



ANDRÉ NEVES MAYER

**GRANULOMETRIAS DO CALCÁRIO
CALCÍTICO E REDUÇÃO DO CÁLCIO
DIETÉTICO PARA FRANGOS DE CORTE**

LAVRAS – MG

2014

ANDRÉ NEVES MAYER

**GRANULOMETRIAS DO CALCÁRIO CALCÍTICO E REDUÇÃO DO
CÁLCIO DIETÉTICO PARA FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Antônio Gilberto Bertechini

LAVRAS – MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Mayer, André Neves.

Granulometrias do calcário calcítico e redução do cálcio
dietético para frangos de corte / André Neves Mayer. – Lavras :
UFLA, 2014.

95 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Antônio Gilberto Bertechini.

Bibliografia.

1. Avicultura. 2. Desempenho. 3. Retenção de cálcio. 4.
Qualidade óssea. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.513

ANDRÉ NEVES MAYER

**GRANULOMETRIAS DO CALCÁRIO CALCÍTICO E REDUÇÃO DO
CÁLCIO DIETÉTICO PARA FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de março de 2014.

Dr. Édison José Fassani UFLA

Dr. Adriano Geraldo IFMG/BAMBUÍ

Dr. Márcio Gilberto Zangerônimo UFLA

Dr. Antônio Gilberto Bertechini
Orientador

LAVRAS – MG

2014

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência.

Ao professor Dr. Antônio Gilberto Bertechini pela orientação, paciência, dedicação e ensinamentos que foram de grande relevância para a realização deste trabalho e meu crescimento profissional, e principalmente, pela amizade.

Ao professor Dr. Alex Maiorka, pela orientação durante a graduação e pela grande contribuição para minha formação, possibilitando meu ingresso no mestrado, agradeço imensamente o apoio e a amizade.

Aos professores Dr. Édison José Fassani e Dr. Paulo Borges Rodrigues, pela coorientação.

Aos meus pais, Werner Alberto Mayer e Marlene de Fátima Neves, por estarem ao meu lado, incentivando, ensinando e apoiando os meus passos desde sempre, e principalmente, pelo amor e carinho.

Aos meus irmãos, Sílvia e Dudu, pela amizade, união e carinho que temos uns pelos outros.

A minha namorada Tânia, pela paciência, carinho e amor.

A todos os colegas do Núcleo de Estudos em Ciência e Tecnologia Avícola (NECTA), que contribuíram muito para a execução desse trabalho.

Aos colegas de república, Samuel Prosa e Ricardo Istalone, pelo companheirismo.

Deixo um grande abraço para Nídia, Levy, Letícia, Vanessa, Bruno Mãozinha, Gustavo Bolívia e Lucas Zangue. Grandes amigos que tive a oportunidade de conhecer durante o mestrado.

*“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios.
Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente,
antes que as cortinas se fechem e a peça termine sem aplausos.”*

Charles Chaplin

RESUMO

A formulação de dietas para frangos de corte envolve o conhecimento das características dos ingredientes e das exigências nutricionais das aves. O fato de um ingrediente conter um determinado nutriente não garante que o mesmo esteja disponível para digestão e absorção. O tamanho de partícula dos ingredientes após moagem é um dos fatores que mais afeta a digestibilidade. Alterações na taxa de passagem, na superfície de contato com enzimas digestivas e na solubilidade são consequências do tamanho de partícula. Objetivou-se com este trabalho avaliar a associação de granulometrias do calcário calcítico com níveis de cálcio em dietas para frangos de corte. Foram realizados dois experimentos: um de desempenho e outro de metabolismo. O ensaio de desempenho teve duração de 42 dias, em que foram utilizados 1.200 pintos de corte Cobb-500®, machos, distribuídos em 48 parcelas experimentais de 25 aves. O delineamento estatístico foi em blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial 4 x 2 composto por quatro granulometrias do calcário calcítico (126, 163, 466 e 933 μ m) e dois níveis de cálcio (80 e 100% da exigência), totalizando oito tratamentos com seis repetições. No ensaio de metabolismo, foram utilizadas 240 aves com 14 dias de idade, distribuídas em 48 parcelas com cinco aves por unidade experimental. Os tratamentos foram os mesmos utilizados no ensaio de desempenho distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado. O período experimental foi de sete dias, sendo três para coleta total de excretas. As dietas contendo calcário de 933 μ m resultaram em menor consumo de ração até os 21 dias de idade ($p < 0,05$), no entanto, a partir dos 35 dias o consumo de ração foi equiparado para todas as granulometrias avaliadas. As aves que receberam o calcário de 933 μ m também tiveram menor ganho de peso até os 21 dias quando comparadas às aves que receberam as granulometrias mais finas. A redução em 20% do nível de cálcio da dieta diminuiu o ganho de peso e aumentou a conversão alimentar das aves nas fases: inicial, crescimento e final ($p < 0,05$). A densidade e a resistência óssea foram prejudicadas à medida que aumentou a granulometria do calcário, já a redução do nível de cálcio da dieta prejudicou somente a resistência óssea. Concluiu-se que a utilização de calcários com tamanho de partícula até 466 μ m atende as necessidades nutricionais de frangos de corte sem prejudicar o desempenho e qualidade óssea das aves.

Palavras-chave: Avicultura. Desempenho. Retenção de cálcio. Qualidade óssea.

ABSTRACT

The formulation of diets for broiler chicken involves the knowledge of the characteristics of the ingredients and of the nutritional demands of the birds. The fact on an ingredient presenting certain nutrient does not guarantee that the same be available for digestion and absorption. The size of the particle of the ingredients after grounding is one of the factors that most affect digestibility. Changes in the passage rate, on the surface of contact with digestive enzymes and on the solubility are consequences of the particle size. The objective in this work was to evaluate the association of particle size of the limestone with calcium levels in diets for broiler chicken. Two experiments were conducted: one of performance and another of metabolism. The performance trial was conducted for a period of 42 days, in which 1200 Cobb-500[®] male broiler chicks were used, distributed into 48 experimental plots of 25 birds. The statistical design was in randomized blocks (RBD) in a 4x2 factorial scheme comprised by four particle sizes of the limestone (126, 163, 466 and 933 μm) and two levels of calcium (80 and 100% of the demand), totalizing eight treatments with six replicates. In the metabolism trial, 240 birds with 14 days of age were used, distributed into 48 plots with five birds per experimental unit. The treatments were the same used in the performance trial, distributed in a completely randomized design. The experimental period was of seven days, with three for total collection of the excreta. The diets containing limestone of 933 μm resulted in lower ration intake up to 21 days of age ($p < 0.05$), however, starting at 35 days, ration intake was equated for all evaluated particle sizes. The birds receiving 933 μm limestone also presented lower weight gain up to 21 days when compared to the birds that received smaller particle sizes. The reduction in 20% of the level of calcium in the diet decreased the weight gain and increased food conversion of birds in the phases: initial, growth and final ($p < 0.05$). Bone density and resistance were impaired as the limestone particle size increased, while the reduction in the level of calcium in the diet impaired only bone resistance. It is concluded that the use of limestone with particle sizes up to 466 μm meet the nutritional needs of broiler chicken without impairing performance and bone quality.

Keywords: Poultry. Performance. Calcium retention. Bone quality.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 10
2	REFERENCIAL TEÓRICO 12
2.1	Calcário calcítico 12
2.2	Cálcio na nutrição de frangos de corte 12
2.3	Fatores que afetam a absorção de cálcio 16
2.4	Qualidade óssea 25
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS 29
	REFERÊNCIAS 30
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO 43
	ARTIGO 1 Granulometrias do calcário calcítico e redução do cálcio dietético para frangos de corte 43

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os maiores produtores de carne de frango do mundo, ocupa a terceira posição atrás da China e Estados Unidos. A produção nacional ultrapassou os 12 milhões de toneladas em 2013 (AVISITE, 2014), e foram necessários mais de 22 milhões de toneladas de ração para essa produção (SINDIRAÇÕES, 2013).

O cálcio participa, em grande fração, das dietas dos frangos de corte, sendo que pela quantidade estimada de rações produzidas, e, considerando um nível médio de 0,75% de cálcio nessas dietas, seriam necessárias 165 mil toneladas desse macromineral. Por contribuir com 1,8% das dietas de frango de corte, o gasto de calcário seria de 396 mil toneladas anuais.

Esse macromineral é um nutriente limitante para o crescimento das aves, pois atua na formação óssea, na contração muscular, na sinalização celular como segundo mensageiro entre outras funções. Aves com deficiência de cálcio apresentam raquitismo, redução do consumo de ração e menor crescimento.

Em dietas à base de cereais, sua concentração é baixa, necessitando ser suplementado na forma de calcário calcítico por exemplo. O calcário contém em torno de 38% de cálcio e é uma rocha que apresenta alta solubilidade em meio ácido. A granulometria do calcário está diretamente ligada à disponibilidade de cálcio devido à superfície de contato, quanto mais fino, maior a solubilidade do mesmo. Nesse contexto, existe um número considerável de estudos descrevendo os benefícios em fornecer calcário com maior tamanho de partícula para poedeiras comerciais e matrizes pesadas. No entanto, o melhor tamanho de partícula do calcário para frangos de corte ainda vem sendo estudado.

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho avaliar a associação de granulometrias do calcário calcítico com níveis de cálcio em dietas para frangos de corte.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Calcário calcítico

O calcário é uma rocha sedimentar composta principalmente por carbonato de cálcio e pode ser classificado de acordo com a concentração de óxido de magnésio. Calcários com níveis inferiores a 5% de MgO são denominados calcíticos, quando entre 5 e 12% magnesianos, e por fim, acima de 12% são denominados calcários dolomíticos.

O calcário calcítico apresenta cerca de 38% de cálcio sendo preferencialmente utilizado para fabricação de rações devido, além do elevado teor de cálcio, ao baixo teor de magnésio.

Após extração, o calcário calcítico é moído e dispensa qualquer tratamento antes do fornecimento aos animais.

2.2 Cálcio na nutrição de frangos de corte

De acordo com Bertechini (2012), os minerais constituem cerca de 3% do corpo, porém ainda não foram esclarecidos os processos de absorção para todos os macrominerais. O cálcio, sódio, potássio e cloro, por exemplo, têm seus mecanismos de absorção conhecidos, por outro lado, o fósforo, magnésio e enxofre ainda não foram completamente esclarecidos. De uma maneira geral, existem fatores intrínsecos ao ambiente intestinal que dificultam a absorção da maioria dos minerais, por exemplo: condições físico-químicas, pH e viscosidade.

Os minerais apresentam inúmeras funções no organismo, dentre elas, a formação do tecido conectivo, manutenção da homeostase dos fluidos orgânicos, manutenção do equilíbrio de membrana celular, ativação das reações bioquímicas por meio da ativação de sistemas enzimáticos, ação direta ou

indireta sobre glândulas endócrinas, participação no processo de absorção e transporte de substâncias, entre outras (MACARI; FURLAN; GONZALES, 2008).

O cálcio e o fósforo são os elementos mais abundantes no corpo, com 99% do cálcio e 80% do fósforo armazenados no esqueleto na forma de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (VEUM, 2010). O restante do cálcio está presente no fluido extracelular, no plasma e dentro das células e atua de maneira crucial sobre o metabolismo, coagulação sanguínea, ativação enzimática, comunicação neuromuscular, contração muscular, adesão celular e sinalização intracelular (STURKIE, 2000).

Deficiências, excessos e imbalances do cálcio e do fósforo resultam em uma cascata de mudanças, incluindo o aumento ou decréscimo da absorção desses minerais no lúmen intestinal (WEGLARZ; ANGEL, 2013). A baixa digestibilidade do fósforo de fontes vegetais ocasionou mudanças na utilização do conceito de P, saindo de fósforo total para fósforo disponível, fósforo não fítico e finalmente fósforo digestível, que melhor representa a disponibilidade do fósforo. No entanto, nenhuma mudança em direção à utilização de cálcio digestível tem sido observada.

A quantidade de cálcio e fósforo excretada depende de diversos fatores, incluindo a fonte do nutriente, o nível dietético, níveis hormonais, fase reprodutiva e pH sanguíneo. Frangos saudáveis sob condições normais de criação excretam menos de 2% do cálcio filtrado na urina, devido à ação do paratormônio como estimulante da reabsorção renal (WIDEMAN JUNIOR, 1987).

Alimentos de origem vegetal são inadequados para suprir as exigências das aves em minerais. Somente 30 a 43% do fósforo dos ingredientes vegetais estão disponíveis para aves (KLIS et al., 1997; LESKE; COON, 1999; MANAGI; COON, 2008). A suplementação de macro e microelementos é

imprescindível para avicultura moderna frente à alta produtividade e precocidade das aves. Para atender as exigências de cálcio e fósforo, fontes inorgânicas são comumente utilizadas em dietas avícolas. Porém os níveis dietéticos normalmente se apresentam muito além das necessidades reais, resultado da baixa taxa de aproveitamento com consequente poluição do ambiente pelo excesso de excreção.

Os minerais podem estar na forma livre (iônica) ou na forma quelatada quando ligados a moléculas orgânicas. Existem várias formas e funções para esses complexos. A principal consequência de o mineral estar complexado a uma molécula orgânica é a ausência de solubilidade, oposto do que ocorre em sua forma iônica. Os quelatos podem ser estáveis (hemoglobina, fitato) ou semiestáveis (complexo mineral-proteína transportadora), úteis ao organismo (vitamina B12) ou prejudiciais (oxalato) (BERTECHINI, 2012).

Há pouca informação a respeito do valor real de disponibilidade e digestibilidade do cálcio, em contrapartida as informações sobre disponibilidade relativa do cálcio nos ingredientes, assume-se que 100% do cálcio são digestíveis. Provavelmente esse valor não está correto. Estudos mostram que a disponibilidade do cálcio do milho e do farelo de soja varia de 20 a 30% e para o calcário calcítico, esse valor é de 60 a 70% (ANGEL; TAMIM, 2003; TAMIM; ANGEL; CHRISTMAN, 2004). O cálcio proveniente do milho e do farelo de soja em rações representa cerca de 0,17 a 0,21 pontos percentuais. A baixa digestibilidade do cálcio desses ingredientes tem sido desconsiderada devido à baixa representatividade (20% do cálcio total) em dietas padrões com 1,0% de cálcio. No entanto, quando se utiliza dietas com 0,6% de Ca, a fração proveniente do milho e da soja torna-se mais representativa, cerca de 33%. É importante desenvolver um sistema que utiliza a relação Ca disponível: P disponível quando se pretende alimentar frangos com níveis precisos dos nutrientes.

Baseado na informação de que grande parte do cálcio é absorvida no íleo (MARCUS; LENGEMANN, 1962), e de que o tempo de passagem da digesta pode afetar a absorção de nutrientes incluindo Ca e P (CHOCT; ANNISON, 1992), atenção especial deve ser dada aos ingredientes da dieta. Em dietas em que a maior parte de cálcio é proveniente de fontes minerais como calcário calcítico e fosfatos bicálcico, uma quantidade significativa do cálcio dietético será absorvida no duodeno e jejuno superior (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013).

