora)

NECROSE DA CABEÇA DO FÊMUR

Uma das doenças ósseas mais comuns em aves de crescimento rápido



NORMAL



COM NECROSE

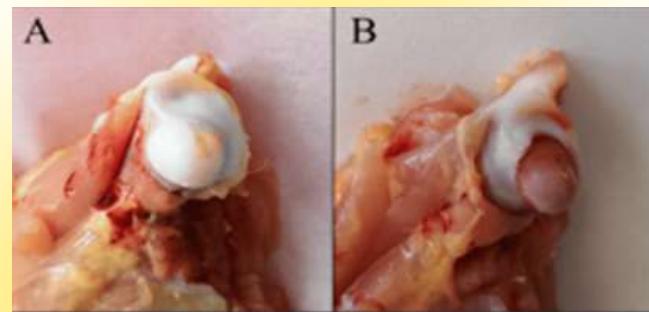
O QUE É?

Separação da epífise da cartilagem articular, com posterior necrose do osso trabecular e, por fim, fratura subcondral ou desintegração da cabeça femoral, com permanência da cabeça do fêmur no interior do acetáculo

Pode ser dividida em:

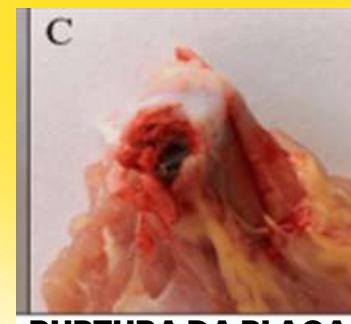
- Separação da cabeça femoral (SCF)
- Separação da cabeça femoral com lacerações (SCFL)
- Ruptura da placa de crescimento, dependendo da gravidade

(DURAIRAJ et al., 2009; PACKIALAKSHMI et al., 2015)



NORMAL

SCF



RUPTURA DA PLACA

Também chamada de degeneração da cabeça do fêmur ou degeneração femoral proximal, necrose de ossos longos, condrite bacteriana com osteomielite e condronecrose bacteriana.

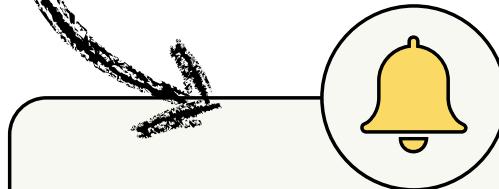
Apesar de ser denominada como uma doença “do fêmur”, as lesões podem ocorrer em qualquer osso, sendo comuns também no tibiotarso
(MCNAMEE; SMYTH, 2000)

Siegel et al. (2019)

YU et al. (2020)

NECROSE DA CABEÇA DO FÊMUR

Elas podem se agravar?

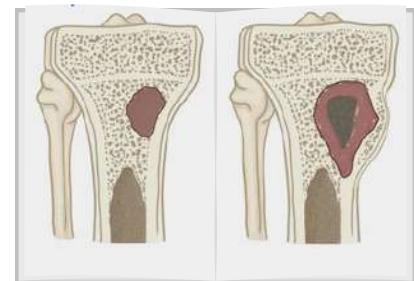


Sim! Quando a ave acometida está em situação de imunossupressão ou estresse, bactérias oportunistas, principalmente *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, se estabelecem na região proximal do osso até a cavidade medular, e formam **microabcessos de coloração amarelada ou acastanhada**

(PINES; RESHEF, 2015; WIDEMAN, 2016; WIJESURENDRA et al., 2017; SZAFRANIEC et al., 2022)

Também pode estar associada à DT e a osteocondrose (MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

SURGE A
OSTEOMIELITE



SINAIS CLÍNICOS

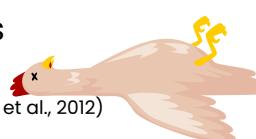
Na maioria das vezes é subclínica

(LI et al., 2015)

Porém, é comumente associada a:

claudicação
pernas abertas
morte súbita

(MCNAMEE; SMYTH, 2000; BRADSHAW et al., 2012)



Bem-estar é comprometido e as perdas econômicas são significativas
(JULIAN, 1998; MCNAMEE; SMYTH, 2000)

CAUSAS

Origem traumática:

Lesões físicas oriundas das condições do piso, captura, manuseio e outros fatores ambientais podem causar trauma nas epífises e desencadear a doença

(PACKIALAKSHMI et al., 2015)

Origem não traumática:

Problemas genéticos e metabólicos
(LI et al., 2015; ZHANG et al., 2017; YU et al., 2020; LIU et al., 2021)

SINAIS MICRO

Condrocitos são distribuídos de forma irregular na zona de repouso; aparecem vacúolos, revelando a apoptose dessas células na placa de crescimento do fêmur. Porém os mecanismos que provocam isso

não são definidos

(LI et al., 2015; ZHANG et al., 2017; LIU et al., 2021)

PREVENÇÃO



Desacelerar a taxa de crescimento, reduzir lesões traumáticas com manejo seguro, controlar a densidade de lotação, manter melhores condições higiênicas no alojamento

(PACKIALAKSHMI et al., 2015)



CONDRODISTROFIA



Perose, tendão deslocado ou doença do jarrete

O QUE É?

Deformação anatômica que atinge ossos longos de frangos (12 a 15 dias de idade) e perus (2 a 4 semanas) jovens, e causa má formação dos tecidos cartilaginosos e do processo normal de ossificação



LEY et al. (2010)

SINAIS

Desvio unilateral de perna com tumefação da articulação tarsal;
Locomoção prejudicada;
Queda no consumo de água e ração;
Caquexia;
Calos de peito

(KORSAK et al., 2000; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

Apesar do crescimento linear ser prejudicado, a mineralização e a aposição continuam se desenvolvendo normalmente.

Isso resulta em ossos encurtados e espessados, além de articulações tibiometatarsais aparentemente aumentadas de volume



SINAIS MICRO

Ocorre aumento significativo na largura da placa cartilaginosa e redução na vascularização. Além de uma desaceleração da taxa mitótica de condrócitos em proliferação nas placas de crescimento

(WOLBACH; HEGSTED, 1953; WISE ET AL, 1973)



CAUSAS

Genética

(crescimento rápido das linhagens atuais)



Nutricional

(deficiência colina, niacina, ácido fólico, biotina, piridoxina, zinco e principalmente manganês; desequilíbrio iônico - Na/K/Cl; relação Ca:P ruim)



Manejo da incubação

(exposição a altas temperaturas nas primeiras semanas embrionárias)



(WISE, 1975; KORSAK et al., 2000; KLASING, 2008; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

PODODERMATITE

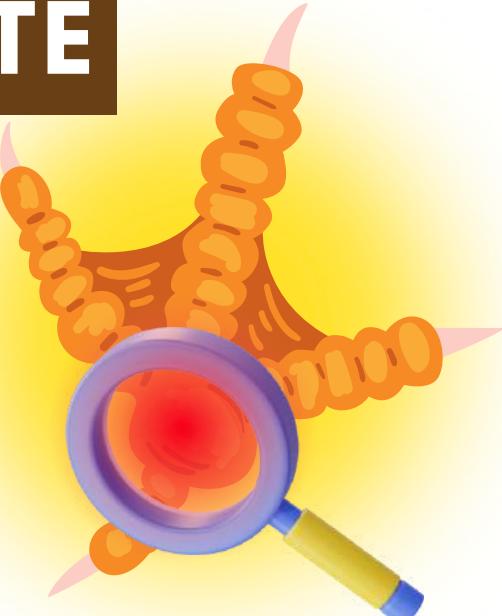


Dermatite podal ou dermatite de contato

O QUE É?