Apesar do principal foco envolvendo os estudos com fitase ser o fósforo, o fitato tem papel importante na disponibilidade do cálcio, assim como o cálcio tem papel importante sobre a eficiência da fitase. A interação ácido fítico, cálcio, fósforo e fitase é altamente dinâmica. A utilização de Ca proveniente de fontes muito solúveis, como o calcário, propicia a ligação do fitato ao cálcio iônico (Ca^{2+}) que precipita na forma de fitato de cálcio, impedindo a ação da fitase (QIAN; KORNEGAY; DENBOW, 1997). Segundo McKnight (1996), níveis de Ca acima de 0,7% em pH 6,0 favorecem essa complexação.

A fitase não só reduz a necessidade de suplementação do fósforo e do cálcio, mas também de outros minerais que podem ser liberados para absorção (COWIESON; BEDFORD, 2009; RAVINDRAN; BRYDEN; KORNEGAY, 1995; SEBASTIAN et al., 1996). A matriz nutricional da fitase preconiza uma contribuição por volta de 0,12 e 0,10 pontos percentuais de P disponível e Ca respectivamente.

O desequilíbrio do cálcio e fósforo pode resultar no aumento da excreção de P, e pode haver impacto negativo sobre o meio ambiente quando a cama de frango é utilizada na adubação de solos, causando eutrofização e poluição (SHARPLEY, 1999).

Alguns fatores que afetam a disponibilidade do cálcio são: nível dietético Ca e do P; nível e tipo de vitamina D suplementada na dieta; biodisponibilidade no ingrediente; idade do animal e pH do trato

gastrointestinal. A deficiência de cálcio acarreta em crescimento retardado, deformações ósseas, raquitismo, osteomalácia, entre outros (BERTECHINI, 2012).

Devido à ampla utilização de fitase em dietas avícolas e o efeito negativo que o cálcio tem sobre a digestibilidade do fósforo fítico, assim como sobre o efeito da fitase, uma redução dos níveis de cálcio em dietas de frangos de corte tem sido proposto.

2.3 Fatores que afetam a absorção de cálcio

O cálcio da dieta pode ser transportado de forma ativa (saturável) ou passiva (não saturável) (AUCHERE et al., 1998; FUJITA et al., 2008; HOENDEROP; NILIUS; BINDELS, 2005; WASSERMAN, 2004). O transporte transcelular ativo envolve três passos: Entrada através da membrana celular (PENG; BROWN; HEDIGER, 2003), difusão pelo citoplasma (BRONNER; PANSU; STEIN, 1986) e saída pela membrana basolateral da célula (CARAFOLI, 1991). Já o transporte passivo é caracterizado pela passagem de íons do lúmen intestinal para circulação por consequência do gradiente de concentração, através do interstício ou espaço intercelular (BRONNER; PANSU, 1999; BRONNER; PANSU; STEIN, 1986). O transporte passivo de cálcio ocorre ao longo de todo o intestino delgado (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013). Em contrapartida, o transporte ativo de cálcio (vitamina D dependente) acontece principalmente no duodeno (WALLING, 1977). No entanto, devido à menor extensão do duodeno e jejuno proximal em comparação ao jejuno distal e o íleo, assim como menor tempo de permanência da digesta, essa segunda porção também contribui para absorção de cálcio (FUJITA et al., 2008).

Acreditava-se que a absorção do cálcio no íleo ocorria principalmente via paracelular (vitamina D₃ independente) sendo concentração dependente (MCCORNICK, 2002; NELLANS, 1990). No entan-

to, estudos com ratos mostraram que apesar de paracelular, o transporte é dependente da vitamina D₃ (difusão facilitada) (FUJITA et al., 2008).

O transporte ativo do cálcio pode ser regulado pela concentração dietética de cálcio (AUCHERE et al., 1998). Níveis séricos de cálcio e fósforo são controlados e mantidos em níveis fisiológicos estreitos por meio de mecanismos de *feedback* dos hormônios PTH, calcitriol (1,25-dihidroxicolecalciferol; 1,25(OH)₂D₃), calcitonina e seus respectivos receptores localizados no intestino delgado, ossos e rins (VEUM, 2010). O nível sérico total e iônico do cálcio em frangos é similar aos níveis observados em mamíferos (10mg/dL e 1.2-1.3mmol respectivamente) (DIAZ et al., 1997).

Uma dieta deficiente em cálcio ou o aumento do requerimento de cálcio resulta em decréscimo da concentração plasmática de cálcio. Essa redução do nível sérico estimula a liberação do PTH, que em resposta, promove a ativação da enzima 1-alpha-hidroxilase nos rins e a mobilização óssea de cálcio e fósforo. O aumento na síntese de 1,25(OH)₂D₃ nos rins resulta no aumento da absorção intestinal e reabsorção renal do cálcio (STURKIE, 2000).

Bar et al. (2003) relataram que frangos de linhagens de crescimento rápido (Cobb) alimentados com dietas deficientes em cálcio e fósforo, da eclosão até 11 dias de idade, foram caracterizados por uma leve hipocalcemia, aumento da atividade renal da 1-alpha-hidroxilase (enzima responsável pela ativação da vitamina D nos rins) e aumento da concentração de calbindina D-28k (proteína transportadora de Ca) no duodeno, assim como o decréscimo na quantidade de cinzas ósseas. Essas respostas do organismo possibilitam manter a calcemia dentro de níveis adequados mesmo quando o aporte de cálcio não é suficiente.

Quando a ingestão de cálcio é elevada ou mesmo adequada, o transporte passivo predomina sobre o ativo, uma vez que altos níveis de cálcio no plasma sanguíneo inibem o transporte ativo (BUCKLEY; BRONNER,

1980). Concentrações elevadas de PTH estimulam a expressão do mRNA dos receptores Ca-sensíveis (CaR) enquanto que elevados níveis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ têm efeito negativo sobre as concentrações de mRNA do PTH, reduzindo assim a concentração plasmática de PTH através de um *feedback* negativo. Juntos esses mecanismos trabalham para manter os níveis séricos de cálcio em níveis adequados (WEGLARZ; ANGEL, 2013).

A redução dos níveis séricos de cálcio depende da sua eliminação via renal e/ou incorporação na matriz óssea (juntamente com o fósforo), sendo a incorporação na matriz óssea mais significativa para o processo (BERTECHINI, 2012). As células principais da paratireoide percebem altos níveis de cálcio por meio de receptores cálcio-sensíveis (*CaR*). Ao ser ativado esse receptor libera cálcio intracelular que ativa uma protease cálcio-dependente que por sua vez cliva e inativa o PTH (JUPPNER; GARDELLA; BROWN, 2006). Os receptores cálcio-sensíveis não estão presentes somente na paratireoide, mas também no duodeno e nos rins (DIAZ et al., 1997).

As proteínas transportadoras Calbindin D-9K e D-28K são responsáveis pelo transporte transcelular no intestino e rins de mamíferos. Elas se ligam ao cálcio e transportam o mesmo da microvilosidade para a membrana basolateral da célula duodenal (GROSS; KUMAR, 1990; NEMERE et al., 1991). Em aves, ao contrário de mamíferos, a calbindin D-28k é a principal responsável pela difusão transcelular do cálcio (WASSERMAN; TAYLOR, 1966). Altos níveis de cálcio na dieta suprimem a proteína calbindina D-28k com maior intensidade ao nível de 1.5% (Ca) em frangos de corte e a 1% (Ca) em pintainhas de postura (HURWITZ et al., 1995). A redução dos níveis dietéticos de cálcio resulta em aumento da biossíntese da proteína transportadora de Ca (PTCa) ao nível de duodeno e, conseqüentemente, aumento da eficiência absorviva desse macromineral (BERTECHINI, 2012).

Ao contrário dos mamíferos, o rim das aves consegue, além de reabsorver, excretar fósforo (BIJVOET; REITSMA, 1977) sendo a reabsorção e excreção regulada pelo PTH, o qual estimula a secreção de P (SABBAGH et al., 2009). O fornecimento de dietas deficientes em fósforo leva a um aumento nos níveis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, PTCa e aumento na absorção de cálcio na mucosa do intestino assim como redução nos níveis plasmáticos de P e má formação óssea (BAR; HURWITZ; EDELSTEIN, 1975).

Nemere (1996) relata que a administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estimula o transporte de P com maior intensidade em comparação ao PTH, quando os dois hormônios foram administrados, o efeito aditivo não foi observado. A baixa concentração plasmática de P leva à síntese de vitamina D ativa ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) nos rins que, em resposta, aumenta a absorção intestinal e a reabsorção renal de P e a reabsorção óssea é ativada para manter os níveis séricos (WEGLARZ; ANGEL, 2013).

A necessidade de P dietético para a máxima retenção não é necessariamente a mesma para o máximo desempenho e resistência óssea (QUEIROZ et al., 2008). A exigência de P depende da relação Ca:P (LÉTOURNEAU-MONTMINY et al., 2010) e da interação com fitase, colecalciferol e seus metabólitos (DELEZIE; MAERTENS; HUYGHEBAERT, 2012).

O paratormônio (PTH) é sintetizado pelas células principais da glândula paratireoide como um pré-pró-hormônio com 25 aminoácidos pré-sequência e seis aminoácidos pós-sequência. Ambos os peptídeos são clivados antes da formação do PTH ativo, composto por 84 aminoácidos (JUPPNER; GARDELLA; BROWN, 2006). A ação do PTH tem início com a ligação do hormônio ao receptor de membrana (STRADER et al., 1994), sua liberação acontece em resposta ao baixo nível sérico de cálcio, predominantemente na forma de PTH(1-84). A versão curta do PTH, composta pelos 34 primeiros

aminoácidos PTH(1-34) do PTH(1-84), é a forma bioativa circulante do PTH (HOCK et al., 1997).

O PTH responde a mudanças agudas e de curto prazo nas concentrações plasmáticas de cálcio assim como nas condições de deficiência de cálcio permanentes. Nas condições de deficiência de cálcio permanente, o PTH estimula a conversão da vitamina D₃ em 1,25(OH)₂D₃, que por sua vez, aumenta a absorção intestinal de cálcio (SCHRODER; BREVES, 2007), assim como aumenta a reabsorção de Ca nos túbulos renais (FORSTER et al., 2006).

O aumento de tamanho e atividade da glândula paratireoide foi observado em frangos deficientes em vitamina D em resposta à hipocalcemia, enquanto as concentrações aumentadas de cálcio reduziram a secreção de PTH (FEINBLATT; TAI; KENNY, 1975).

A calcitonina é um peptídeo composto de 32 aminoácidos secretado pela glândula tireoide em resposta a níveis elevados de cálcio no plasma e sua expressão é regulada pela 1,25(OH)₂D₃ (NAVEH-MANY; SILVER, 1988). A calcitonina funciona como inibidor da reabsorção óssea, levando assim a um decréscimo nas concentrações plasmáticas de cálcio (MATSUDA; YAMAMOTO; HIRATA, 2006), também aumenta a secreção de Ca e P pelos rins, estimula os osteoblastos e reduz a absorção intestinal por meio da desativação da 1,25(OH)₂D₃ (BERTECHINI, 2012).

Nos ossos, o PTH junto a 1,25(OH)₂D₃ promove a mobilização do cálcio para manter as concentrações sanguíneas adequadas (DITTMER; THOMPSON, 2011). Os osteoclastos não possuem receptores para PTH, sendo assim, a reabsorção óssea ocorre indiretamente via osteoblastos. O PTH aumenta a expressão do receptor nos osteoblastos (KOUSTENI; BILEZIKIAN, 2008), em resposta, *RANKL* induz a formação, ativação e sobrevivência dos osteoclastos (células promotoras da reabsorção óssea) (LACEY et al., 1998). O aumento na

concentração de PTH acarreta na redução da reabsorção e aumento da excreção de P em frangos (WEGLARZ; ANGEL, 2013).

A vitamina D₃ é um hormônio esteroide que pode ser sintetizada a partir da isomerização da 7-des-hidroxicolesterol na pele após exposição a raios UV ou pela suplementação das vitaminas D₂ e D₃ na dieta. A vitamina D₃ é 10 vezes mais ativa que a vitamina D₂ em aves (WEGLARZ; ANGEL, 2013). Uma vez sintetizada na pele, a vitamina D₃ é ligada à proteína transportadora de vitamina D e armazenada no tecido adiposo ou no fígado (COMBS, 2008). Para se tornar ativa, a vitamina D₂ ou D₃ deve passar por uma reação de dupla hidroxilação (DUSSO; BROWN; SLATOPOLSKY, 2005). A primeira hidroxilação promovida pela enzima 25-hidroxilase acontece principalmente no fígado e resulta na formação de 25(OH)D₃. A segunda hidroxilação com formação da vitamina D₃ ativa 1,25(OH)₂D₃ ocorre nos rins por meio da enzima 1-alpha-hidroxilase (JONES; STRUGNELL; DELUCA, 1998). O papel fundamental da 1,25(OH)₂D₃ em vertebrados é controlar a homeostase do cálcio e do fósforo por ação direta no intestino, no fígado e nos rins fazendo *feedback* negativo sobre a produção de PTH nas paratireóides (PIKE et al., 2007).

A ativação da vitamina D₃ depende dos níveis plasmáticos de cálcio e fósforo. Se a concentração for baixa, a enzima renal 1-alpha-hidroxilase é ativada, e, a forma ativa da vitamina D₃ 1,25(OH)₂D₃ é sintetizada (COLLINS; NORMAN, 1991). Se a concentração de cálcio for adequada, a 25(OH)D₃ sofre hidroxilação (24-hidroxilase) ao metabólito inativo 25,24(OH)₂D₃ nos rins. A própria 1,25(OH)₂D₃ controla sua produção, inibindo a 1-alpha-hidroxilase e estimulando a 24-hidroxilase (DUSSO; BROWN; SLATOPOLSKY, 2005). Um estudo mostrou que a deficiência da vitamina D diminui o número e a atividade de receptores de PTH (FORTE et al., 1982). Russel et al. (1993) demonstraram que o cálcio e a 1,25(OH)₂D₃ podem regular a expressão do mRNA do receptor de PTH e vitamina D₃ na paratireóide.

A vitamina D também é necessária para síntese de calbindina D_{28k} em frangos (WEGLARZ; ANGEL, 2013). Frangos alimentados com dietas com baixo teor de cálcio suplementadas com vitamina D apresentaram um aumento na absorção de cálcio e na expressão da calbindina D_{28k} . Em contrapartida, frangos criados com dietas deficientes em vitamina D não apresentaram o mesmo padrão de adaptação às mudanças do nível de cálcio da dieta (SPENCER; CHARMAN; LAWSON, 1978). A administração de 1- α -(OH) $_2$ D $_3$ tem demonstrado aumento na quantidade de transportadores de cálcio ativos no duodeno de frangos (ADOEDKUN; ADEOLA, 2013).

Whitehead et al. (2004) indicaram maior exigência de vitamina D $_3$ para frangos de corte, para melhor desempenho e formação óssea, até os 14 dias de idade em comparação às fases de crescimento e final. Durante essa fase, o requerimento de vitamina D $_3$ não é somente menor, mas também sofre menos influência da relação Ca:P (dos níveis de Ca e P).

A vitamina D é usualmente suplementada na dieta como colecalciferol. Em 1995 a 25(OH)D $_3$ foi reconhecida como segura para utilização na alimentação de frangos (WARD, 1995). Esse isômero da vitamina D tem mostrado melhoras no ganho de peso, conversão alimentar, cinzas ósseas, rendimento de peito e redução da incidência de discondroplasia tibial em frangos de corte (MCNAUGHTON; DAY; DILWORTH, 1977).

A relação entre os níveis de cálcio e fósforo influencia a digestão e absorção dos mesmos. Dependendo da relação, diferentes respostas fisiológicas podem ser desencadeadas (ADODEKUN; ADEOLA, 2013). O NCR de 1984 surgiu com as recomendações de P disponível assim como seus níveis nos ingredientes, sendo a recomendação de 2.22 a 2.28 (Ca:Pdisp), em 1994, o termo fósforo não fítico foi utilizado, porém as recomendações não alteraram (NATIONAL COUNCIL RESEARCH - NRC, 1984). Já as tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2011) recomendam uma relação Ca:Pdisp um pouco

menor, entre 1,95 e 2,15. A relação Ca:P em dietas para aves é importante para aumentar as cinzas ósseas, a taxa de crescimento e a digestibilidade do P (QIAN; KORNEGAY; DENBOW, 1997).

A moagem é o principal fator que afeta a solubilidade do calcário. Para poedeiras, o ideal é que o valor de solubilidade *in vitro* não ultrapasse 12% (FASSANI, 2003). Para frangos de corte, o ideal é que a fonte apresente solubilidade *in vitro* >20% (BERTECHINI, 2012).

Altos níveis de cálcio com baixa granulometria permitem uma elevada concentração de Ca no trato gastrointestinal e prejudicam a absorção de vários microminerais, principalmente os bivalentes (BERTECHINI, 2012). O pH é um dos principais fatores responsáveis pela solubilização do cálcio. Em pH ácido, o cálcio presente no calcário calcítico é liberado. O pH do trato digestório de frangos varia de 2,0, no pró-ventrículo e moela, até valores superiores a 6,0 no duodeno (WALK; BEDFORD; MCELROY, 2012a). Dessa forma o tempo de passagem e o tamanho de partícula podem determinar quanto do cálcio proveniente do calcário será solubilizado.

Altos níveis de Ca na ração têm implicado em redução da eficiência da fitase (BALLAM; NELSON; KIRBY, 1984; TAMIM; ANGEL; CHRISTMAN, 2004) redução do desempenho zootécnico (POWELL; BIDNER; SOUTHERN, 2011; SEBASTIAN et al., 1996), aumento do pH gastrointestinal (GUINOTTE et al., 1995) e interferência na absorção de macrominerais (HURWITZ et al., 1978; SIMPSON; WISE, 1990).

Schoulten et al. (2001) indicam redução linear na absorção de Ca e Mn à medida que se eleva os níveis de cálcio, enquanto para P e Zn, são observados maiores valores de absorção com 0,83 e 0,76% de cálcio respectivamente.

A redução dos níveis de cálcio da dieta pode melhorar, indiretamente, o aproveitamento de aminoácidos por meio da redução do pH, melhorando a eficiência da pepsina (LIU et al., 2009). A atividade da pepsina é ótima em pH

2,8 (BOHAK, 1969). Níveis altos de Ca podem resultar em aumento do pH da moela e pro-ventrículo. O aumento do pH da moela reduz significativamente a solubilidade do Ca em frangos (GUINOTTE et al., 1995). Assim como, elevado pH implica na interação entre o Ca e o fitato no trato gastrointestinal (SELLE; COWIESON; RAVINDRAN, 2009). Guinotte et al. (1995) verificaram redução da solubilidade do Ca na moela e duodeno de frangos ao restringir a secreção gástrica (HCl) por meio da aplicação de Omeprazol, um inibidor da bomba de prótons.

Tamin e Angel (2003) relataram que o aumento nos níveis de Ca com o aumento da inclusão de calcário reduziu a hidrólise do fitato entre dois e 56% em pH 2,5, ou 23 a 46% em pH 6,5. Os autores relataram que uma elevada concentração de Ca em pH neutro, propicia a formação de complexos insolúveis do fitato com Ca que limitam a digestibilidade do Ca.

Os níveis de Ca, P e fitato do farelo de soja são maiores do que no milho, sendo assim, a influência do calcário, do fosfato bicálcico e da fitase é diferente sobre esses dois ingredientes (WALK; BEDFORD; MCELROY, 2012b).

Tanto a presença de fitato quanto de fosfatos (P solúvel) podem precipitar o Ca, interferindo na sua solubilidade (WALK; BEDFORD; MCELROY, 2012a). Os altos níveis de Ca provenientes do calcário promoveram a complexação e precipitação do fitato e do fosfato, reduzindo a solubilidade do Ca nas fases gástrica e intestinal, sendo mais intensa na fase intestinal.

Em estudo *in vitro* Walk, Bedford e McElroy (2012a) relataram que a solubilidade do cálcio do calcário é menor do que a solubilidade do cálcio do fosfato bicálcico e, separadamente, os dois são menos solúveis do que juntos. Nas dietas suplementadas com calcário na ausência de fosfato bicálcico, com elevada relação Ca:P, ocorreu precipitação do fosfato de cálcio, reduzindo a

quantidade de Ca solúvel. Ou seja, a solubilidade do Ca é maior quando calcário e fosfato bicálcico são utilizados juntos (com apropriada relação Ca:P). Outro ensaio *in vitro* demonstrou uma precipitação de 60% (fosfato de cálcio) quando a relação Ca:P foi de 2,9:1 em um intervalo de pH 5 a 6 (SHEIKH et al., 1989).

2.4 Qualidade óssea

Em linhagens de frango de crescimento rápido, o desenvolvimento esquelético não acompanha o crescimento corporal, gerando um excesso de carga sobre os ossos o que predispõem o surgimento de deficiências ósseas. O melhoramento genético, focado na produção de carne, pode ter prejudicado algumas propriedades ósseas (RATH et al., 2000).

A deficiência de cálcio e fósforo também podem levar a anormalidades ósseas, como raquitismo e discondroplasia tibial que resultam em claudicação, morbidade e mortalidade (FLEMMING, 2008). A taxa de mortalidade, consequente de problemas ósseos, foi estimada em 3% nos EUA (SULLIVAN, 1994), o que representa 60% de toda mortalidade reportada na indústria avícola americana (TNCCOUNCIL, 2014).

Frangos de corte e poedeira apresentam alta incidência de problemas ósseos como: fadiga de gaiola, deformidades ósseas, fraturas, discondroplasia tibial, osteoporose, entre outros (MCCOY; RIELY; KILPATRIC, 1996). Além de serem problemas para a produção, são, também, uma questão de bem estar animal. Frangos próximos à idade de abate são acometidos por deformações ósseas e desvios nos membros, que podem levar a fraturas durante a apanha, carregamento e transporte causando perdas durante o processamento da carne (KNOWLES; WILKINS, 1998).

A fragilidade e porosidade dos ossos estão relacionadas com a presença de fragmentos ósseos em produtos de carne desossada, assim como com a

descoloração da carne adjacente ao osso (decorrente da lixiviação do sangue), tornando a carne menos atraente para o consumidor (RATH et al., 2000). Sobretudo o impacto econômico associado aos problemas ósseos na avicultura pode gerar prejuízos de centenas de milhões de dólares por ano.

A nutrição é provavelmente o fator mais relevante no que diz respeito à qualidade óssea. Para melhorar a qualidade óssea das aves, é importante entender as bases fisiológicas do desenvolvimento ósseo. Uma complexa interação entre fatores é responsável pela qualidade e maturidade dos ossos, incluindo a composição da dieta, a temperatura ambiente, o *status* sanitário, idade das aves, entre outros (EINHORN, 1996).

A deposição de cálcio no esqueleto é mais intensa na fase de crescimento (DACHE et al., 1993). Assim, o conteúdo de Ca no organismo da ave aumenta de maneira rápida durante todo o período de criação. O osso é composto por 70% de minerais e 20% de matéria orgânica, sendo os 10% restante umidade (EINHORN, 1996). O colágeno é a substância que se encontra em maior quantidade na matriz orgânica, uma proteína que confere ao osso elasticidade e resistência à tração, enquanto a hidroxiapatita, maior representante da matriz mineral (65% do peso do osso), confere resistência à compressão (KNOTT et al., 1995).

O osso é um tecido com alta atividade metabólica além de estrutural. Atua no metabolismo de minerais e na hematopoiese (EYRE, 1996). Os ossos longos em aves são compostos por osso cortical, que corresponde “casca” externa, envolvendo o osso trabecular, medular e a medula óssea. Os demais 15% da matriz orgânica (nãocolágeno) são compostos por proteoglicanos, lipídios, e proteínas como osteocalcina, osteonectina e osteopontina (KNOTT; BAILEY, 1998). Essas proteínas nãocolágenas são responsáveis por diversas funções como estabilização da matriz óssea, calcificação, entre outras funções metabólicas regulatórias (TERMINE; GEHRON-ROBEY, 1996).

Os osteócitos, osteoblastos e osteoclastos são as células responsáveis pela síntese, mineralização e reabsorção óssea, sendo estruturas-chave na determinação da resistência, formato e metabolismo ósseo (KNOTT; BAILEY, 1998). O colágeno é uma proteína fibrosa em tripla hélice que compõem aproximadamente 85% da matriz orgânica, forma a estrutura primária do tecido ósseo, contribui para a resistência à tração e proporciona suporte para a matriz mineral (RIGGS et al., 1993).

Baseado na organização estrutural, o osso pode ser classificado como não lamelar ou lamelar. A estrutura primária (não lamelar) apresenta fibras colágenas dispostas em várias direções sem organização definida e tem menor quantidade de minerais e maior proporção de osteócitos quando comparada ao tecido ósseo secundário (lamelar). Já o tecido ósseo secundário apresenta fibras colágenas organizadas em lamelas, de 3 a 7 μm de espessura, dispostas de forma paralela ou concêntrica (RATH et al., 2000).

O osso lamelar apresenta deposição lenta enquanto que o não lamelar apresenta deposição rápida durante a ossificação intramembranosa ou cicatrização de fraturas (GORSKI, 1988). Apesar do osso medular não apresentar muita resistência por si só, o mesmo contribui para a resistência do osso como um todo (FLEMMING, 1998; KNOTT et al., 1995).

A resistência óssea é a dureza ou habilidade de suportar estresse, sendo assim, é relacionada com a carga máxima suportada pelo osso no momento da ruptura. A carga de ruptura é a soma de todas as forças e momentos aplicados ao osso, também é chamada de resistência óssea (NIGG; GRIMSTONE, 1994).

A carga máxima suportada pelo osso é um valor absoluto que não permite comparação entre ossos de diferentes tamanhos ou de aves de diferentes idades, sendo assim, a carga expressa em unidade por área é mais significativa para impor comparações (FROST; ROLAND, 1991). Mesmo assim, existem erros embutidos, pois o osso é uma estrutura irregular. Considerar o osso como

um objeto sólido (HUFF et al., 1980) *versus* um corpo elíptico e oco (CRENSHAW et al., 1981) resulta em cálculos e resultados diferentes. Apesar das diferenças, ambas as medidas refletem a resistência do osso.

Em ensaios de flexão de três apoios, o diâmetro do osso no local da carga é utilizado para calcular a área. Submetido a cargas crescentes de força o osso passa por uma deformação elástica até o momento em que não há mais resistência (FROST; ROLAND, 1991). A carga necessária para atingir esse ponto é chamada de força de escoamento (TURNER; BURR, 1993).

Além dos fatores ligados diretamente ao metabolismo do cálcio, outros fatores podem afetar a formação e a qualidade óssea, como a deficiência de microminerais e vitaminas. A deficiência de cobre, boro, vitamina B6, vitamina C e vitamina K reduzem a mineralização e a resistência óssea (OSPHAL et al., 1982; WEBER, 1999; WILSON; RUZLER, 1998). Doenças como osteomielite, osteonecrose, reovirose e leucose aviária também prejudicam a formação óssea (HEIDE; LUTTICKEN; HORZINEK, 1981; REECE, 1992; SMITH, 1982) assim como micotoxinas (HUFF et al., 1980).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cálcio exerce várias funções no organismo por meio de diversas vias metabólicas, sendo essencial para o bom desenvolvimento e produtividade das aves comerciais. Estudos que proporcionem maiores conhecimentos das fontes de cálcio e formas de suplementação são importantes. Evitando assim, a suplementação excessiva ou reduzida do mineral na dieta. De certa forma, todos os estudos envolvendo a nutrição animal preconizam o máximo desempenho com menor perda econômica ou dano ambiental.

REFERÊNCIAS

ADEDOKUN, S. A.; ADEOLA, E. O. Calcium and phosphorus digestibility: metabolic limits. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 22, n. 3, p. 600-608, 2013.

ANGEL, R.; TAMIN, N. M. Phytate phosphorus hydrolysis as influenced by dietary calcium and micro minerals source in broiler diets. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 5, n. 16, p. 4687-4693, July 2003.

AUCHÈRE, D. et al. Role of transcellular pathway in ileal Ca²⁺ absorption: stimulation by low-Ca²⁺ diet. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 275, n. 5 pt 1, p. G951-G956, Nov. 1998.

AVISITE. Avisite o portal da avicultura na internet. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

BALLAM, G. C.; NELSON, T. S.; KIRBY, L. K. Effect of fiber and phytate source and of calcium and phosphorus level on phytate hydrolysis in the chick. **Poultry Science**, Champaign, v. 63, p. 333-338, 1984.

BAR, A. et al. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 89, n. 1, p. 51-61, Jan. 2003.

BAR, A.; HURWITZ, S.; EDELSTEIN, S. Response of renal calcium-binding protein: independence of kidney vitamin D hydroxylation. **Biochimica et Biophysica Acta**, Alberta, v. 411, p. 106-112, 1975.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2012. 255 p.

BIJVOET, O. L. M.; REITSMA, P. H. Phylogeny of renal phosphate transport in vertebrates. In: MASSRY, S. G.; RITZ, E. (Ed.). **Phosphate metabolism**. New York: Plenum, 1977. p. 41-53.

BOHAK, Z. Purification and characterization of chicken pepsinogen and chicken pepsin. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 244, p. 4638- 4648, 1969.

BRONNER, F.; PANSU, D. Nutritional aspects of calcium absorption. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 1, p. 9-12, Jan. 1999.

BRONNER, F.; PANSU, D.; STEIN, W. D. An analysis of intestinal calcium transport across the rat intestine. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 250, p. G561-G569, 1986.

BUCKLEY, M.; BRONNER, F. Calcium-binding protein biosynthesis in the rat: regulation by calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D₃. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 202, p. 235-241, 1980.

CARAFOLI, E. Calcium pump of the plasma membrane. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 71, n. 1, p. 129-153, 1991.

CHOCT, M.; ANNISON, G. The inhibition of nutrient digestion by wheat pentosans. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 67, n. 1, p. 123-132, Jan. 1992.