Inflamação, principalmente na superfície plantar (coxim) dos pés, em geral na parte central, podendo se estender até os dedos e articulação do jarrete

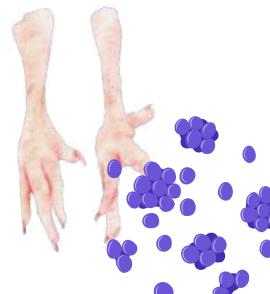


Em casos graves, resulta em lesões subcutâneas com ulcerações e necrose, podendo também ser acompanhada de lesões no peito

(JACOB et al., 2016; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

Úlceras profundas podem causar abcessos, portanto infecções secundárias também são relatadas, e causar espessamento dos tecidos (queratina e epiderme) e estruturas subjacentes

(BILGILI et al., 2009; SHEPHERD; FAIRCHILD, 2010)



A bactéria *Staphylococcus aureus* está presente na maioria dos casos

(WILCOX et al., 2009)

Bem-estar comprometido e há condenações parciais ou totais de carcaça nos abatedouros

(EKSTRAND et al., 1998; DIBNER et al., 2007; SHEPHERD; FAIRCHILD, 2010; BASSLER et al., 2013)



SINAIS CLÍNICOS

Dor e claudicação, queda no desempenho

Mais incidente em lotes de machos; aumenta à medida que os frangos ganham peso (19-29 dias de idade)

(BILGILI et al., 2009; JACOB et al., 2016)



Atualmente, o Brasil é um grande exportador de pés de frango, em especial para o mercado da China. Essa afecção, portanto, têm sido um grande problema econômico para as empresas do setor

(SHEPHERD; FAIRCHILD, 2010; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

No campo, podem-se utilizar várias escalas para determinar a gravidade da lesão. Em todas elas, a pontuação mais alta representa maior gravidade

(EKSTRAND et al., 1997; EKSTRAND et al., 1998; BILGILI et al., 2009)

PODODERMATITE

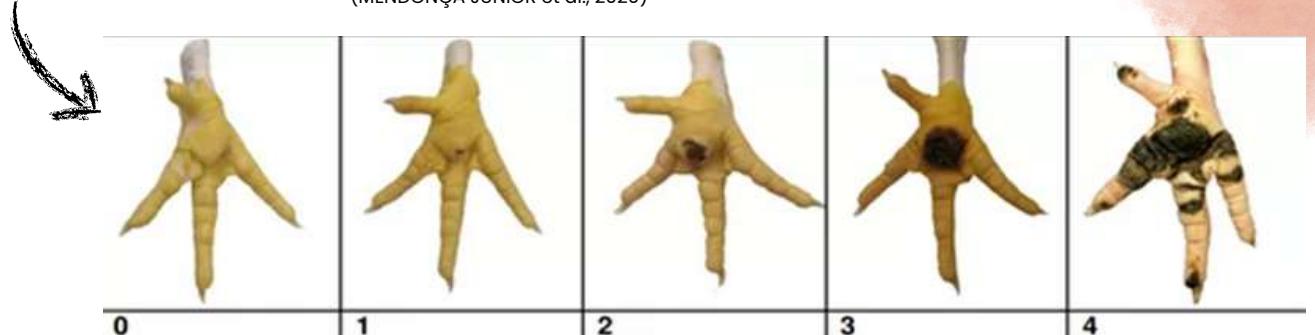
A Welfare Quality® estabelece os seguintes escores:

0 - ausência total de lesões;

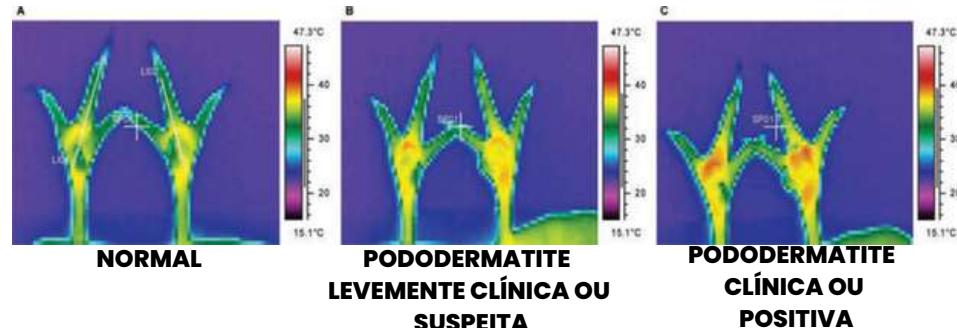
1 e 2 - evidência mínima de lesão;

3 e 4 - lesões graves, com comprometimento do sistema locomotor

(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)



Outro método de detecção da pododermatite inclui a obtenção de **imagens termográficas** na linha de abate (WILCOX et al., 2009)



CAUSAS

Qualidade da cama (principal!)



umidade, aspecto, material utilizado, tamanho ou espessura das partículas e manejo diário



Fatores genéticos



Fatores ambientais

Temperatura e umidade do ar, e densidade de alojamento



Fatores nutricionais

Deficiência de vitaminas e aminoácidos; dieta com alto teor de polissacarídeos não amiláceos e com alto teor de gordura; dietas com alto teor de sal

(EKSTRAND et al., 1997; BILGILI et al., 2009; SHEPHERD; FAIRCHILD, 2010; IPEK; SOZCU, 2016; JACOB et al., 2016; SHEPHERD; FAIRCHILD, 2010; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)



Manejo na incubação

Fatores físicos, como a temperatura, aplicados erroneamente originam pintinhos de baixa qualidade e susceptíveis a doenças podais

(JONG et al., 2012; A COSTA et al., 2014; IPEK; SOZCU, 2016)

De uma forma geral, a dieta deve ser formulada para favorecer uma melhor absorção dos nutrientes, evitando problemas digestivos como diarréia, que contribui de forma negativa na manutenção da qualidade da cama
(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)



RAQUITISMO

O QUE É?

Crescimento continuado da cartilagem com falha generalizada na mineralização e calcificação, induzida pela deficiência nutricional de cálcio e vitamina D (hipocalcêmico) ou fósforo (hipofosfatêmico)



Embora a nutrição de frangos de corte hoje seja bem atendida no fornecimento de um equilíbrio desses nutrientes, a ocorrência de raquitismo pode ser observada (GROVES; MUIR, 2011)

SINAIS MACRO E MICRO

Ossos e bico moles (semelhante à borracha); caixa torácica reduzida (compressão dos órgãos torácicos); presença de rosário raquítico; osso esterno distorcido em forma de S; ataxia locomotora (raquitismo hipofosfatêmico)

(ITAKURA et al., 1979; DINEV, 2012; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

Hipocalcêmico:

Placa de crescimento do tibiotarso com zona proliferativa irregular, espessa e pouco vascularizada; nota-se condrócitos desorganizados na histologia. Enquanto que a zona hipertrófica é pequena e pouco vascularizada

Hipofosfatêmico:

Zona hipertrófica é espessa e não mineralizada/calcificada, mas com vascularização

(LACEY; HUFFER, 1982; DINEV, 2012; PINES; RESHEF, 2015; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

Foi constatado que aves com 30-35 dias de idade, que tiveram raquitismo precoce, desencadeiam outras doenças ósseas, como osteomielite, necrose a cabeça do fêmur, fraturas, discondroplasia e dentre outras

(DINEV, 2012)

SINAIS CLÍNICOS

Fraqueza nas pernas - marcha instável até à completa incapacidade de locomoção; Dor - deitam com as pernas dobradas ou de lado, e algumas aves usam as asas como apoio para se moverem; Fraturas e curvatura anormal do tibiotarso; Queda no consumo de água e alimento;

Morte por inanição
(SULLIVAN, 1994; DINEV, 2012).