COLLINS, E. D.; NORMAN, A. W. Vitamin D. In: MACHLIN, L. J. (Ed.). **Handbook of vitamins**. New York: M. Dekker, 1991. p. 59-98.

COMBS, G. F. **The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health**. 3rd ed. Ithaca: Cornell University, 2008. 177 p.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complimentary mode of action. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 65, p. 609-624, Dec. 2009.

CRENSHAW, T. D. et al. Moser, bone strength as trait for assessing mineralization in swine: a critical review of techniques involved. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 53, p. 827-835, 1981.

CROSS, H. S.; DEBIEC, H.; PETERLIK, M. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel, v. 16, n. 2/3, p. 115-124, 1990.

DACKE, C. G. et al. Medullary bone and avian calcium regulation. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 184, p. 63-68, Nov. 1993.

DELEZIE, E.; MAERTENS, L.; HUYGHEBAERT, G. Consequences of phosphorus interactions with calcium, phytase, and cholecalciferol on zootechnical performance and mineral retention in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 10, p. 2523-2531, Oct. 2012.

DIAZ, R. et al. Cloning, expression, and tissue localization of the calcium-sensing receptor in chicken (*Gallus domesticus*). **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 273, n. 3 pt 2, p. R1008-R1016, Sept. 1997.

DITTMER, K. E.; THOMPSON, K. G. Vitamin D metabolism and rickets in domestic animals: a review. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 48, n. 2, p. 389-407, Mar. 2011.

DUSSO, A. S.; BROWN, A. J.; SLATOPOLSKY, E. Vitamin D. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, Baltimore, v. 289, n. 1, p. F8-F28, July 2005.

EINHORN, T. A. Biomechanics of bone. In: BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; RODAN, G. A. (Ed.). **Principles of bone biology**. San Diego: Academic, 1996. p. 25-37.

EYRE, D. R. Biochemical markers of bone turnover. In: FAVUS, M. J. (Ed.). **Primers on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. New York: Lippincot-Raven, 1996. p. 114-118.

FASSANI, E. J. **Características físico-químicas de calcários calcítico do Estado de Minas Gerais, utilizados em rações para poedeiras**. 2003. 83 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

FEINBLATT, J. D.; TAI, L. R.; KENNY, A. D. Avian parathyroid glands in organ culture: secretion of parathyroid hormone and calcitonin. **Endocrinology**, Baltimore, v. 96, p. 282-288, 1975.

FLEMMING, R. H. Nutritional factors affecting poultry bone health. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 67, n. 2, p. 177-183, May 2008.

FLEMMING, R. H. et al. Whitehead, medullary bone and humeral breaking strength of laying hens. **Research in Veterinary Science**, London, v. 64, n. 1, p. 63-67, Jan./Feb. 1998.

FORSTER, I. C. et al. Proximal tubular handling of phosphate: a molecular perspective. **Kidney International**, Malden, v. 70, n. 9, p. 1548-1559, Nov. 2006.

FORTE, L. R. et al. Renal parathyroid hormone receptors in the chick: downregulation in secondary hyperparathyroid animal models. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 242, p. E154-E163, 1982.

FROST, T. J.; ROLAND, D. A. Current methods used in determination and evaluation of tibia strength: a correlation study involving birds fed various levels of cholecalciferol. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, n. 7, p. 1640-1643, July.1991.

FUJITA, H. et al. Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. **Molecular Biology of the Cell**, San Francisco, v. 19, n. 5, p. 1912-1921, May 2008.

GORSKI, J. P. Is all bone the same?: distinctive distributions and properties of non-collagenous matrix proteins in lamellar vs woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, Thousand Oaks, v. 9, p. 201-223, 1998.

GROSS, M.; KUMAR, R. Physiology and biochemistry of vitamin D-dependent calcium binding proteins. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 259, n. 2 pt 2, p. F195-F209, Aug. 1990.

GUINOTTE, F. et al. Calcium solubilization and retention in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus domesticus*) as a function of gastric acid secretion inhibition and of calcium carbonate particle size. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 73, n. 1, p. 125-139, Jan. 1995.

HEIDE, L. van der; LUTTICKEN, D.; HORZINEK, M. Isolation of avian reovirus as possible etiologic agent of osteoporosis ("brittle bone disease", "femoral head necrosis") in broiler chickens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 25, p. 847-856, 1981.

HOCK, D. et al. Isolation and characterization of the bioactive circulating human parathyroid hormone, hPTH-1-37. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 400, n. 2, p. 221-225, Jan. 1997.

HOENDEROP, J. G.; NILIUS, R.; BINDELS, R. J. Calcium absorption across epithelial. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 85, n. 1, p. 373-422, Jan. 2005.

HUFF, W. E. et al. Evaluation of bone strength during aflatoxicosis and ochratoxicosis. **Applied Microbiology**, Oxford, v. 40, p. 102-107, 1980.

HURWITZ, S. et al. Calcium metabolism and requirements of chickens are affected by growth. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 125, n. 10, p. 2679-2686, Oct. 1995.

HURWITZ, S. et al. Phosphate absorption and excretion in the young turkey, as influenced by calcium intake. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 108, p. 1329-1335, 1978.

JONES, G.; STRUGNELL, S. A.; DELUCA, H. F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 78, n. 4, p. 1193-1231, Oct. 1998.

JUPPNER, H.; GARDELLA, T. J.; BROWN, E. M. Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide in the regulation of calcium homeostasis and bone development. In: DE-GROOT, L. J.; JAMESON, J. L. (Ed.). **Endocrinology**. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. p. 1377-1417.

KLIS, J. D. van der et al. Efficacy of phytase in corn-soybean meal-based diets for laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 11, p. 1535-1542, Nov. 1997.

KNOTT, L.; BAILEY, A. J. Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function, and clinical relevance. **Bone**, New York, v. 22, n. 3, p. 181-187, Mar. 1998.

KNOTT, L. et al. Biochemical changes in collagenous matrix of osteoporotic avian bones. **Biochemical Journal**, London, v. 310, n. 3, p. 1045-1051, Sept. 1995.

KNOWLES, T. G.; WILKINS, L. J. The problems of broken bones during handling of laying hens: a review. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 12, p. 1798-1802, Dec. 1998.

KOUSTENI, S.; BILEZIKIAN, J. P. The cell biology of parathyroid hormone in osteoblasts. **Current Osteoporosis Reports**, Berlin, v. 6, n. 2, p. 72-76, June. 2008.

LACEY, D. L. et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. **Cell**, Cambridge, v. 93, n. 2, p. 165-176, Apr. 1998.

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

LETOURNEAU-MONTMINY, M. P. et al. Meta-analysis of phosphorus utilisation by chicks: influence of dietary calcium and microbial phytase content. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 11, p. 1844-1853, 2010.

LIU, N. et al. Effect of dietary phytate and phytase on proteolytic digestion and growth regulation in broilers. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 63, n. 4, p. 292-303, 2009.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2008. 168 p.

MANANGI, M. K.; COON, C. N. Phytate phosphorus hydrolysis in broilers in response to dietary phytase, calcium, and phosphorus concentrations. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 1577-1586, Aug. 2008.

MARCUS, C. S.; LENGEMANN, F. W. Absorption of Ca^{45} and Sr^{85} from solid and liquid food at various levels of the alimentary tract of the rat. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 77, p. 155-160, 1962.

MATSUDA, M.; YAMAMOTO, T. A.; HIRATA, M. Ca^{2+} -dependent regulation of calcitonin gene expression by the transcriptional repressor DREAM. **Endocrinology**, Baltimore, v. 147, n. 10, p. 4608-4617, Oct. 2006.

MCCORNICK, C. C. Passive diffusion does not play a major role in the absorption of dietary calcium in normal adults. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 11, p. 3428-3430, Nov. 2002.

MCCOY, M. A.; RIELY, G. A.; KILPATRICK, D. J. Density and breaking strength of bones of mortalities among caged layers. **Research in Veterinary Science**, London, v. 60, n. 2, p. 185-186, Mar. 1996.

MCKNIGHT, W. F. **Phytase in animal nutrition and waste management: a BASF reference manual**. New Jersey: BASF, 1996. 15 p.

MCNAUGHTON, J. L.; DAY, E. J.; DILWORTH, B. C. The chick's requirement for 25-hydroxycholecalciferol and cholecalciferol. **Poultry Science**, Champaign, v. 56, p. 511-516, 1977.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements for poultry**. Washington: National Academy, 1984. 173 p.

NAVEH-MANY, T.; SILVER, J. Regulation of calcitonin gene transcription by vitamin D metabolites in vivo in the rat. **Journal of Clinical Investigation**, Michigan, v. 81, p. 270-273, 1988.

NELLANS, H. N. Intestinal calcium absorption: interplay of paracellular and cellular pathways. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel, v. 16, n. 2/3, p. 101-108, 1990.

NEMERE, I. Parathyroid hormone rapidly stimulates phosphate transport in perfused duodenal loops of chicks: lack of modulation by vitamin D metabolites. **Endocrinology**, Baltimore, v. 137, n. 9, p. 3750-3755, Sept. 1996.

NEMERE, I. et al. Redistribution of calbindin-D28k in chick intestine in response to calcium transport. **Endocrinology**, Baltimore, v. 129, n. 6, p. 2972-2984, Dec. 1991.

NIGG, B. M.; GRIMSTONE, S. K. Biomechanics of musculoskeletal system. In: NIGG, B. M.; HERZOG, W. (Ed.). **Bone**. New York: J. Wiley, 1994. p. 48-78.

OSPHAL, W. et al. Role of copper in collagen-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 12, p. 708-716, 1982.

PENG, J. B.; BROWN, E. M.; HEDIGER, M. A. Apical entry channels in calcium-transporting epithelia. **News in Physiological Sciences**, New Jersey, v. 18, p. 158-163, Aug. 2003.

PIKE, J. W. et al. Molecular actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on genes involved in calcium homeostasis. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, v. 22, n. 2, p. V16-V19, 2007. Supplement.

POWELL, S.; BIDNER, T. D.; SOUTHERN, L. L. Phytase supplementation improved growth performance and bone characteristics in broilers fed varying levels of dietary calcium. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, n. 3, p. 604-608, Mar. 2011.

QIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol and calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 37-46, Jan. 1997.

QUEIROZ, L. S. B. et al. Biodisponibilidade relativa do fósforo de fosfatos comerciais para frangos de corte na fase inicial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1421-1427, out. 2008.

RATH, N. C. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 1024-1032, 2000.

RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L.; KORNEGAY, E. T. Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. **Poultry and Avian Biology Reviews**, Northwood, v. 6, n. 2, p. 125-143, 1995.

REECE, R. L. The role of infectious agents in leg abnormalities in growing birds. In: WHITEHEAD, C. C. (Ed.). **Bone biology and skeletal disorders in poultry**. Abingdon: Carfax, 1992. p. 231-263.

RIGGS, C. M. et al. Mechanical implications of collagen fibre orientation in cortical bone of the equine radius. **Anatomy and Embryology**, Berlin, v. 187, n. 3, p. 239-248, 1993.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2011. 252 p.

RUSSELL, J. et al. Interaction between calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D receptor messenger ribonucleic acid in avian parathyroids. **Endocrinology**, Baltimore, v. 132, n. 6, p. 2639-2644, June 1993.

SABBAGH, Y. et al. Intestinal npt2b plays a major role in phosphate absorption and homeostasis. **Journal of the American Society of Nephrology**, Hagerstown, v. 20, n. 11, p. 2348-2358, Nov. 2009.

SCHOULTEN, N. A. **Níveis de cálcio em dietas para frangos de corte suplementados com fitase**. 2001. 97 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

SCHRODER, B.; BREVES, G. Mechanism and regulation of calcium absorption from the gastrointestinal tract in pigs and ruminants: comparative aspects with special emphasis on hypocalcemia in dairy cows. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v. 7, n. 1/2, p. 31-41, June/Dec. 2007.

SEBASTIAN, S. et al. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, n. 12, p. 1516-1523, Dec. 1996.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, New York, v. 124, n. 1/3, p. 126-141, Sept. 2009.

SHARPLEY, A. Agricultural phosphorus, water quality, and poultry production: are they compatible. **Poultry Science**, Champaign, v. 78, n. 5, p. 660-673, May 1999.

SHEIKH, M. S. et al. Reduction of dietary phosphorus absorption by phosphorus binders. **Journal of Clinical Investigation**, Michigan, v. 83, p. 66-73, 1989.

SIMPSON, C. J.; WISE, A. Binding of zinc and calcium to inositol phosphates (phytate) in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 64, n. 1, p. 225- 232, July 1990.

SINDIRAÇÕES. **Boletim informativo do setor**. São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://sindiracoes.org.br/produtos-e-servicos/boletim-informativo-do-setor/>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

SMITH, R. E. Avian osteopetrosis. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, Berlin, v. 101, p. 75-94, 1982.

SPENCER, R.; CHARMAN, M.; LAWSON, D. E. Stimulation of intestinal calcium-binding-protein mRNA synthesis in the nucleus of vitamin D-deficient chicks by 1,25-dihydroxycholecalciferol. **Biochemical Journal**, London, v. 175, p. 1089-1094, 1978.

STRADER, C. D. et al. Structure and function of G protein-coupled receptors. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 63, p. 101-132, 1994.

STURKIES, P. D. **Sturkie's avian physiology**. 5thed. New York: Academic, 2000. 484 p.

SULLIVAN, T. W. Skeletal problems in poultry: estimated annual cost and descriptions. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, n. 6, p. 879-882, June 1994.

TAMIM, N. M.; ANGEL, R. Phytate phosphorus hydrolysis as influenced by dietary calcium and micro-mineral source in broiler diets. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 16, p. 4687-4693, July 2003.

TAMIM, N. M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 8, p. 1358-1367, Aug. 2004.

TERMINE, J. D.; GEHRON-ROBEY, P. Bone matrix proteins and the mineralization process. In: FAVUS, M. J. (Ed.). **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p. 24-28.

TNC COUNCIL. **The national chicken council**. Disponível em: <<http://www.nationalchickencouncil.org/about-the-industry/history/>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

TURNER, C. H.; BURR, D. B. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. **Bone**, New York, v. 14, n. 4, p. 595-608, July/Aug. 1993.

VEUM, T. L. Phosphorus and calcium nutrition and metabolism. In: VITTI, D. M. S. S.; KEBREAB, E. (Ed.). **Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals**. Oxfordshire: CAB International, 2010. p. 94-111.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; MCELROY, A. P. In vitro evaluation of limestone, dicalcium phosphate, and phytase on calcium and phosphorus solubility of corn and soybean meal. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 3, p. 674-682, Mar. 2012.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; MCELROY, A. P. Influence of limestone and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal nutrient digestibility. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 6, p. 1371-1378, June 2012.

WALLING, M. W. Intestinal Ca and phosphate transport: differential responses to vitamin D3 metabolites. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 233, p. E488-E494, 1977.

WARD, N. E. Research examines use of 25-OH vitamin D3 in broiler diets. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 67, n. 30, p. 12-15, 1995.

WASSERMAN, R. H. Vitamin D and the dual processes of intestinal calcium absorption. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, n. 11, p. 3137-3139, Nov. 2004.

WASSERMAN, R. H.; TAYLOR, A. N. Vitamin D3-induced calcium-binding protein in chick intestinal mucosa. **Science**, New York, v. 152, p. 791-793, 1966.

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

WEGLARZ, M. P.; ANGEL, R. Calcium and phosphorus metabolism in broilers: effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. **Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 609-627, 2013.

WHITEHEAD, C. C. et al. High vitamin D3 requirements in broilers for bone quality and prevention of tibialdyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitamin A. **British Poultry Science**, London, v. 45, n. 3, p. 425-436, June 2004.

WIDEMAN JUNIOR, R. F. Renal regulation of avian calcium and phosphorus metabolism. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 117, p. 808-815, 1987.

WILSON, J. H.; RUSZLER, P. H. Long term effects of boron on layer bone strength and production parameters. **British Poultry Science**, London, v. 39, n. 1, p. 11-15, Mar. 1998.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

ARTIGO 1 Granulometrias do calcário calcítico e redução do cálcio dietético para frangos de corte

Artigo preparado conforme normas da *Revista Poultry Science*.

1 **REDUÇÃO DO CÁLCIO DIETÉTICO PARA FRANGOS**

2

3 **Granulometria do calcário calcítico e redução do cálcio dietético para**

4 **frangos de corte**

5

6 A. N. Mayer¹ and A. G. Bertechini

7 *Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, caixa*

8 *postal: 3037, Lavras, Brasil.*

9

10 Scientific section for the paper: Metabolism and Nutrition

11

12 **ABSTRACT**

13 The objective of this study was to evaluate the association of limestone
14 particle size with dietary calcium levels for broilers. Two trials were
15 performed. The performance trial lasted 42 days, where 1200 Cobb-500®
16 broilers were located on 48 floor-pens of 25 birds each. The statistical
17 design was a randomized block design (RBD) in 4 x 2 factorial
18 arrangement consisting of four limestone particle sizes (126, 163, 466 and
19 933 µm) and two calcium levels (80 and 100% of the bird's nutritional

¹corresponding author: andrenevesmayer@gmail.com, tel: 55 35 93057318

20 requirement), totaling eight treatments of six replicates. In the metabolism
21 trial, 240 birds, at 14 days of age, were divided into 48 battery-cages of
22 five birds each. The treatments were the same used in the performance
23 trial distributed in a completely randomized design. The experiment
24 lasted seven days, three days for total excreta collection. Diets containing
25 933 μ m limestone particle size resulted in a lower feed intake until 21
26 days of age ($P<0.05$), although, after 35 days, the feed consumption was
27 matched for all particle sizes evaluated. Birds fed the limestone with
28 933 μ m also had lower weight gain until 21 days when compared to birds
29 fed the finest grain sizes. A 20% dietary calcium reduction decreased
30 weight gain and increased feed conversion ratio of birds at the following
31 phases: starter, grower and finisher ($P<0.05$). The density and bone
32 strength were impaired as limestone particle size increased, however, the
33 dietary calcium level reduction impaired only bone strength. As a
34 conclusion, the use of limestone until 466 μ m particle size, is able to meet
35 the nutritional needs of broiler chickens without sacrificing performance
36 and bone quality of the birds.

37 **Key words:** poultry, performance, calcium retention, bone quality

38

INTRODUÇÃO

39

40 O Brasil está entre os maiores produtores de carne de frango do
41 mundo, ocupa a terceira posição atrás da China e Estados Unidos. A
42 produção nacional ultrapassou os 12 milhões de toneladas em 2013
43 (Avisite, 2014), e foram necessários mais de 22 milhões de toneladas de
44 ração para essa produção (Sindirações, 2013).

45

O cálcio participa em grande fração nas dietas dos frangos de
46 corte, sendo que pela quantidade estimada de rações produzidas, e,
47 considerando um nível médio de 0,75% de cálcio nessas dietas, seriam
48 necessários 165 mil toneladas desse macromineral. Por contribuir com
49 1,8% das dietas de frango de corte, o gasto de calcário seria de 396 mil
50 toneladas anuais.

51

Esse macromineral é um nutriente limitante para o crescimento
52 das aves, pois atua na formação óssea, na contração muscular, na
53 sinalização celular como segundo mensageiro, entre outras funções. Aves
54 com deficiência de cálcio apresentam raquitismo, redução do consumo de
55 ração e menor crescimento.

56

Em dietas à base de cereais, sua concentração é baixa,
57 necessitando ser suplementado na forma de calcário calcítico por

58 exemplo. O calcário contém em torno de 38% de cálcio e é uma rocha que
59 apresenta alta solubilidade em meio ácido. A granulometria do calcário
60 está diretamente ligada à disponibilidade de cálcio devido à superfície de
61 contato, quanto mais fino, maior a solubilidade do mesmo. Nesse
62 contexto, existe um número considerável de estudos descrevendo os
63 benefícios em fornecer calcário com maior tamanho de partícula para
64 poedeiras comerciais e matrizes pesadas. No entanto, o melhor tamanho
65 de partícula do calcário para frangos de corte ainda vem sendo estudado.

66 Dessa forma, objetivou-se com este trabalho avaliar a associação
67 de granulometrias do calcário calcítico com níveis de cálcio em dietas
68 para frangos de corte.

69

70

MATERIAL E MÉTODOS

71 *Animais e Dietas Experimentais*

72 O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa em
73 Tecnologia Avícola, localizado na Rodovia BR-265, km 344, na cidade
74 de Lavras, Minas Gerais. Todos os procedimentos experimentais foram
75 aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade
76 Federal de Lavras, sob o protocolo nº 084/13.

77 As aves utilizadas nos experimentos foram vacinadas contra a
78 doença de Marek ainda no incubatório e contra doença de Gumboro aos
79 oito e 18 dias de idade via água de bebida. As temperaturas máxima e
80 mínima das instalações foram registradas diariamente com termômetro de
81 coluna de mercúrio, sendo a temperatura controlada pelo manejo das
82 cortinas, ventiladores e aquecedores à lenha.

83 Foram realizados dois experimentos: um de desempenho e outro
84 de metabolismo. Os experimentos foram conduzidos em aviários
85 experimentais de alvenaria.

86 O ensaio de desempenho teve duração de 42 dias, e foram
87 utilizados 1.200 pintos de corte Cobb-500®, machos, distribuídos em 48
88 parcelas experimentais de 25 aves. Os boxes onde as aves foram alojadas
89 mediam 2,0 x 1,1 m (12 aves/m²), equipados com comedouros tubulares,
90 bebedouros tipo *nipple* e cama de maravalha. O delineamento estatístico
91 utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 4 x 2
92 composto por quatro granulometrias do calcário calcítico (126, 163, 466,
93 933 µm) e dois níveis de cálcio (80 e 100% da exigência), totalizando oito
94 tratamentos com seis repetições (Tabela 1).

95

96 **Tabela 1.** Tratamentos experimentais, combinação dos níveis de cálcio
97 com as granulometrias do calcário*

98

99 A determinação do DGM (diâmetro geométrico médio) e do DPG
100 (desvio padrão geométrico) dos calcários utilizados no experimento foi
101 feita utilizando o programa computacional GranuCalc desenvolvido pela
102 EMBRAPA (Núcleo de Tecnologia da Informação – NTI da Embrapa
103 Suínos e Aves) de acordo com a metodologia proposta pela American
104 Society of Agricultural Engineers (1983) adaptada e descrita por Zanotto
105 and Bellaver (1996). A solubilidade *in vitro* do calcário calcítico foi
106 determinada segundo método da perda de peso descrita por Cheng and
107 Coon (1990). A descrição das características dos calcários calcítico
108 utilizados no experimento estão apresentados na Tabela 2.

109

110 **Tabela 2.** Granulometria e solubilidade *in vitro* dos calcários estudados*

111

112 Foi adotado um programa nutricional com quatro rações
113 distribuídas nas fases pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias),
114 crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias). As dietas foram fareladas

115 à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais, vitaminas e
116 aditivos comumente utilizados na indústria avícola, sendo isoproteicas,
117 isocalóricas e isofosfóricas (Tabela 3).

118

119 **Tabela 3.** Composição percentual e nutricional das rações experimentais
120 de acordo com a fase de criação*

121

122 As rações foram formuladas de acordo com as recomendações das
123 Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011), utilizando
124 a ferramenta *Solver*, com o método de solução *LP Simplex* para
125 problemas lineares, do *Microsoft Excel*. As aves receberam ração e água à
126 vontade. O programa de luz utilizado foi de 24h/dia (luz natural +
127 artificial) durante todo o período experimental.

128 Foram realizadas pesagens das aves, dos fornecimentos e sobras
129 de ração, aos sete, 21, 35 e 42 dias de idade para cálculo do consumo de
130 ração, ganho de peso e conversão alimentar. As datas em que ocorreram
131 mortalidades foram registradas para correção do consumo de ração e da
132 conversão alimentar de acordo com a metodologia descrita por (Sakomura
133 and Rostagno, 2007).

134 No ensaio de metabolismo foram utilizadas 240 aves com 14 dias
135 de idade, distribuídas em 48 parcelas com cinco aves por unidade
136 experimental. Foram utilizadas aves do ensaio de desempenho, realojadas
137 de acordo com os tratamentos aleatoriamente em gaiolas metálicas na
138 densidade de 14 aves/m² (70 x 50 x 35 cm). As gaiolas eram providas de
139 bebedouros tipo copo de pressão, comedouros tipo calha e bandejas
140 plásticas sob o piso. Os tratamentos consistiram de oito dietas compostas
141 pela combinação de quatro granulometrias do calcário (126, 163, 466, 933
142 µm) e dois níveis de cálcio (80 e 100% da exigência), iguais às fornecidas
143 no ensaio de desempenho. A ração foi fornecida duas vezes ao dia para
144 garantir que os comedouros estivessem cheios possibilitando consumo *ad*
145 *libitum*. Os bebedouros foram checados diariamente para garantir o
146 fornecimento de água e evitar vazamentos. O delineamento experimental
147 foi o inteiramente casualizado (DIC), disposto em esquema fatorial 4 x 2
148 (granulometrias x níveis de Ca) com seis repetições. O período
149 experimental foi de sete dias, sendo quatro de adaptação e três de coleta
150 total de excretas. O fornecimento e sobra de ração foram registrados
151 durante o período de coleta de excreta para determinação das quantidades
152 de cálcio e fósforo ingeridas. As coletas de excreta foram realizadas uma

153 vez ao dia e o material foi armazenado em sacos plásticos identificados de
154 acordo com a parcela em *freezer* a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao final do período de coleta
155 (terceiro dia) as excretas foram homogeneizadas e pesadas. Uma
156 subamostra das excretas de cada parcela (aproximadamente 400 g) foi
157 seca em estufa de ventilação forçada ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$) para determinação da
158 matéria seca ao ar (ASA). Em seguida, foram moídas e transferidas ao
159 laboratório de nutrição animal da Universidade Federal de Lavras para
160 realização das análises bromatológicas, assim como as rações.

161 Aos 21 e 42 dias de idade uma ave por unidade experimental
162 (como peso próximo ao peso médio da parcela) foi abatida por
163 deslocamento cervical para coleta das tíbias (direita e esquerda). O tecido
164 muscular foi removido e os ossos limpos, identificados e armazenados em
165 *freezer* a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao final do experimento as tíbias da perna direita (48
166 peças) foram utilizadas para análises bromatológicas realizadas no
167 Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Lavras.

168 As análises bromatológicas das tíbias foram feitas com base no
169 peso seco e desengordurado (extração com éter de petróleo em
170 equipamento *goldfish*). As cinzas foram determinadas por diferença de
171 peso após incineração em forno mufla a $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, o fósforo determinado

172 por espectrofotometria (400 nm) e o cálcio foi analisado por
173 permanganatometria de acordo com as metodologias propostas pela
174 AOAC (1990). O índice de Seedor foi calculado dividindo o peso da tíbia
175 (seca e desengordurada) pelo comprimento da mesma.

176 As tíbias da perna esquerda (48 peças) foram utilizadas para
177 análise de densitometria óssea por raios x, segundo Louzada (1994),
178 sendo realizada no Hospital Veterinário da UFLA. A técnica consistiu em
179 radiografar os ossos ao lado de uma escala de alumínio com espessuras
180 variando de 1,0 a 6,0 mm. A radiopacidade do osso foi então comparada à
181 radiopacidade da escala de alumínio determinando assim, um valor
182 relativo em mm de alumínio para o osso. Foi utilizado filme radiográfico
183 24 x 30 cm (marca Fuji), écran de terras raras e as seguintes
184 configurações: 40 kVp, 80 mA, 8 mAs e ampôla de 95 cm.

185 Após a determinação da densitometria óssea, os mesmos ossos
186 foram utilizados para realização do ensaio de flexão, sendo realizadas no
187 departamento de engenharia da UFLA. Foi utilizado o equipamento de
188 ensaios mecânicos universal de três apoios (*MICROCOMPUTER* –
189 *CONTROLLED ELECTRONIC UNIVERSAL TESTING MACHINE* –
190 *WDW 20E*). Os ossos foram testados individualmente. Previamente ao

191 ensaio de resistência, os diâmetros máximo e mínimo da região média da
192 diáfise foram tomados para determinar a área da seção transversal onde a
193 carga foi aplicada. Apoiados sobre dois pontos equidistantes, um terceiro
194 apoio oposto aos suportes, aplicou a carga na região média da diáfise a
195 uma velocidade de 10 mm/min. Foi utilizado um vão livre de 3,0 cm para
196 os ossos menores (aves de 21 dias) e 4,0 cm para os ossos maiores (aves
197 de 42 dias). Um computador acoplado ao equipamento registrou a cada
198 0,02 s, a carga (Kilonewton) e a deformação (mm) do osso até o momento
199 da ruptura. A carga máxima suportada e a área transversal da diáfise
200 foram utilizadas para calcular a resistência óssea expressa em kN e
201 kN/cm².

202 As análises estatísticas foram realizadas utilizando programa
203 computacional *R* (R Core Team, 2013). Os dados foram submetidos ao
204 teste de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e posteriormente à
205 análise de variância (F a 5%). As médias que apresentaram diferença
206 significativa ($P < 0,05$) foram comparadas pelo teste de Student-Newman-
207 Keuls (SNK) ao nível de 5% de significância.

208

209 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

210 Os níveis de cálcio e fósforo analisados nas rações experimentais
211 estão próximos aos valores formulados, aceitando-se uma pequena
212 variação decorrente de erros de mistura, amostragem e análise. O
213 desempenho zootécnico das aves foi afetado pelos níveis de cálcio,
214 granulometria do calcário e pela interação entre os fatores (Tabela 4).

215

216 **Tabela 4.** Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão
217 alimentar (CA) de frangos de corte aos sete, 21, 35 e 42 dias de idade
218 alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário*

219

220 O consumo de ração de um a sete dias (Tabela 5) apresentou
221 interação significativa ($P = 0,04$), sendo menor para as aves que
222 receberam a maior granulometria do calcário (933 μm).