CAUSAS

Má absorção nutricional causada por enterites, síndromes virais, problemas pancreáticos ou micotoxinas, ou interferências no metabolismo da vitamina D

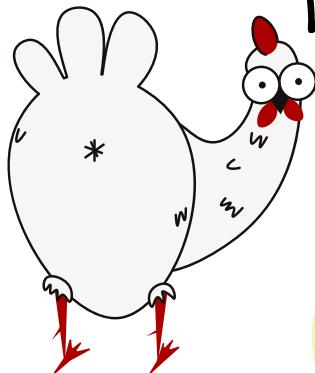
(HUFF et al., 1999; GROVES; MUIR, 2011; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

Os sintomas normalmente surgem entre 7 a 14 dias de idade, com regressão das lesões após várias semanas, a depender da reestruturação nutricional, do potencial de crescimento da ave e da severidade da deficiência

(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

ESPONDILOLISTESE

**Costas tortas ou
Kinky back**



**Pico de incidência:
3-6 semanas
de idade**

(CRESPO; SHIVAPRASAD, 2017;
MENDONÇA JUNIOR et al., 2020)

O QUE É?

Anormalidade da coluna vertebral, sendo que “espôndilo” refere-se à vértebra e “listese” ao deslizamento

**Menos frequente
em frangos de corte**

Causa também uma pré-condição para a ocorrência de lesões necrobióticas degenerativas nos corpos vertebrais, comprometendo a articulação do corpo vertebral, resultando em deformação e inflamação, além de provocar trauma nos tecidos moles adjacentes

Uma vértebra se desloca sobre a outra em sentido anterior, posterior ou lateral. Em especial, os ligamentos entre a 3^a e 4^a vértebras torácicas se rompem e permitem que a extremidade anterior da 4^a vértebra torácica se desloque, fazendo com que a extremidade posterior se sobreponha à 5^a vértebra, gerando compressão da medula espinhal.

SINAIS CLÍNICOS

Dor (devido compressão medular); fraqueza; redução da flexibilidade; ataxia; paralisia dos membros; frangos ficam tortos, sentam-se sobre os jarretes com as patas estendidas, e usam as asas na tentativa de escapar quando abordadas; Morte (desidratação)

(JULIAN, 2005; DINEV, 2014)

Diagnóstico diferencial:

Espondilite enterocócica - conhecida como osteoartrite vertebral - doença bacteriana causada por *Enterococcus cecorum*, que também atinge os ossos da coluna das aves

(BORST et al., 2017)

SINAIS MACRO

Ao palpar a superfície ventral da coluna vertebral, pode-se detectar facilmente a deformação. O diagnóstico é bem confirmado pela remoção, descalcificação e divisão da coluna vertebral ao longo de um plano longitudinal da linha média para permitir a visualização da opressão da medula espinhal

(CRESPO; SHIVAPRASAD, 2017)

CAUSAS

Predisposição genética - distúrbio do desenvolvimento influenciado pela conformação e pela taxa de crescimento

(OSBALDSTON; WISE, 1967; CRESPO; SHIVAPRASAD, 2017)

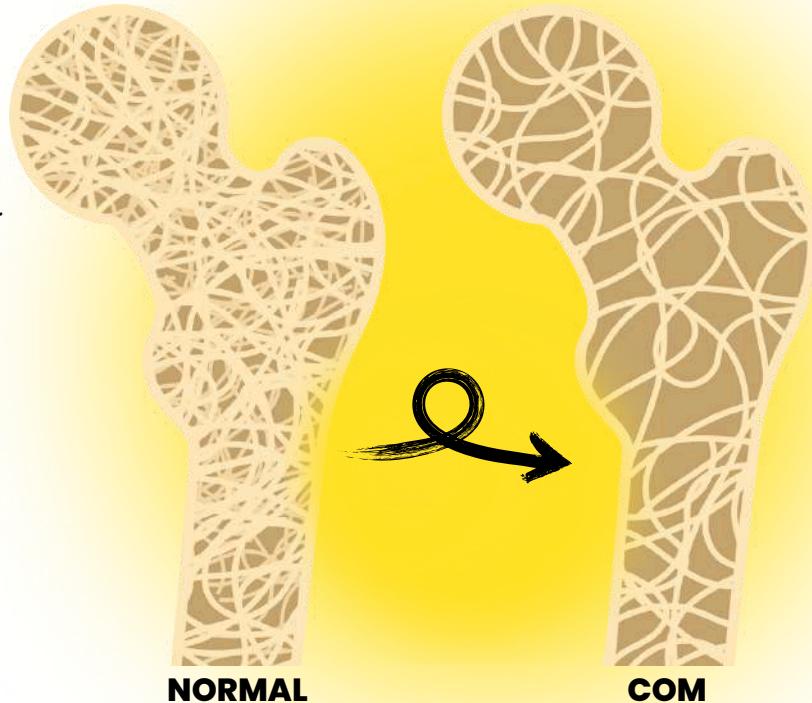
OSTEOPOROSE



O QUE É?

Diminuição progressiva da quantidade de osso estrutural mineralizado e leva à fragilidade óssea

Descrita pela primeira vez por Couch (1955) em galinhas poedeiras criadas em gaiolas. Chamou de "fadiga das poedeiras de gaiola", envolvendo fragilidade óssea, paralisia e morte



CAUSAS

Genética, ambiental e nutricional

(FLEMING et al., 2006)

Com o avançar da idade e mudanças hormonais há a redução da produção de osteoblastos

(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

A seleção genética das poedeiras priorizou aves mais leves e com produção de ovos significativamente maiores. Porém, isso não foi acompanhado do aumento na voracidade, submetendo as aves a um estado de **carência nutricional**

Dessa forma, aves de postura possuem **maior demanda por Ca** em relação a outros tipos de aves, devido a alta taxa de postura e necessidade do mineral para compor a casca do ovo

SINAIS

Ocorrem fraturas durante a vida das galinhas (principalmente nas criadas em gaiolas); e no transporte para o abatedouro ou quando penduradas nas linhas de abate



Ísquo, úmero, fêmur, ulna e quilha apresentaram as maiores frequências de fratura

(BISHOP et al., 2000)

Com essa carência, ocorre uma maior reabsorção óssea pelos osteoclastos, em que o Ca é retirado do osso medular (tíbia e úmero), mas em casos avançados é retirado do osso cortical, o qual é responsável pela integridade física do esqueleto. **Isso leva à fragilidade óssea e susceptibilidade à fratura**

(BISHOP et al., 2000; WHITEHEAD; FLEMING, 2000; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

ARTRITE INFECCIOSA



**Menos frequente
em frangos de corte**

OU tenossinovite

Responsável por transtornos locomotores em frangos de corte, perus e reprodutores pesados, sendo uma **doença economicamente importante** em todo o mundo



ETIOLOGIA

CAUSAS

Aumento rápido do peso corporal, criação em piso ripado, deficiência nutricional, deficiência de biossegurança na granja
(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

Bactérias *Mycoplasma synoviae* ou *Staphylococcus aureus*; e o **vírus** reovírus (gênero *Orthoreovirus*, da família *Reoviridae*), sendo esse último o maior causador de danos, estando muitas vezes associado às bactérias
(VAN DER HEIDE, 1977; JONES, 2008; SELLERS, 2017; MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

SINAIS CLÍNICOS

Claudicação

(mais evidenciada nas infecções crônicas);

Edema e rubor das articulações do jarrete e de tendões gastrocnêmio ou flexores digitais.