223

224 **Tabela 5.** Consumo de ração (CR) de frangos de corte de um a sete dias
225 de idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do
226 calcário*

227

228 O aumento do tamanho de partícula do calcário de 126 μm para
229 466 μm e a redução dos níveis de cálcio de 100 para 80% não afetaram o
230 consumo das aves ($P>0,05$), exceto para a granulometria de 933 μm
231 associada ao nível de cálcio de 100%, em que se observou o menor
232 consumo de ração (137 g) entre todos os tratamentos.

233 O ganho de peso de um a sete dias (Tabela 4) não apresentou
234 interação significativa ($P = 0,06$), porém, a probabilidade próxima a 5%
235 indica que o nível de cálcio associado ao tamanho de partícula do calcário
236 pode afetar o ganho de peso das aves na primeira semana de vida.
237 Isoladamente o nível de cálcio da dieta não afetou o ganho de peso de 1-7
238 dias ($P = 0,36$), no entanto, a granulometria (DGM) do calcário afetou de
239 forma significativa o ganho de peso ($P<0,01$) onde as aves alimentadas
240 com o maior DGM do calcário (933 μm) apresentaram o pior ganho de
241 peso (127 g).

242 Apesar do consumo de ração e do ganho de peso terem sido
243 afetados pela granulometria do calcário, a conversão alimentar não foi
244 influenciada por esse fator ($P = 0,21$). Já a redução do nível de cálcio da
245 dieta em 20% prejudicou a conversão alimentar em 2,7% ($P<0,01$).

246 Portanto, o tamanho de partícula do calcário foi determinante no
247 consumo de ração e ganho de peso de frangos de corte durante a primeira
248 semana de vida.

249 Nenhum dos parâmetros de desempenho nas fases seguintes (1 a
250 21; 1 a 35 e 1 a 42 dias) apresentou interação significativa (Tabela 4). O
251 consumo de ração de um a 21 dias também foi prejudicado pelo maior
252 tamanho de partícula do calcário (933 μm), e as granulometrias inferiores
253 (126 μm , 163 μm , 466 μm) resultaram no mesmo consumo de ração
254 diferenciando somente do DGM de 933 μm (1.279 g) ($P < 0,001$). O ganho
255 de peso e a conversão alimentar nas três primeiras semanas foram
256 significativamente melhores ao utilizar o calcário com 163 μm ($P = 0,001$
257 e 0,001, respectivamente), assim com ao utilizar o nível de cálcio
258 recomendado para a fase (100%) ($P < 0,001$).

259 No período de um a 35 dias, não houve diferença significativa
260 para o consumo de ração, tanto para os níveis de cálcio ($P = 0,49$) quanto
261 para as granulometrias do calcário ($P = 0,82$), demonstrando que, apesar
262 do consumo de ração ter sido prejudicado pelo elevado tamanho de
263 partícula do calcário até os 21 dias de idade, o mesmo pode ser
264 compensado na fase seguinte. Já o ganho de peso e a conversão alimentar

265 foram, assim como na fase anterior, melhores ao utilizar o nível de cálcio
266 recomendado (100%) (Tabela 4).

267 Ao avaliar o período total de criação, do alojamento aos 42 dias de
268 idade, verificou-se que a granulometria do calcário não afetou nenhum
269 dos parâmetros de desempenho estudados. No entanto, a redução do nível
270 de cálcio da dieta prejudicou o ganho de peso em 1,5% ($P = 0,045$) e a
271 conversão alimentar em 1,6% ($P = 0,001$).

272 Os resultados do ensaio de metabolismo estão apresentados na
273 Tabela 6.

274

275 **Tabela 6.** Coeficiente de retenção aparente de cálcio (CRACa),
276 coeficiente de retenção aparente de P (CRAP), cálcio total ingerido (CaI),
277 cálcio total excretado (CaE), fósforo total ingerido (PI) e fósforo total
278 excretado (PE) para frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados
279 com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário*

280

281 O nível de cálcio e a granulometria do calcário da dieta afetaram
282 principalmente as variáveis envolvendo o cálcio, não influenciando de
283 forma tão expressiva as variáveis ligadas ao fósforo. O coeficiente de

284 retenção aparente do cálcio (CRACa) apresentou interação significativa
285 entre os fatores estudados ($P < 0,01$) (Tabela 7).

286

287 **Tabela 7.** Coeficiente de retenção aparente de cálcio (CRACa) para
288 frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com diferentes níveis
289 de cálcio e granulometrias do calcário*

290

291 O CRACa foi significativamente maior para as dietas com nível de
292 cálcio reduzido (80%) em todas as granulometrias do calcário, exceto
293 para o DGM 466 μm em que o coeficiente de retenção do cálcio foi o
294 mesmo para os dois níveis avaliados (80 e 100%) ($P = 0,20$). A
295 granulometria do calcário também afetou o coeficiente de retenção
296 aparente de cálcio ($P < 0,01$) de forma inversamente proporcional. À
297 medida que aumentou o DGM do calcário (126 para 933 μm) o
298 coeficiente de retenção de cálcio diminuiu (37,6 para 27,5%). Esse fato
299 pode estar relacionado com o aparecimento de partículas grosseiras de
300 calcário nas excretas das aves, observado durante as coletas experimentais
301 para os tratamentos que receberam calcário com DGM próximo a 1 mm

302 (933 μm). Dessa forma, o calcário intacto excretado pode ter contribuído
303 para redução da retenção de cálcio.

304 Não houve interação entre os níveis de cálcio e as granulometrias
305 do calcário para as variáveis cálcio ingerido (CaI) e excretado (CaE) ($P =$
306 $0,09$ e $0,49$ respectivamente) (Tabela 6).

307 As quantidades de cálcio ingerida e excretada foram diretamente
308 proporcionais aos níveis de cálcio da dieta. À medida que se reduziu o
309 nível de cálcio da dieta em 20%, observou-se também uma redução de
310 21% no consumo e 28% na excreção de cálcio pelas aves ($P < 0,01$). A
311 diferença mais acentuada na excreção do cálcio evidencia que a absorção
312 do mesmo é afetada pelo nível de cálcio da dieta.

313 Quanto ao tamanho de partícula do calcário, a maior
314 granulometria (933 μm) resultou no menor valor de ingestão de Ca (2,87
315 g) quando comparada às granulometrias menores (126 e 466 μm)
316 ($P < 0,01$), assim como apresentou o maior valor de excreção de cálcio
317 (1,99 g) quando comparado com o calcário de 126 e 163 μm ($P < 0,01$).

318 O coeficiente de retenção aparente de fósforo (CRAP) assim como
319 as quantidades de P ingerido e P excretado não foram afetadas pelo nível
320 de cálcio da dieta (Tabela 6). Já a granulometria do calcário influenciou a

321 quantidade de P ingerido ($P < 0,01$). De forma geral os menores tamanhos
322 de partícula do calcário (126, 163 e 466 μm) possibilitaram maior
323 ingestão de fósforo. É importante destacar que as quantidades de cálcio e
324 fósforo ingeridas são estritamente dependentes do consumo de ração,
325 sendo assim as aves que apresentaram maior consumo de ração também
326 apresentaram maior ingestão de Ca e P.

327 Os parâmetros bromatológicos da tíbia de frangos de corte aos 21
328 e 42 dias de idade, alimentados com diferentes níveis de cálcio e
329 granulometrias do calcário, estão apresentados nas Tabelas 8 e 9.

330

331 **Tabela 8.** Cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P) e relação cálcio:fósforo (Ca:P)
332 da tíbia de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade alimentados com
333 diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário*

334

335 **Tabela 9.** Cálcio na tíbia de frangos de corte aos 21 dias alimentados com
336 diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário*

337

338 A granulometria do calcário e o nível de cálcio da dieta não
339 influenciaram a porcentagem de cinzas, cálcio e fósforo das tíbias, exceto

340 para porcentagem de Ca na tíbia aos 21 dias, que apresentou interação
341 significativa ($P = 0,04$). Não houve diferença entre as granulometrias do
342 calcário ao utilizar 80% de cálcio da exigência ($P = 0,54$), no entanto, ao
343 elevar o nível de cálcio da dieta (100%) é possível verificar que o maior
344 tamanho de partícula (933 μm) resultou na maior concentração de cálcio
345 nos ossos.

346 O índice de Seedor (IS) e a densitometria óssea (DO) estão
347 apresentados nas Tabelas 10 e 11.

348

349 **Tabela 10.** Índice de Seedor (IS) e densitometria óssea (DO) da tíbia de
350 frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade alimentados com diferentes
351 níveis de cálcio e granulometrias do calcário*

352

353 **Tabela 11.** Densitometria óssea (DO) da tíbia de frangos de corte aos 21
354 dias de idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e
355 granulometrias do calcário*

356

357 Houve interação significativa para densitometria óssea aos 21 dias
358 de idade. À medida que o DGM do calcário aumentou, ao utilizar o nível
359 de cálcio reduzido, a densidade óssea diminuiu significativamente ($P =$

360 0,01). O maior valor de densidade foi encontrado ao combinar o DGM
361 intermediário (466 μm) com 100% de cálcio, seguido da combinação do
362 menor DGM (126 μm) com o menor nível de cálcio (80%). Essa redução
363 na densidade óssea, à medida que aumentou a granulometria do calcário,
364 não foi observada para as aves suplementadas com o nível de cálcio de
365 100%. Aos 42 dias de idade, os parâmetros de densidade óssea não foram
366 afetados pelo nível de cálcio da dieta, tampouco pelo tamanho de
367 partícula do calcário.

368 Os valores de resistência óssea expressos em carga absoluta (kN) e
369 carga em função da área transversal do osso (kN/cm^2) estão apresentados
370 nas Tabelas 12 e 13.

371

372 **Tabela 12.** Resistência óssea de frangos de corte aos 21 e 42 dias de
373 idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do
374 calcário*

375

376 **Tabela 13.** Resistência óssea (tíbia) de frangos de corte aos 21 dias de
377 idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do
378 calcário*

379

380 Os resultados de resistência óssea seguiram um padrão semelhante
381 aos resultados das análises de densidade óssea, mostrando que a
382 resistência do material está relacionada com a densidade do mesmo.
383 Apesar de não haver diferença na resistência óssea de frangos de corte aos
384 42 dias de idade, assim como não houve na densidade óssea, os resultados
385 mostram que, na fase intermediária de desenvolvimento da ave (aos 21
386 dias), o nível de cálcio e a granulometria do calcário da dieta afetam a
387 qualidade óssea dos animais. Frangos alimentados com calcários de alto
388 DGM (933 μm) apresentaram menor resistência óssea (702 vs 575
389 kN/cm^2) quando comparado aos demais. O nível de cálcio da dieta
390 contribuiu significativamente para aumentar a resistência óssea ($P < 0,01$).
391 As aves alimentadas com o nível de cálcio de acordo com a
392 recomendação da fase (100%) apresentaram maior resistência óssea
393 (0,182 vs 0,199 kN).

394 No presente estudo, foi utilizado o fosfato monoamônio como
395 fonte de fósforo para evitar o efeito do cálcio presente no fosfato
396 bicálcico, comumente utilizado. Estudos mostram que o MAP pode ser
397 utilizado como fonte de P em dietas para aves sem haver queda no
398 desempenho e qualidade óssea de frangos de corte (Queiroz et al., 2008).

399 É importante ressaltar que o tamanho de partícula do calcário está
400 diretamente relacionado à solubilidade do mesmo. Como pode ser
401 observado na Tabela 3 (seção material e métodos) a solubilidade *in vitro*
402 do calcário aumenta à medida que diminui o DGM. Sendo assim, todos os
403 resultados ligados ao tamanho de partícula também dizem respeito à
404 solubilidade do calcário.

405 No presente trabalho, a redução do nível de Ca da dieta prejudicou
406 o desempenho das aves em todas as fases de criação, fato também
407 observado por Augspurger and Baker (2004) encontrando redução linear
408 no ganho de peso das aves ao reduzir a suplementação de Ca (1,0%; 0,5%
409 e sem suplementação). No entanto, Sebastian et al. (1996) não
410 encontraram diferença significativa no desempenho de frangos ao
411 suplementar 0,6 e 1,0% Ca no período de um a 21 dias de idade. Cardoso
412 (2008) por sua vez concluiu que níveis de 0,65% Ca e 0,325% Pd (em
413 rações suplementada com fitase-500 FTU/kg) são adequados para o bom
414 desempenho e mineralização óssea de frangos de corte de oito a 35 dias
415 de idade.

416 O tamanho de partícula do calcário afetou inúmeras variáveis. O
417 DGM intermediário-fino (163 μm) proporcionou melhor desempenho

418 (945 g de GP e 1,42 de CA) até os 21 dias de idade, sendo que os maiores
419 tamanhos de partícula (466 e 933 μm) reduziram o consumo de ração e o
420 ganho de peso. Guinotte et al. (1991) avaliaram os efeitos do tamanho de
421 partícula do calcário (<0,15 mm; 0,6-1,18 mm; >1,18mm) para frangos de
422 corte sobre as características de desempenho e qualidade óssea e
423 concluíram que o calcário fino (<0,15 mm) resultou em melhor
424 desempenho. Já McNaughton (1981) relatou que o tamanho de partícula
425 do calcário médio (0,25-0,85 mm) resultou em melhor ganho de peso e
426 conversão alimentar em comparação aos maiores (0,85-1,68 mm) e
427 menores (0,074-0,15 mm) tamanhos de partícula. Managi and Coon
428 (2007) também encontraram melhor ganho de peso e conversão alimentar
429 para aves alimentadas com calcário de DGM médio (388 μm) ($P<0,001$).
430 Os mesmos autores relataram que os tratamentos com maior tamanho de
431 partícula do calcário (1.306 μm) apresentaram pior ganho de peso (0,89
432 kg) e conversão alimentar (1,63) com maior taxa de mortalidade.

433 No presente trabalho, o maior DGM (933 μm) apresentou o pior
434 desempenho até os 21 dias de idade, porém, após os 35 dias, o consumo
435 de ração e o ganho de peso foram compensados, se igualando aos demais
436 (126, 163 e 466 μm). O ganho compensatório pode ser uma explicação

437 para a retomada do desempenho. Esse fato indica que o tamanho de
438 partícula do calcário tem maior influência sobre as fases iniciais de
439 criação. À medida que a ave se desenvolve, sua capacidade de ingestão
440 aumenta, passando a tolerar dietas com partículas mais grosseiras. O
441 DGM do milho, por exemplo, é indicado para fase de crescimento por
442 volta de 868 μm (Ribeiro et al., 2002).

443 O interessante é que a conversão alimentar respectiva ao DGM
444 163 μm se igualou à conversão alimentar do DGM 933 μm , sendo que os
445 mesmos apresentaram desempenhos totalmente opostos. Apesar do
446 mesmo valor de conversão alimentar (1,42), o consumo de ração e o
447 ganho de peso foram significativamente ($P < 0,05$) diferentes. Dessa
448 forma, fica claro que a avaliação da CA por si só não representa o
449 desempenho da ave. Um baixo valor de CA nem sempre está aliado a um
450 alto ganho de peso.

451 Ao analisar os resultados do ensaio de metabolismo é possível
452 verificar que o coeficiente de retenção aparente de cálcio (CRACa) foi
453 maior quando se utilizou o menor nível de cálcio na dieta (80%). O
454 aumento da quantidade de Ca ingerido e excretado também foi
455 significativo entre os dois níveis de Ca suplementados (80 e 100%). A

456 diferença na quantidade de cálcio ingerido era esperada, uma vez que as
457 dietas continham quantidades distintas do mineral. Já a quantidade de
458 cálcio excretado não poderia ser prevista com tanta precisão. Os dados
459 mostram que ao reduzir o nível de cálcio da dieta em 20% a ingestão de
460 cálcio (CaI, na Tabela 6) reduziu na mesma magnitude (21%). No entanto
461 a redução na excreção de cálcio (CaE) foi mais expressiva, reduzindo em
462 29% ao reduzir o nível de Ca da dieta.

463 O maior CRACa aliado a menor excreção de Ca evidencia a
464 capacidade da ave em otimizar a absorção do mineral quando os níveis
465 dietéticos são reduzidos. A menor ingestão de cálcio por sua vez,
466 evidencia o fato da ave não compensar o consumo em função do nível de
467 cálcio da dieta, como pode ocorrer para outros nutrientes. Yan et al.
468 (2005) observaram maior absorção de cálcio e fósforo em dietas com
469 níveis reduzidos desses minerais (0,3% Pd e 0,6% Ca). Já o coeficiente de
470 retenção aparente de fósforo (CRAP) não foi afetado pelo nível de cálcio
471 da dieta ou pela granulometria do calcário, indicando que sua absorção
472 não foi influenciada pela quantidade de cálcio solúvel no lúmen intestinal.
473 No entanto, Plumstead et al. (2008) ao elevarem o nível de cálcio da dieta

474 de 0,47 para 1,16% verificaram uma redução significativa na
475 digestibilidade do P de aproximadamente 20% em aves de 21 dias.

476 Ao avaliar níveis de cálcio (0,6 e 1,0%) e fósforo disponível (0,28;
477 0,34; 0,40; 0,46; 0,52%) em dietas para frangos, Queiroz et al. (2008) não
478 observaram diferença no coeficiente de retenção de P quando se utilizou
479 0,6% de Ca, porém ao nível de 1,0% de Ca, o coeficiente de retenção de
480 fósforo teve comportamento linear diminuindo à medida que se aumentou
481 o nível de P da dieta.

482 No presente trabalho, a quantidade total de P ingerido foi
483 prejudicada pelo reduzido consumo de ração das aves que receberam o
484 maior DGM (933 μm), não sendo afetado pelo nível de cálcio da dieta.

485 A granulometria do calcário, assim como o nível de cálcio da
486 dieta, afetou o coeficiente de retenção aparente de Ca (CRACa). Os
487 maiores tamanhos de partícula do calcário (466 e 933 μm) reduziram o
488 CRACa em comparação aos menores DGM (126 e 163 μm). Ao contrário
489 do que se observa em galinhas poedeiras, em que o maior tamanho de
490 partícula do calcário proporciona maior retenção de cálcio (Fassani et al.,
491 2003) em frangos de corte a retenção é prejudicada. Esse fato sugere que
492 a solubilidade *in vitro* e *in vivo* do calcário para frangos seja diretamente

493 proporcional, uma vez que altas solubilidades (baixo DGM)
494 proporcionam maior CRACa.

495 Apesar das aves suplementadas com maior granulometria (933
496 μm) terem apresentado pior desempenho e menor retenção de cálcio, a
497 porcentagem de cálcio na tíbia dessas aves foi significativamente maior
498 em comparação às demais. Porém, os parâmetros ósseos, cinzas,
499 densidade e resistência foram inferiores para as aves suplementadas com
500 a maior granulometria do calcário. Essas informações são contraditórias,
501 pois não há motivo óbvio para a porcentagem de cálcio nos ossos dessas
502 aves ser maior enquanto todos os outros parâmetros ósseos foram
503 inferiores.

504 Os parâmetros ósseos foram afetados somente aos 21 dias de idade
505 das aves, de forma que aos 42 dias não houve diferença significativa entre
506 os níveis dos fatores estudados. Além de compensar o consumo de ração
507 e o ganho de peso, as aves chegaram aos 42 dias de idade sem diferença
508 na qualidade óssea.

509 O tratamento com DGM 126 μm + 80% (Ca) juntamente com o
510 DGM 466 μm + 100% (Ca) apresentaram a mesma densitometria óssea
511 (2,412 e 2,421 mmAl respectivamente). A comparação entre esses dois

512 tratamentos é interessante, pois calcários com solubilidades diferentes (25
513 e 18%) proporcionaram a mesma densidade óssea. O maior nível de
514 cálcio provavelmente compensou a menor solubilidade do calcário para o
515 tratamento com maior granulometria. Ao considerar a densidade do osso,
516 podemos perceber que ao utilizar calcários com alta solubilidade, pode-se
517 reduzir o nível de cálcio da dieta, no entanto, ao utilizar calcários com
518 menor solubilidade o nível de cálcio da dieta deve ser aumentado.

519 A resistência óssea foi inferior para a combinação do DGM 933
520 μm com nível reduzido de Ca (80%). A baixa solubilidade *in vitro*
521 (10,34%) pode ter intensificado a restrição na suplementação de Ca. A
522 formulação baseada em Ca total desconsidera o fato do tamanho de
523 partícula influenciar a quantidade efetiva de cálcio disponível. Dessa
524 forma, o respectivo tratamento (933 μm + 80%) pode ter sofrido, na
525 prática, uma restrição maior do que os 20% previstos na formulação.

526 A relação Ca:P também deve ser levada em consideração. A
527 formulação resultou em dietas com relações Ca:P entre 1,61 e 2,17, no
528 entanto, o cálcio não solubilizado dos maiores tamanhos de partícula
529 alterariam essa relação se pudessem ser contabilizados.

530 Provavelmente esse tratamento apresentou baixos níveis séricos de
531 cálcio, estimulando assim a secreção de PTH e ativação da vitamina D₃,
532 que por sua vez estimularam a absorção intestinal e a reabsorção óssea de
533 cálcio. Não havendo quantidade suficiente de Ca no lúmen intestinal, a
534 quantidade de cálcio mobilizada dos ossos para repor a calcemia foi
535 maior.

536 Porém, o resultado de porcentagem de Ca na tíbia contradiz essa
537 ideia, pois esse tratamento (933 $\mu\text{m} + 80\%$) apresentou maior
538 porcentagem de Ca na tíbia, indicando que não houve reabsorção intensa.
539 No entanto, todos os outros dados de qualidade óssea indicam esse
540 caminho. Erros de amostragem e análise podem ter ocasionado esse
541 resultado controverso.

542 Delezie et al. (2012) avaliaram dois níveis de cálcio e dois níveis
543 de fósforo (alto e baixo) na dieta de frangos de corte. Dentre os
544 tratamentos com a relação Ca:P balanceada, alto Ca + alto P e baixo Ca +
545 baixo P não houve diferença no desempenho nem na mineralização óssea.
546 Os animais apresentaram maior retenção de P na dieta baixo Ca + baixo P
547 em comparação a alto Ca + alto P. Resultados semelhantes foram
548 encontrados por outros autores (Ravindran et al., 2000; Manangi and

549 Coon, 2008). Em contrapartida Queiroz et al. (2008) verificaram maior
550 retenção de P para dietas com alto Ca + baixo P, ou seja, uma dieta
551 desbalanceada quanto a relação Ca:P. Segundo Delezie et al. (2012), não
552 há vantagem em fornecer altos níveis de Ca e P.

553 Walk et al. (2012) observaram uma redução na quantidade de
554 cinzas ósseas ao reduzir o nível de cálcio da dieta (1,03 para 0,64% Ca),
555 assim como Sebastian et al. (1996) (1,0 para 0,60%Ca). No entanto,
556 Powell et al. (2011) verificaram o oposto ao usar dietas com 1,33 e 0,67%
557 Ca, em que as aves alimentadas com rações contendo 0,67% Ca
558 apresentaram maior porcentagem de cinzas ósseas. Essas diferenças
559 encontradas na literatura devem ser consequência da diferença nos níveis
560 de P e na relação Ca:P das dietas experimentais. Por exemplo, Powell
561 utilizou 0,20% P não fítico e Sebastian utilizou 0,31% P disp, semelhante
562 a Walk et al. (2012) que utilizou 0,32% P disp.

563 Ao avaliar a influência da relação Ca:P sobre o ganho de peso e
564 cinzas ósseas (nos dedos) de frangos, Qian et al. (1997) relataram uma
565 melhora de 24% e 15%, respectivamente, em aves alimentadas com níveis
566 baixo de Ca e P (1,1:1) comparado a aves alimentadas com alto nível de
567 Ca e baixo nível de P (2:1).

568 Altos níveis de cálcio ou elevada relação Ca:P têm sido associados
569 ao fraco desempenho em frangos (Sebastian et al., 1996), utilização
570 ineficiente de Ca e P (Qian et al., 1996a; Liu et al., 2000; Tamin and
571 Angel, 2003), reduzida eficiência da fitase (Qian et al., 1996b; Tamin and
572 Angel, 2003), menor cinza nos ossos (Sebastian et al., 1996) e menor
573 retenção de Ca (Al-Marsi, 1995).

574 O pH do trato digestório afeta diretamente a solubilidade das
575 fontes de cálcio e fósforo, assim como a absorção dos mesmos. O
576 calcário, por exemplo, apresenta maior solubilidade em meio ácido,
577 porém o mesmo tem efeito tamponante, tornado o meio mais alcalino.
578 Walk et al. (2012) verificaram em ensaios *in vitro* que a solubilidade do
579 cálcio e do fósforo foi diferente para as fases “gástrica” e
580 “intestinal”. Em outro estudo, agora *in vivo*, Walk et al. (2012)
581 comprovaram o aumento do pH na moela e no íleo distal de frangos ao
582 suplementar 1,03 e 0,64% de Ca. O aumento da inclusão de calcário
583 aumentou o pH da moela em frangas (Guinotte et al., 1995) assim como
584 no papo e íleo de frangos aos 12 dias de idade (Shafey et al., 1991),
585 porém, não influenciou o pH na moela e intestino de poedeiras adultas
586 (Guinotte et al., 1995; Gordon and Roland, 1997).

587 Ao testar diversos tamanhos de partícula do calcário (28, 137, 99,
588 388, 519, 760, 796, 1306 μm) Managi and Coon (2007) verificaram maior
589 valor percentual de retenção de Ca (70,49%) para o maior DGM (1.306
590 μm) sendo que penúltimo maior DGM (796 μm) apresentou o pior
591 coeficiente de retenção de Ca (61,29%). O exato motivo para essas duas
592 granulometrias (próximas) se diferenciarem quanto à retenção de Ca não
593 foi justificada pelos autores. Porém, no presente trabalho foi observado,
594 durante as coletas de excreta do ensaio de metabolismo, que ao
595 suplementar o maior tamanho de partícula (933 μm), grânulos intactos de
596 calcário estavam presentes nas excretas. Essa variação entre 796 μm e
597 1.306 μm encontrada por Managi and Coon (2008) pode ser exatamente o
598 tamanho de partícula que permite retenção na moela de frangos. As
599 granulometrias inferiores a 519 μm se equivaleram, por volta de 65% de
600 retenção de Ca.

601 De uma forma geral, o presente trabalho constatou que o reduzido
602 nível de cálcio da dieta prejudicou o desempenho das aves, aumentou o
603 coeficiente de retenção aparente de Ca (CRACa) reduzindo a excreção do
604 mesmo.

605 Já o alto DGM prejudicou o desempenho na fase inicial, reduziu o
606 CRACa, aumentou a excreção de Ca e diminuiu a ingestão de Ca e P,
607 reduzindo também a densidade e a resistência óssea na fase inicial,
608 porém, sem afetar o desenvolvimento ósseo e o desempenho no período
609 como um todo.

610

611

CONCLUSÃO

612 A redução do nível de cálcio da dieta em 20% e o aumento do
613 tamanho de partícula do calcário prejudicam o desempenho, qualidade
614 óssea e retenção de cálcio em frangos de corte.

615 Novos experimentos devem ser feitos utilizando menores
616 intervalos entre as granulometrias do calcário para identificar diferenças
617 mais sutis entre os efeitos das granulometrias.

618 A avaliação do calcário deve ser feita em conjunto com outros
619 fatores, de forma a representar melhor as interações existentes no trato
620 gastrointestinal.

621

622

REFERÊNCIAS

623

624

625 Al-Masri, M. R. 1995. Absorption and endogenous excretion of phosphorus in
626 growing broiler chicks, as influenced by calcium and phosphorus ratios in feed.
627 Br. J. Nutr. 74:407–415.

628

629 American Society of Agricultural Engineers. 1983. Method of determining and
630 expressing fineness of feed materials by sieving. In: __. American Society of
631 Agricultural Engineers Yearbook Standarts. American Society of Agricultural
632 Engineers, St. Joseph.

633

634 AOAC. 1990. Association of official agricultural chemists. Official methos of
635 analysis of the association of official analytical chemist. 15 ed., AOAC,
636 Arlington.

637

638 Augspurger, N. R., and D. H. Baker. 2004. Phytase improves dietary calcium
639 utilization in chicks, and oyster shell, carbonate, citrate, and citrate-malate forms
640 of calcium are equally bioavailable. Nutr. Res. 24:293–301.

641

642 Avisite. 2014. Avisite o portal da avicultura na internet. Accessed in mar. 2014.
643 <http://www.avisite.com.br/>.

644 Cardoso, A. Jr. 2008. Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações
645 suplementadas com fitase para frangos de corte na fase de oito a 35 dias de
646 idade. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

647

648 Cheng, T. K., and C. N. Coon. 1990. Comparasion of various in vitro methods
649 for the determination of limestone solubility. *Poult. Sci.* 69:2204-2208.

650

651 Delezie, E., L. Maertens, and G. Huyghebaert. 2012. Consequences of
652 phosphorus interactions with calcium, phytase, and cholecalciferol on
653 zootechnical performance and mineral retention in broiler chickens. *Poult. Sci.*
654 91:2523–2531

655

656 Fassani, E. J. 2003. Características físico-químicas de calcários calcítico do
657 Estado de Minas Gerais, utilizados em rações para poedeiras. Tese de
658 Doutorado, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

659

660 Gordon, R. W., and D. A. Roland. 1997. The influence of environmental
661 temperature on in vivo limestone solubilization, feed passage rate, and
662 gastrointestinal pH in laying hens. *Poult. Sci.* 76:683–688.

663

664 Guinotte, F., Y. Nys, and F. de Monredon. 1991. The effects of particle size and
665 origin of calcium carbonate on performance and ossification characteristics in
666 broiler chicks. *Poult. Sci.* 70:1908-1920.

667

668 Guinotte, F., J. Gautron, Y. Nys, and A. Soumarmon. 1995. Calcium
669 solubilization and retention in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus*
670 *domesticus*) as a function of gastric acid secretion inhibition and of calcium
671 carbonate particle size. *Br. J. Nutr.* 73:125–139.

672

673 Liu, J., D. W. Bollinger, D. R. Ledoux, and T. L. Veum. 2000. Effects of dietary
674 calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in
675 the small intestine, cecum, and colon of pigs. *J. Anim. Sci.* 78:106–109.