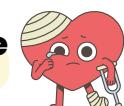
Consequente **ruptura de tendões**, principalmente o gastrocnêmio, ficando a ave incapacitada;

Inanição, por falta de acesso ao alimento;

Pode ocorrer **ruptura de vasos sanguíneos**, percebido através do surgimento de coloração esverdeada da pele (extravasamento de sangue)

(JONES, 2008; SELLERS, 2017)

Grave problema de bem-estar



PREVENÇÃO E CONTROLE

Atentar-se à qualidade da cama, do piso de arame e das ripas, uma vez que traumas nos pés permitem que bactérias da pele penetrem nas articulações



Vacinação contra o vírus

TRATAMENTO

Origem bacteriana: agente quimioterápico adequado, mas isso geralmente produz pouca melhora clínica



Origem viral: não há tratamento específico e as aves gravemente afetadas devem ser abatidas

PARALISIA DOS DEDOS CURVOS

CAUSAS

Deficiência de vitaminas, principalmente a vitamina B2 (riboflavina)

VITAMIN

Menos frequente em frangos de corte

Determina alterações na bainha mielínica de troncos nervosos importantes



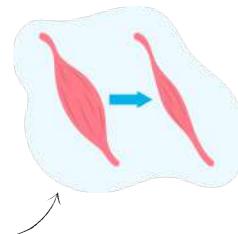
SINAIS CLÍNICOS

Transtornos locomotores nas aves. Caminham sobre os tarsos e apresentam os dedos curvos ou retorcidos

O nervo ciático é o mais frequentemente atingido

SINAIS MACRO

Aumento significativo do diâmetro do nervo ciático (cerca de 5x mais).



Músculos da perna podem se mostrar atrofiados



Nos estágios iniciais, enquanto não ocorrer degeneração nervosa, o quadro é **reversível**
(MENDONÇA JÚNIOR et al., 2020)

NORMAL



KAPELL et al. (2012)



COM

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DOS DISTÚRBIOS DE LOCOMOÇÃO

Gait Score

OU pontuação de marcha

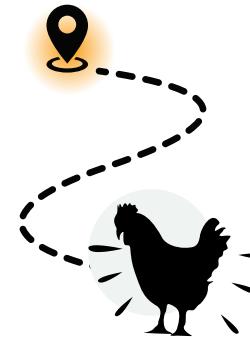
Técnica desenvolvida por Kestin et al. (1992)

Mede a capacidade de locomoção das aves

Aves com 42 dias de idade

Avaliadas individualmente

Pontuadas quanto à habilidade de caminhar em um metro de superfície plana



Frangos são categorizados em 6 escores (0 a 5):

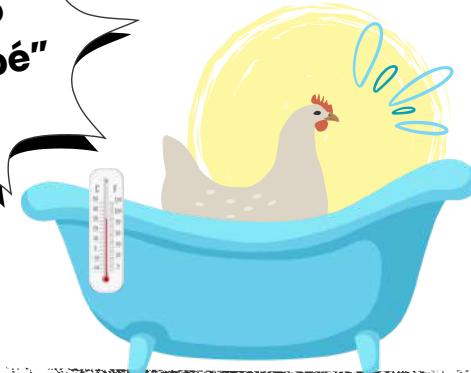
0	Nenhum	A ave caminha normalmente sem nenhuma anormalidade detectável; é hábil e ágil. Deve também desviar-se facilmente do seu curso para evitar outras aves.
1	Anormalidade detectável, mas não identificável	A ave tem ligeiro defeito, que é difícil de definir com precisão, mas que impede sua utilização para reprodução se a marcha for o único critério de seleção no padrão da linhagem.
2	Anormalidade identificável, que tem pouco impacto na função geral	A ave tem um defeito definido e identificável, mas a lesão não a impede de se mover ou se alimentar.
3	Anormalidade identificável que prejudica a função	A ave tem um defeito óbvio na marcha que afeta sua capacidade de locomoção. A ave muitas vezes prefere agachar-se quando não é coagida a mover-se, e a sua capacidade de manobra, aceleração e velocidade são afetadas.
4	Comprometimento grave da função, mas ainda capaz de andar	A ave tem um grave defeito de marcha. Ainda é capaz de andar, mas apenas com dificuldade e quando impulsionada ou fortemente motivada. Caso contrário, agacha-se na primeira oportunidade disponível.
5	Claudicação completa	A ave é incapaz de andar sustentadamente sobre os pés. Embora possa ter conseguido ficar de pé, a locomoção só pode ser conseguida com a ajuda das asas ou rastejando nas patas.

SCORE!

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DOS DISTÚRBIOS DE LOCOMOÇÃO

• **Latency-to-lie**

OU teste do
"tempo em pé"



Método comportamental que
avalia a saúde das pernas
dos frangos de corte

Registra a quantidade de
tempo (máx. de 5 min.) que
uma ave leva para sentar
após ser colocada em pé em
uma banheira contendo 3cm
de água a uma temperatura
de 31°C a 33°C (morna)

O contato corporal com a
água é uma novidade e uma
experiência aversiva aos
frangos



Elá pode ser realizada
em grupos
(Weeks et al., 2002)
ou
individualmente
(Berg e Sanotra, 2003)

Foi suposto que
aqueles que
estivessem com dor
nas pernas sentariam
mais cedo do que
aqueles sem dor



Angulação tíbia-metatarso das aves é classificada
visualmente como:

- **Escore 0: normal (desvio menor que 5°)**
- **Escore 1: deformidade leve (10 a 25°)**
- **Escore 2: deformidade intermediária (25 a 45°)**
- **Escore 3: deformidade grave (desvio maior que 45°)**

Descrita por
Leterrier e Nys (1992)



TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DOS DISTÚRBIOS DE LOCOMOÇÃO

Escor de DT

Descrita por
Edwards e
Veltmann (1983)

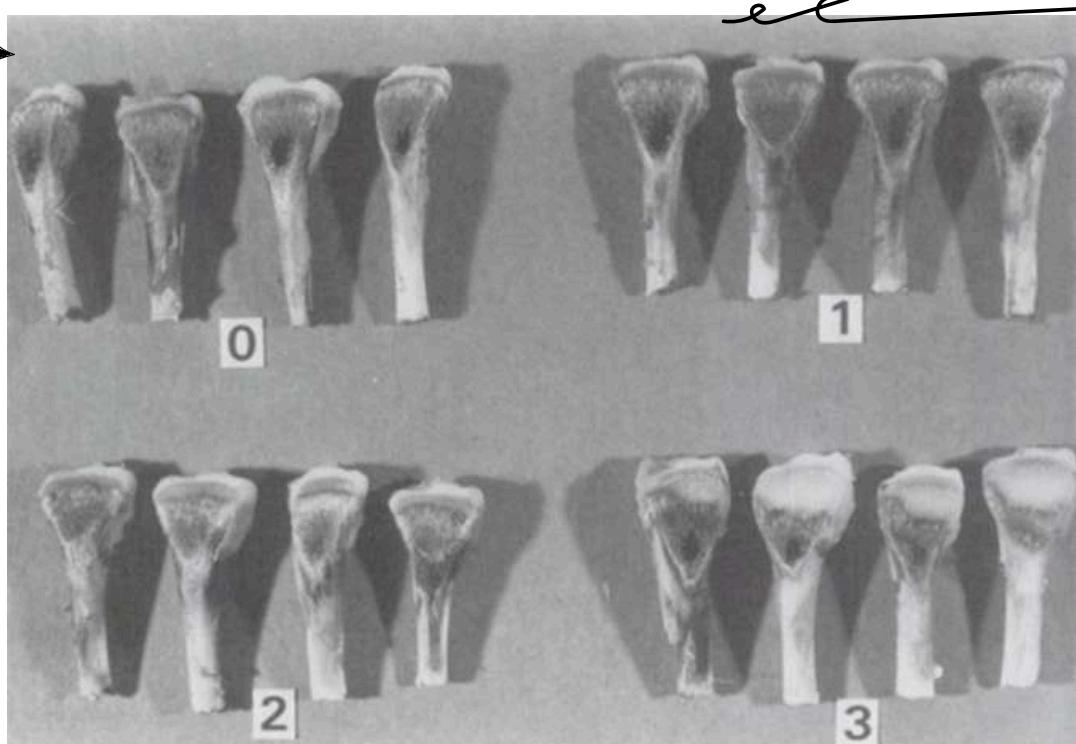
Utilizada para avaliar a pontuação de
discondroplasia tibial em frangos de corte a
partir das 3 semanas de idade

Divide-se a tibia direita
longitudinalmente



Classifica-se a lesão observando o
estado da cartilagem articular

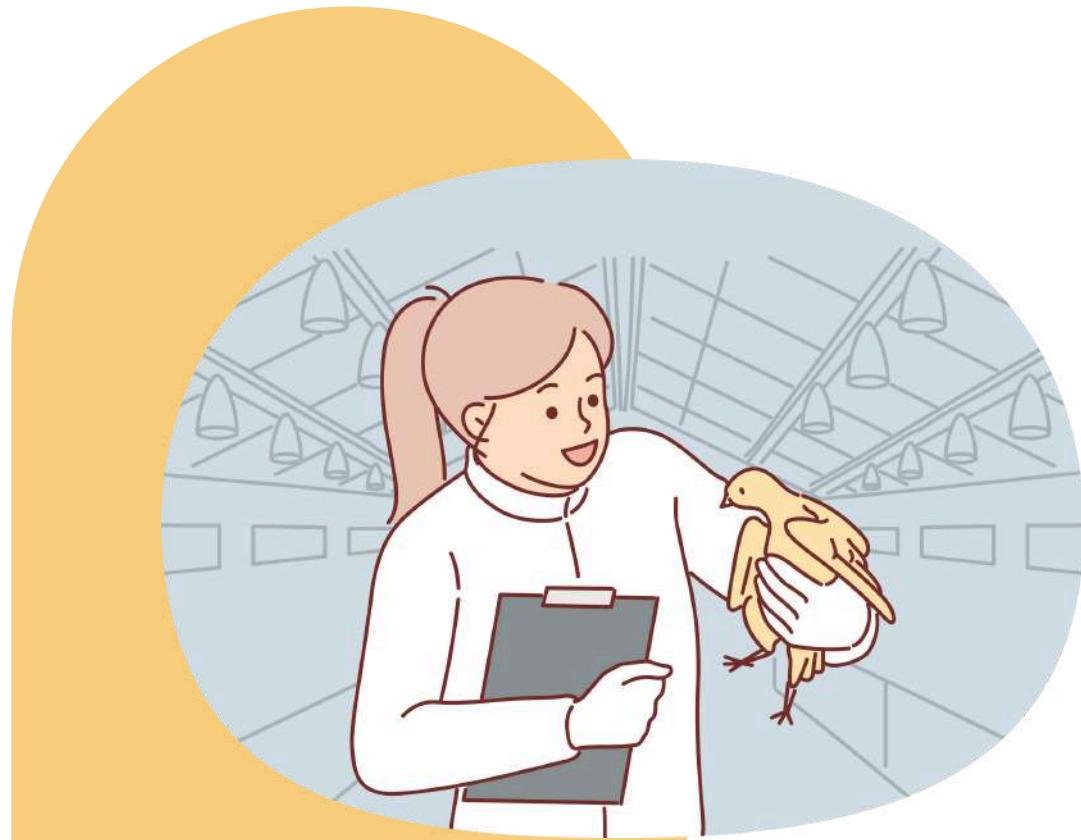
- **Escore 0: normal** (cartilagem estreita e poucas irregularidades)
- **Escore 1: DT leve** (cartilagem espessada ou com irregularidades consideráveis)
- **Escore 2: DT intermediária** (cartilagem espessa; porção pré- hipertrófica não calcificada e nem vascularizada; irregularidades severas aparentes)
- **Escore 3: DT grave** (grande massa de cartilagem na tibia proximal)



Edwards e Veltmann (1983)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os distúrbios que atingem o sistema locomotor têm causado problemas no conforto, saúde e eficiência produtiva de frangos de corte, gerando impactos econômicos para o setor e de bem-estar para as aves. Essas perdas são devido ao aumento da mortalidade no campo e às condenações durante o processamento da carcaça. Tais doenças são causadas por múltiplos fatores, como sexo, idade, linhagem, densidade populacional, manejo ambiental, nutrição e microrganismos. Porém, a genética/taxa de crescimento tem sido um dos maiores contribuintes, visto que o melhoramento genético ao longo dos anos privilegiou o crescimento muscular acelerado, mas o ósseo não seguiu a mesma tendência. Além disso, como o desenvolvimento do esqueleto se inicia na embriogênese, os fatores físicos utilizados durante a incubação, principalmente a temperatura, também têm participação direta no surgimento dessas enfermidades. Para minimizar esses danos torna-se necessário compreender esses fatores causadores, aprimorar o conhecimento e ajudar na elaboração de estratégias que as previnam.



REFERÊNCIAS

- ABBASABADI, B. M.; GOLSHAH, H.; SEIFI, S. Pathomorphological investigation of spondylolisthesis lead to spondylosis in commercial broiler chicken with posterior paralysis: A case study. *Veterinary Research Forum*, v. 12, n. 2, p. 263 – 265, 2021.
- AKYÜZ, H. C.; ONBAŞILAR, E. E. Non-infectious skeletal disorders in broilers, *World's Poultry Science Journal*, v.76, n.3, p.611-623, 2020.
- ALMEIDA PAZ, I. C. L.; MENDES, A. A.; MARTINS, M. R. F. B.; FERNANDES, B. C. S.; ALMEIDA, I. C. L.; MILBRADT, E. L.; BALOG, A.; KOMIYAMA, C. M. Follow-up of the Development of Femoral Degeneration Lesions in Broilers. *International Journal of Morphology*, v.27, n.2, p.571-575, 2009.
- APPLEGATE, T. J.; M. S. LILBURN. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry Science*. v. 8, p. 1289–1294, 2002.
- AKYÜZ, H. C.; ONBAŞILAR, E. E. Non-infectious skeletal disorders in broilers, *World's Poultry Science Journal*, v.76, n.3, p.611-623, 2020.
- BASSLER, A.W.; ARNOULD, C.; BUTTERWORTH, A.; COLIN, L.; DE JONG, I. C.; FERRANTE, V. Potential risk factors associated with contact dermatitis, lameness, negative emotional state, and fear of humans in broiler chicken flocks. *Poultry Science*, v.92, p.2811-2826, 2013.
- BERENDSEN, A., OLSEN, B.R. Bone development. *Bone*, v.80, p.14-18, 2015.
- BERG, C.; SANOTRA, G. Can a modified Latency-to-Lie test be used to validate gait-scoring results in commercial broiler flocks? *Animal Welfare*, v. 12, n. 4, p. 655-659, 2003.
- BILGILI, S. F.; HESS, J. B.; BLAKE, J. P.; MACKLIN, K. S.; SAENMAHAYAK, B.; SIBLEY, J. L. Influence of bedding material on foot pad dermatitis in broiler chickens. *Journal Applied Poultry Research*, v. 18, p. 583-589, 2009.
- BISHOP. S. C.; FLEMING, R.H.; MCCORMACK, H.A.; FLOCK D.K.; WHITEHEAD, C.C. Inheritance of bone characteristics affecting osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*, v.43, p.33–40, 2000.
- BORST, L. B.; SUYEMOTO, M. M.; SARSOUR, A. H.; HARRIS, M. C.; MARTIN, M. P.; STRICKLAND, J. D.; OVIEDO, E. O.; BARNES, H. J. Pathogenesis of Enterococcal Spondylitis Caused by *Enterococcus cecorum* in Broiler Chickens. *Veterinary Pathology*, v. 54, n.1, p. 61-73, 2017.
- BRADSHAW, R. H.; KIRKDEN, R. D.; BROOM, D. M. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broilers in relation to welfare. *Avian Poultry Biology Reviews*, v. 13, p. 45-103, 2002.
- BUTTERWORTH, A. Infectious lameness: components of broiler a review. *World's Poultry Science Journal*, v. 55, 1999.

REFERÊNCIAS

- CAI, C.; ZHANG, L.; LIU, X.; LI, J.; MA, Y.; JIANG, R.; LI, Z.; LI, G.; TIAN, Y.; KANG, X.; HAN, R. Carcass composition, meat quality, leg muscle status, and its mRNA expression profile in broilers affected by valgus-varus deformity. *Poultry Science*, v.102, 2023.
- CAO, Q.; KONG, A.; TAO, K.; ZHENG, S.; TONG, C.; WANG, X.; TONG, Z.; REHMAN, M. U.; HUANG, S. Characterization of growth performance, meat quality and serum biochemical parameters in chickens suffering from tibial dyschondroplasia. *Livestock Science*, v. 233, 2020.
- CLARKE, B. Normal Bone Anatomy and Physiology. Clinical Journal American Society Nephrology, v. 3, p.131–139, 2008.
- COOK, M. E. Skeletal Deformities and Their Causes: Introduction. *Poultry Science*, v. 79, p. 982-984, 2000.
- COUCH, J. R. Cage layer fatigue. *Feed Age*, v.5, p.55–57, 1955.
- CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L. Noninfectious diseases: Developmental, Metabolic, and Other Noninfectious Disorders. In: SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*, 12th Ed., Ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa. p.1160–1162. 2008.
- CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L. Developmental, Metabolic, and Other Noninfectious Disorders. In: SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*, 13th Ed., Ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa. p.1160–1162. 2017.
- DA COSTA, M. J.; EVIEDO-RONDÓN, E. O.; WINELAND, M. J.; WILSON, J.; MONTIEL, E. Effects of breeder feeding restriction programs and incubation temperatures on progeny footpad development. *Poultry Science*, v.93, p.1900–1909, 2014.
- DIBNER, J. J., RICHARDS J. D., KITCHELL M. L.; QUEIROZ M. A. Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research*. v. 16, p. 126–137, 2007.
- DINEV, I. Pathomorphological investigations on the incidence of clinical spondylolisthesis (kinky back) in different commercial broiler strains. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v.163, n.11, p.511–515, 2012.
- DINEV, I. Axial skeleton pathology in broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, v. 70, 2014.
- DINEV, I.; KANAKOV, D.; KALKANOV, I.; NIKOLOV, S.; DENEV, S. Comparative Pathomorphologic Studies on the Incidence of Fractures Associated with Leg Skeletal Pathology in Commercial Broiler Chickens. *Avian Disease*, v. 63, n.4, p.641–650, 2019.
- DURAIRAJ, V.; OKIMOTO, R.; RASAPUTRA, K.; CLARK, F. D.; RATH, N. C. Histopathology and serum clinical chemistry evaluation of broilers with femoral head separation disorder. *Avian Disease*, v.53, p.21–25, 2009.

REFERÊNCIAS

- EDWARDS, H. M.; VELTMANN, J. R. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in Young chicks. *The Journal of Nutrition*, v. 113, n. 8, p. 1568–1575, 1983.
- EKSTRAND, C.; ALGERS, B.; SVEDBERG, J. Rearing conditions and foot-pad dermatitis in Swedish broiler chickens. *Preventive Veterinary Medicine*, v.31, p.167–174, 1997.
- EKSTRAND, C.; CARPENTER, T. E.; ANDERSON, I.; ALGERS, B. Prevalence and control of foot-pad dermatitis in broilers in Sweden. *British Poultry Science*, v.39, p.318–324, 1998.
- FARQUHARSON, C.; JEFFERIES, D. Chondrocytes and Longitudinal Bone Growth: The Development of Tibial Dyschondroplasia. *Poultry Science*, v. 79, p. 994–1004, 2000.
- FAWC (Farm Animal Welfare Council). Farm Animal Welfare in Great Britain: Past, Present and Future. 57 pp. 1996. Disponível em: <http://www.fawc.org.uk/REPORTS.HTML>
- FLEMING, R. H; MCCORMACK, H. A.; MCTEIR, L.; WHITEHEAD, C. C. Relationships between genetic, environmental and nutritional factors influencing osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*, v.47, p.742–755, 2006.
- FLEMING, R. H. Nutritional factors affecting poultry bone health. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.67, p.177–183, 2008.
- GENIN, O.; HASDAI, A.; SHINDER, D.; PINES, M. Hypoxia, Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α), and Heat-Shock Proteins in Tibial Dyschondroplasia. *Poultry Science*, v.87, p.1556–1564 , 2008.
- GREENE, J. A.; MCCRACKEN, R. M.; EVANS, R. T. A contact dermatitis of broilers -clinical and pathological findings. *Avian Pathology*, v.14, n.1, p.23–38, 1985.
- GROVES, P. J.; MUIR, W. I. INCUBATION CAN AFFECT BROILER LEG STRENGTH. *Australian Poultry Science Symposium*, 2011.
- GROVES, P. J.; MUIR, W. I. Earlier hatching time predisposes Cobb broiler chickens to tibial dyschondroplasia. *Animal*, v.11, n.1, p.112–120, 2017.
- GUO, Y.; TANG, H.; WANG, X.; LI, W.; WANG, Y.; YAN, F.; KANG, X.; LI, Z.; HAN, R. Clinical assessment of growth performance, bone morphometry, bone quality, and serum indicators in broilers affected by valgus-varus deformity. *Poultry Science*, v.98, p.4433–4440, 2019.
- GÜZ, B. C. Healthy bones for broiler chickens. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Graduate School of Wageningen Institute of Animal Sciences (WIAS). Wageningen, p. 326, 2022.
- HAMMOND, C. L.; SIMBI, B. H.; STICKLAND, N. C. In-ovo temperature manipulation influences embryonic motility and growth of limb tissues in the chick (*Gallus domesticus*). *The Journal of Experimental Biology*, v. 210, p. 2667–2675, 2007.
- HARGEST, T.; LEACH, R. M.; GAY, C. V. Avian Tibial Dyschondroplasia. *Journal Series of the Pennsylvania Agricultural Experiment Station*, p. 175–190, 1985.

REFERÊNCIAS

- HUANG, S.; REHMAN, M. U.; LAN, Y.; QIU, G.; ZHANG, H.; IQBAL, M. K.; LUO, H.; MEHMOOD, K.; ZHANG, L.; LI, J. Tibial dyschondroplasia is highly associated with suppression of tibial angiogenesis through regulating the HIF-1 α /VEGF/ VEGFR signaling pathway in chickens. *Scientific REPOrTS*, v.7, 2019.
- HUFF, W. E.; HUFF, G. R.; CLARK, F. D.; MOORE JR, P. A.; RATH, N. C.; BALOG, J. M.; BARNES, D. M.; ERF, G. F.; BEERS, K. W. Research on the Probable Cause of an Outbreak of Field Rickets in Turkeys. *Poultry Science*, v.78, p.1699–1702 , 1999.
- IPEK; A.; SOZCU, A. The effects of egg-shell temperature fluctuations during incubation on welfare status and gait score of broilers. *Poultry Science*, v.95, p.1296–1303, 2016.
- ITAKURA, C.; TAKECJI, M.; MIYAKAWA, Y.; GOTO, M. Pathology of naturally occurring vitamin D3-deficient rickets in growing broiler chickens in Japan. *Nippon Juigaku Zasshi*, v.41, p. 517–530, 1979.
- JACOB, F. G.; BARACHO, M. S.; NÄÄS, I. A.; SALGADO, D. A.; SOUZA, R. Incidence of Pododermatitis in Broiler Reared under Two Types of Environment. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.18, n.2, p.247–254, 2016.
- JANDE, S.S.; DICKSON, I.R. Comparative histological study of the effects of high calcium diet and vitamin D supplements on epiphiseal plates of vitamin-Ddeficient chicks. *Acta Anatomica*, v.108, p.463–468, 1980.
- JONES, R. C. Reovirus infections. In: SAIF, Y. M. *Diseases of poultry*. 13th ed. Elsevier, 2008.
- JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C. *Pathology of Domestic Animals*. Academic Press, New York, NY. 1970.
- JONG, I. C.; HARN, J.; GUNNINK, H.; HINDLE, V. A.; LOURENS, A. Footpad dermatitis in Dutch broiler flocks: Prevalence and factors of influence. *Poultry Science*, v.91, p.1569–1574, 2012.
- JULIAN, R. J. Valgus-varus deformity of the intertarsal joint in broiler chickens. *Canadian Veterinary Journal*, v.25, p. 254–258, 1984.
- JULIAN, R. J. Rapid Growth Problems: Ascites and Skeletal Deformities in Broilers. *Poultry Science*, v.77, p.1773–1780, 1998.
- KAPELL, D.N.R.G.; HILL, W. G.; NEETESON, A.M.; MCADAM, J.; KOERHUIS, A.N.M.; AVENDANO, S. Twenty-five years of selection for improved leg health in purebred broiler lines and underlying genetic parameters. *Poultry Science*, v. 91, n.12, p. 3032–3043, 2012.
- 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.
- KLASING, K.C. Nutritional diseases. In: SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*, 13th Ed., Ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa. P.1160–1162. 2017.
- KNOWLES, T. G.; KESTIN, S. C.; HASLAM, S. M.; BROWN, S. N.; GREEN, L. E.; BUTTERWORTH, A.; POPE, S. J.; PFEIFFER, D.; NICOL, C. J. Leg Disorders in Broiler Chickens: Prevalence, Risk Factors and Prevention. *PLoS ONE*, v. 3, n. 2, 2008.

REFERÊNCIAS

- KORSAK, N.; MARLIER, D.; MATHIEU, F.; MEULEMANS, G.; HORNICK, J. L.; ISTASSE, L.; FIASSE, T.; CORNETA, P.; THEWIS, A.; VINDEVOGEL, H. A description of chondrodystrophy in 3 poultry units producing labelled chickens. *Annales de Médecine Vétérinaire*, v. 144, n. 6, p. 415–420, 2000.
- LACEY, D. L.; HUFFER, W. E. Studies on the pathogenesis of avian rickets. I. Changes in epiphyseal and metaphyseal vessels in hypocalcemic and hypophosphatemic rickets. *American Journal of Pathology*, v.109, p. 288–301, 1982.
- LEACH JR, R. M.; NESHEIM, M. C. Nutritional genetic and morphological studies of an abnormal cartilage formation in young chicks. *Journal of Nutrition*, v.86, p.236–244, 1965.
- LEACH JR, R. M.; MONSNEGO-ORNAN, E. Tibial Dyschondroplasia 40 Years Later. *Poultry Science*, v.86, p. 2053–2058, 2007 JULIAN, R. J. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry – A review. *The Veterinary Journal*, v.169, p. 350–369, 2005.
- LETERRIER, C.; NYS, Y. Clinical and anatomical differences in varus and valgus deformities of chick limbs suggest different aetio-pathogenesis. *Avian Pathology*, v.21, p.429–442, 1992.
- LEY, D. H.; MARUSAK, R. A.; VIVAS, E. J.; BARNES, H. J.; FLETCHER, O. J. *Mycoplasma iowae* associated with chondrodystrophy in commercial turkeys. *Avian Pathology*, v. 39, n.2, p. 87–93, 2010.
- LI, P. F.; ZHOU, Z. L.; SHI, C. Y.; HOU, J. F. Downregulation of basic fibroblast growth factor is associated with femoral head necrosis in broilers. *Poultry Science*, v.94, p.1052–1059, 2015.
- LILBURN, M. S. Skeletal Growth of Commercial Poultry Species. *Poultry Science*, v.73, p.897–903, 1994.
- LIU, K.; WANG, K.; WANG, L.; ZHOU, Z. Changes of lipid and bone metabolism in broilers with spontaneous femoral head necrosis. *Poultry Science*, v.100, 2021.
- MARTINS, J. M. S.; SANTOS NETO, L. D.; NOLETO-MENDONÇA, R. A.; CARVALHO, G. B.; SGAVIOLI, S.; CARVALHO, F. B.; LEANDRO, N. S. M.; CAFÉ, M. B. Dietary supplementation with glycosaminoglycans reduces locomotor problems in broiler chickens. *Poultry Science*, v.99, p.6974–6982, 2020.
- MCNAMEE, P. T.; SMYTH, J. A. Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis ('femoral head necrosis') of broiler chickens: a review. *Avian Pathology*, v.29, n.4, p. 253–270, 2000.
- MENDONÇA JÚNIOR, C. X.; FURLAN, R. L.; AMOROSO, L.; ALMEIDA, E. A. Fisiopatologia do sistema locomotor. In: ANDREATTI FILHO, R. L.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; BACK, A. FABIO, J.; ZUANAZE, M. A. F. Doenças das aves. 3 ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, p. 245–267, 2020.
- NCC – National Chicken Council. National chicken council animal welfare guidelines and audit checklist. 15th ed. Washington, 2010.
- NICKS, K. M.; FOWLER, T. W.; GADDY, D. Reproductive Ho
SHEPHERD, E. M.; FAIRCHILD, B. D. Footpad dermatitis in poultry. *Poultry Science*, v.89, p.2043–2051. 2010.

REFERÊNCIAS

NICOL, C. J. Welfare issues in commercial broiler production. *Poultry Development Review*, Roma, Italy: FAO; p. 117–118, 2013.

ORTH, M. W.; COOK, M. E. Avian Tibial Dyschondroplasia: A Morphological and Biochemical Review of the Growth Plate Lesion and Its Causes. *Veterinary Pathology*, v.31, p.403–414, 1994.

OSBALDISTON, G. W.; WISE, D. R. Spondylolisthesis and leg weakness in chicken: A common aetiology. *Veterinary Record*, v.80, p.320–322, 1967.

OVIEDO-RONDÓN, E. O., J. SMALL, M. J. WINELAND, V. L. CHRISTENSEN, J. L. GRIMES, S. V. L. FUNDERBURK, D. T. ORT; K. M. MANN. Effects of incubator temperature and oxygen concentration during the plateau stage of oxygen consumption on turkey embryo long bone development. *Poultry Science*. v. 87, p. 1484–1492, 2008.

OVIEDO-RONDÓN, E. O.; WINELAND, M. J.; FUNDERBURK, S.; SMALL, J.; CUTCHIN, H.; MANN, M. Incubation conditions affect leg health in large, high-yield broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, v.18, p. 640– 646, 2009a.

OZNURLU, Y., E. SUR, T. OZAYDIN, I. CELIK; D. ULUISIK. Histological and histochemical evaluations on the effects of high incubation temperature on the embryonic development of tibial growth plate in broiler chickens. *Microscopy Research and Technique*, v. 79, p. 106–110, 2016.

PACKIALAKSHMI, B.; RATH, N.C.; HUFF, W.E.; HUFF, G.R.; Poultry Femoral Head Separation and Necrosis: A Review. *Avian Disease*, v.59, n.3, p. 349–354, 2015.

PELICIA, K.; APARECIDO JR, I. M.; GARCIA, E. A.; MOLINO, A. B.; SANTOS, G. C.; BERTO, D. A.; VIEIRA FILHO, J. A.; MURAKAMI, E. S. M.; MONTENEGRO, A. T.; SILVA, A. M. Evaluation of a Radiographic Method to Detect Tibial Dyschondroplasia Lesions in Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.14, n.2, p. 71–158, 2012.

PINES, M.; HASDAI, A.; MONSONEGO-ORNAN, E. Tibial dyschondroplasia – tools, new insights and future prospects. *World's Poultry Science Journal*, v. 61, 2005.

PINES, M.; RESHEF, R. Poultry bone development and bone disorders. In: Sturkie's Avian Physiology, Elsevier Inc., 2015.

PIZAURO JUNIOR, J. M.; SANTOS, L. F. J.; GONÇALVES, A. M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. Fisiologia das aves comerciais. Jaboticabal: Funep, p. 492–513. 2017a.

RANDALL, C. J.; MILLS, C. P. J. Observations on leg deformity in broilers with particular reference to the intertarsal joint. *Avian Pathology*, v.10, p.407–431, 1981.

REFERÊNCIAS

- RATH, N. C.; BALOG, J. M.; HUFF, G. R; KULKARNI, G. B.; TIERCE, J. F. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- and seventy-two-ween-old male and female broiler breeder chickens. *Poultry Science*, v. 78, p. 1232–1239, 2000.
- SELLERS, H. S. Current limitations in control of viral arthritis and tenosynovitis caused by avian reoviruses in commercial poultry. *Veterinary Microbiology*, v. 2016, p. 152–156, 2017.
- SHIM, M. Y.; PESTI, G. M. Effects of incubation temperature on the bone development of broilers. *Poultry Science*, v.90, p.1867–1877, 2011.
- SHIM, M. Y.; KARNUAH, A. B.; ANTHONY, N. B.; PESTI, G. M.; AGGREY, S. E. The effects of broiler chicken growth rate on valgus, varus, and tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, v. 91, p. 62–65, 2012a.
- SIEGEL, P. B.; BARGER, K.; SIEWERDT , F. Limb Health in Broiler Breeding: History Using Genetics to Improve Welfare. *Journal of Applied Poultry Research*, V. 28, n.4, p.785–790, 2019.
- SPARKE, A. J.; SIMS, T. J.; AVERY, N. C.; BAILEY, A. J.; FLEMING, R. H.; WHITEHEAD, C. C. Differences in composition of avian bone collagen following genetic selection for resistance to osteoporosis. *British Poultry Science*, v.43, n.1, p. 127–134, 2002.
- SUCHÝ, P.; STRAKOVÁ, E.; HERZIG, I.; STEINHAUSER, L.; KRÁLIK, G.; ZAPLETAL, D. Chemical composition of bone tissue in broiler chickens intended for slaughter. *Czech Journal of Animal Science*, v.54, n.7, p. 324–330, 2009.
- SULLIVAN, T. W. Skeletal Problems in Poultry: Estimated Annual Cost and Descriptions. *Poultry Science*, v.73, p.879–882, 1994.
- SZAFRANIEC, G. M.; SZELESZCZUK, P.; DOLKA, B. Review on skeletal disorders caused by *Staphylococcus* spp. in poultry. *Veterinary Quarterly*, v.42, n.1, p.21–40, 2022.
- TAHAMTANI, F. M., HERSKIN, M. S., FOLDAGER, L., MURRELL, J., SANDERCOCK, D. A.; RIBER, A. B. Assessment of mobility and pain in broiler chickens with identifiable gait defects. *Applied Animal Behaviour Science*, v.234, 2021.
- THORP, B. H. Skeletal disorders in the fowl: a review. *Avian Pathology*, v. 23, p. 203–236, 1994.
- VAN DER HEIDE, L. Viral arthritis/tenosynovitis: A review. *Avian Pathology*, v.6, n.4, p. 271–284, 1977.
- VAN DER POL, C. W. Bringing Eggs and Bones to Light Affecting Leg Bone Development in Broiler Chickens Through Perinatal Lighting Schedules. Wageningen, Netherlands: Wageningen University and Research. 2017.
- WEEKS, C. A.; KNOWLES, T. G.; GORDON, R. G.; KERR, A. E.; PEYTON, S. T.; TILBROOK, N. T. New method for objectively assessing lameness in broiler chickens. *Veterinary Record*,v.151,p.762–764, 2002.

REFERÊNCIAS

- WHITEHEAD, C. C. Dyschondroplasia in poultry. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.56, p. 957-966, 1997.
- WHITEHEAD, C.C. & FLEMING, R.H. Osteoporosis in cage layers. *Poultry Science*, v.79, p. 1033-1041, 2000.
- WHITEHEAD, C. C.; MCCORMACK, H. A.; MCTEIR, L.; FLEMING, R. H. High vitamin D3 requirements in broilers for bone quality and prevention of tibial dyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitamin A. *British Poultry Science*, v.45, n.3, p.425-436, 2004.
- WIDEMAN JR, R. F. Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis and lameness in broilers: a review. *Poultry Science*, v.95, p.325-344, 2016.
- WIJESURENDRA, D. S.; CHAMINGS, A. N.; BUSHELL, R. N.; O'ROURKE, D.; STEVENSON, M.; MARENDA, M. S.; NOORMOHAMMADI, A. H.; STENT, A. Pathological and microbiological investigations into cases of bacterial chondronecrosis and osteomyelitis in broiler poultry. *Avian Pathology*, v.46, n.6, p.683-694, 2017.
- WILCOX, C. S.; PATTERSON, J.; CHENG, H. W. Use of thermography to screen for subclinical bumblefoot in poultry. *Poultry Science*, v. 88, p. 1176-1180, 2009.
- WISE, D.R., A.R. JENNINGS, and D.E. BOSTOCK. Perosis in turkeys. *Research Veterinary Science*, v.14, p. 167-172, 1973.
- WISE, D. R. Skeletal abnormalities in table poultry - A review. *Avian Pathology*, v.4, n.1, p. 1-10, 1975.
- WOLBACH, S.B.; HEGSTED, D.M. Perosis. Epiphyseal cartilage in choline and managnese deficiencies in the chick. *Archives Pathology*, v.56, p. 437-453, 1953.
- YALÇIN, S.; MOLAYOGLU, H. B.; BAKA, M.; GENIN, O.; PINES, M. Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the Incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, v.86, p.1772-1783, 2007.
- YU, Y.; WANG, S.; ZHOU, Z. Cartilage Homeostasis Affects Femoral Head Necrosis Induced by Methylprednisolone in Broilers. *International Journal of Molecular Sciences*, v.21, 2020.
- ZHANG, M.; SHI, C. Y.; ZHOU, Z. L.; HOU, J. F. Bone characteristics, histopathology, and chondrocyte apoptosis in femoral head necrosis induced by glucocorticoid in broilers. *Poultry Science*, v.96, p.1609-1614, 2017.
- ZHANG, H.; WANG, Y.; MEHMOOD, K.; CHAND, Y.; TANG, Z.; LI, Y. Treatment of tibial dyschondroplasia with traditional Chinese medicines: "Lesson and future directions". *Poultry Science*, v. 99, p. 6422-6433, 2020.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - EMEVZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Doutoranda: Nayana Borges das Mercês
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanessa Michalsky Barbosa
Co-orientador: Marcos Barcellos Café
Colaboradora: Lia Muniz Barretto Fernandes

Salvador/BA
2024