676

677 Louzada, M. J. Q. 1994. Otimização da técnica de densitometria óptica em
678 imagens radiográficas de peças ósseas. Estudo In Vitro. Tese de Doutorado,
679 Faculdade de Engenharia Elétrica, Universidade Estadual de Campinas,
680 Campinas.

681

682 Manangi, M. K., and C. N. Coon. 2007. The Effect of Calcium Carbonate
683 Particle Size and Solubility on the Utilization of Phosphorus from Phytase for
684 Broilers. *Int. J. Poult. Sci.* 6: 85-90.

685 Manangi, M. K., and C. N. Coon. 2008. Phytate phosphorus hydrolysis in
686 broilers in response to dietary phytase, calcium, and phosphorus concentrations.
687 *Poult. Sci.* 87:1577–1586.

688

689 McNaughton, J. L. 1981. Effect of calcium carbonate particle size on the
690 available phosphorus requirement of broiler chicks. *Poult. Sci.* 60:197-203.

691

692 Plumstead, P. W., A. B. Leytem, R. O. Maguire, J. W. Spears, P. Kwanyuen,
693 and J. Brake. 2008. Interaction of calcium and phytate in broiler diets: 1. Effects
694 on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. *Poult. Sci.*
695 87:449–458.

696

697 Powell, S., T. D. Bidner, and L. L. Soutjer. 2011. Phytase supplementation
698 improved growth performance and bone characteristics in broilers fed varying
699 levels of dietary calcium. *Poult. Sci.* 90:604–608.

700

701 Qian, H., E. T. Kornegay, and D. M. Denbow. 1996a. Phosphorus equivalence
702 of microbial phytase in turkey diets as influenced by Ca:P ratios and P levels.
703 *Poult. Sci.* 75:69–81.

704

705

706 Qian, H., E. T. Kornegay, and D. E. Conner Jr. 1996b. Adverse effects of wide
707 calcium:phosphorus ratios on supplemental phytase efficacy for weanling pigs
708 fed low dietary phosphorus levels. *J. Anim. Sci.* 74:1288–1297.

709

710 Qian, H., E. T. Kornegay, and D. M. Denbow. 1997. Utilization of phytate
711 phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and
712 the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. *Poult. Sci.* 76:37–46.

713

714 Queiroz, L. S. B., A. G. Bertechini, P. B. Rodrigues, and M. C. Guerreiro. 2008.
715 Biodisponibilidade relativa do fósforo de fosfatos comerciais para frangos de
716 corte na fase inicial. *Pesq. Agrop. Bras.* 43:1421-1427.

717

718 R Core Team. 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R
719 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

720

721 Ravindran, V., S. Cabhug, G. Ravindran, P. H. Selle, and W. L. Bryden. 2000.
722 Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced
723 by dietary phytic acid and nonapparent phytate phosphorus concentrations. II
724 Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutriente
725 retention. *Br. Poult. Sci.* 41:193–200.

726

727 Ribeiro, A. M. L., N. Magro, and A. M. Penz Jr. 2002. Granulometria do milho
728 em rações de crescimento de frangos de corte e seu efeito no desempenho e
729 metabolismo. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 4:1-7.

730

731 Rostagno, H. S. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de
732 alimentos e exigências nutricionais. 3 ed., UFV, Viçosa-MG.

733

734 Sakomura, N. K., and S. H. Rostagno. 2007. Métodos de pesquisa em nutrição
735 de monogástricos. FUNEP, Jaboticabal.

736

737 Sebastian, S., S. P. Touchburn, E. R. Chavez, and P. C. Lague. 1996. Efficacy of
738 supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth
739 performance and mineral utilization of broiler chicks. *Poult. Sci.* 75:1516–1523.

740

741 Shafey, T. M., M. W. McDonald, and J. G. Dingle. 1991. Effects of dietary
742 calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on the
743 availability of calcium, iron, magnesium, and zinc from the intestinal content of
744 meat chickens. *Br. Poult. Sci.* 32:185–194.

745

746 Sindirações. 2013. Boletim informativo do setor-Dezembro/2013. Accessed Feb.
747 2014. <http://sindiracoes.org.br/produtos-e-servicos/boletim-informativo-do->
748 [setor/](http://sindiracoes.org.br/produtos-e-servicos/boletim-informativo-do-setor/).

749

750 Tamim, N. M., and R. Angel. 2003. Phytate phosphorus hydrolysis as influenced
751 by dietary calcium and micro-mineral source in broiler diets. *J. Agric. Food*
752 *Chem.* 51:4687–4693.

753

754 Walk, C. L., M. R. Bedford, and A. P. McElroy. 2012. Influence of limestone
755 and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal
756 nutrient digestibility. *Poult. Sci.* 91:1371–1378.

757

758 Yan, F., R. Angel, C. Ashwell, A. Mitchell, and M. Christman. 2005. Evaluation
759 of the broiler's ability to adapt to an early moderate deficiency of phosphorus
760 and calcium. *Poult. Sci.* 84:1232-1241.

761

762 Zanotto, D. L., and C. Bellaver. 1996. Método de determinação da granulometria
763 de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. EMBRAPA-CNPSA,
764 Concórdia.

765

766

767 **Tabela 1.** Tratamentos experimentais, combinação dos níveis de cálcio
 768 com as granulometrias do calcário

Tratamento	Cálcio (%) ¹	DGM (µm) ²
1	100	126
2	100	163
3	100	466
4	100	933
5	80	126
6	80	163
7	80	466
8	80	933

769 ¹ Porcentagem de cálcio na ração em relação a exigência da aves onde 100% é o valor recomendado para cada
 770 fase e 80% é o valor recomendado para cada fase com 20% de redução.

771 ² Diâmetro geométrico médio do calcário calcítico que corresponde a granulometria do mesmo.

772

773 **Tabela 2.** Granulometria e solubilidade *in vitro* dos calcários estudados

Variável	Calcário Calcítico			
	1	2	3	4
DGM (µm) ¹	126	163	466	933
DPG ²	2,73	3,57	2,63	1,33
SIV ³	25,35	25,42	18,79	10,34

774 ¹Diâmetro geométrico médio em micrometros. ²Desvio padrão geométrico. ³Solubilidade
 775 *in vitro*.

776

777 **Tabela 3.** Composição percentual e nutricional das rações experimentais
 778 de acordo com a fase de criação

Ingrediente (%)	Fase de Criação							
	Pré-Inicial		Inicial		Crescimento		Final	
	Recomendação de Cálcio (%)							
	100	80	100	80	100	80	100	80
Milho	2,60	3,61	5,36	6,28	8,54	9,38	3,18	3,87
Farelo de Soja, 46%	9,40	9,21	6,46	6,30	2,83	2,68	8,88	8,75
Óleo de Soja	2,99	3,64	3,76	3,45	4,62	4,34	4,43	4,19
Calcário Calcítico ¹	2,15	1,66	1,96	1,51	1,76	1,35	1,44	1,10
Fosfato Monoamônio	1,36	1,36	1,11	1,11	0,95	0,95	0,80	0,80
Sal	0,51	0,51	0,48	0,48	0,46	0,46	0,45	0,45
L-Lisina HCl, 79%	0,27	0,27	0,22	0,22	0,22	0,22	0,25	0,25
DL-Metionina, 98%	0,37	0,36	0,31	0,31	0,29	0,29	0,27	0,27
L-Treonina, 99%	0,11	0,11	0,07	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07
Cloreto Colina ² , 60%	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Premix Mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix Vitaminico ⁴	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Salinomicina ⁵ , 12%	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Bacitracina Zn ⁶ , 15%	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	-	-
Composição Nutricional Calculada (matéria natural)								
EM (kcal/kg)	2960	2960	3050	3050	3150	3150	3200	3200
Proteína Bruta (%)	22,4	22,4	21,2	21,2	19,8	19,8	18,4	18,4
Lisina (%), dig	1,32	1,32	1,22	1,22	1,13	1,13	1,06	1,06
Metionina (%), dig	0,66	0,66	0,59	0,59	0,56	0,56	0,52	0,52
Met+Cis (%), dig	0,96	0,96	0,88	0,88	0,83	0,83	0,77	0,77
Treonina (%), dig	0,86	0,86	0,79	0,79	0,74	0,74	0,69	0,69
Na (%)	0,22	0,22	0,21	0,21	0,20	0,20	0,19	0,19
Ca (%)	0,92	0,74	0,84	0,67	0,76	0,61	0,63	0,50
P disponível (%)	0,47	0,47	0,40	0,40	0,35	0,35	0,31	0,31
Composição Nutricional Analisada (matéria natural)								
Matéria Seca (%)	88,37	88,23	88,52	88,61	88,64	88,44	88,46	88,39
Cinzas (%)	5,29	4,86	5,10	4,70	4,89	4,11	4,24	3,85
Cálcio (%)	0,90	0,71	0,77	0,65	0,73	0,61	0,58	0,46
Fósforo Total (%)	0,73	0,72	0,60	0,59	0,53	0,55	0,51	0,49

779 ¹Para compor os tratamentos foi utilizado a quantidade de calcário descrita na fórmula substituindo as
 780 granulometrias (126µm, 163 µm, 466 µm, 933 µm) no momento da mistura da ração. ²Cloreto de colina 60%.
 781 ³Enriquecimento por quilograma de ração: Manganês, 80 mg; Zinco, 50 mg; Ferro, 50 mg; Cobre, 10 mg; Iodo,
 782 1000 µg. ⁴Enriquecimento por quilograma de ração: Vit. A, 9000 UI; Vit. E, 20 UI; Vit. K₃, 2,5 mg; Vit. B₁,
 783 1,5 mg; Vit. B₂, 6,0 mg; Vit. B₁₂, 12 µg; Niacina, 25 mg; Ácido fólico, 800 µg; Ácido pantotênico, 12 mg;
 784 Biotina, 60 µg; Se, 0,25 mg. ⁵Salinomicina 12% (anticoccidiano). ⁶Bacitracina de Zinco 15%.

785

786

787

788 **Tabela 2.** Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão
 789 alimentar (CA) de frangos de corte aos sete, 21, 35 e 42 dias de idade
 790 alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário

Resposta	Cálcio (%) ¹		P	DGM (µm) ²				P	Ca*DGM	CV ³
	80	100		126	163	466	933			
	1-7 dias									
CR (g)	153	150	-	155	155	153	142	-	0,0432	3,18
GP (g)	134	135	0,3684	137 a	137 a	135 a	127 b	<0,0001	0,0620	3,06
CA (g/g)	1,138	1,108	0,0001	1,124	1,124	1,131	1,113	0,2131	0,3993	9,39
	1-21 dias									
CR (g)	1318	1319	0,9497	1331 a	1339 a	1328 a	1279 b	<0,0001	0,0885	1,17
GP (g)	904	939	<0,0001	926 b	945 a	913 bc	903 c	0,0003	0,0721	2,31
CA (g/g)	1,4657	1,404	<0,0001	1,44 ab	1,42 b	1,46 a	1,42 b	0,0016	0,0831	1,77
	1-35 dias									
CR (g)	3634	3650	0,4952	3656	3641	3644	3625	0,8222	0,3693	2,19
GP (g)	2219	2286	0,0007	2230	2285	2239	2257	0,1678	0,8321	2,79
CA (g/g)	1,638	1,597	0,0001	1,641 a	1,594 c	1,628 ab	1,607 bc	0,0054	0,3161	2,00
	1-42 dias									
CR (g)	4954	4947	0,8247	4954	4963	4955	4929	0,8665	0,3103	2,80
GP (g)	2858	2901	0,0455	2874	2904	2862	2877	0,5323	0,5480	2,47
CA (g/g)	1,734	1,706	0,0014	1,724	1,710	1,732	1,713	0,2033	0,1120	1,61

791 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de
 792 Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 793 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 794 variação. *Probabilidade da interação entre o nível de cálcio e granulometria do calcário. (-)Os
 795 fatores não foram estudados separadamente em caso de interação significativa (p<0,05).
 796

797 **Tabela 3.** Consumo de ração (CR) de frangos de corte de um a sete dias
 798 de idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do
 799 calcário

Cálcio (%) ¹	DGM (μm) ²				P	CV ³
	126	163	466	933		
	CR (g)					
80	156 a	154 a	153 a	147 b	<i>0,0515</i>	
100	153 a	155 a	153 a	137 b	<i>0,0131</i>	3,18
<i>P</i>	<i>0,372</i>	<i>0,765</i>	<i>0,952</i>	<i>0,001</i>	<i>0,043*</i>	

800 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste
 801 Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 802 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 803 variação. *Probabilidade da interação entre os níveis de cálcio e as granulometrias do calcário.
 804

805 **Tabela 4.** Coeficiente de retenção aparente de cálcio (CRACa),
 806 coeficiente de retenção aparente de P (CRAP), cálcio total ingerido (CaI),
 807 cálcio total excretado (CaE), fósforo total ingerido (PI) e fosforo total
 808 excretado (PE) para frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados
 809 com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário

Resposta	Cálcio (%) ¹			DGM (µm) ²				P	Ca*DGM	CV ³
	80	100	P	126	163	466	933			
CaI (g)⁴	2,66	3,36	<0,0001	3,11 a	2,98 ab	3,08 a	2,87 b	0,0072	0,0976	5,84
CaE (g)⁴	1,55	2,18	<0,0001	1,83 b	1,76 b	1,88 ab	1,99 a	0,0015	0,4906	7,06
CRACa										
(%)	41,48	35,10	-	41,54	41,36	39,26	31,01	-	0,0043	8,12
PI (g)⁴	2,33	2,40	0,1227	2,45 a	2,33 ab	2,42 a	2,26 b	0,0095	0,1093	5,98
PE (g)⁴	1,16	1,17	0,7077	1,19	1,13	1,21	1,12	0,2061	0,3102	9,85
CRAP										
(%)	50,46	51,13	0,5356	51,54	51,41	50,10	50,13	0,6556	0,8404	7,28

810 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de
 811 Studen-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 812 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 813 variação. ⁴As médias estão expressas em gramas de cálcio e fósforo total /ave / três dias de coleta.
 814 *Probabilidade da interação entre o nível de cálcio e granulometria do calcário. (-)Os fatores não
 815 foram estudados separadamente em caso de interação significativa (P<0,05).

816

817

818 **Tabela 5.** Coeficiente de retenção aparente de cálcio (CRACa) para
 819 frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com diferentes níveis
 820 de cálcio e granulometrias do calcário

Cálcio (%) ¹	DGM (μm) ²				P	CV ³
	126	163	466	933		
	CRACa (%)					
80	47,47 a	43,55 b	40,41 b	34,49 c	<0,0001	
100	35,61 a	39,16 a	38,10 a	27,53 b	<0,0001	8,12
<i>P</i>	<0,0001	0,0196	0,2050	0,0039	0,0043*	

821 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste
 822 Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 823 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 824 variação. *Probabilidade da interação entre os níveis de cálcio e as granulometrias do calcário.

825

826

827

828

829

830

831

832

833

834

835 **Tabela 6.** Cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P) e relação cálcio:fósforo (Ca:P)
 836 da tíbia de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade alimentados com
 837 diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário

Resposta	Cálcio (%) ¹			DGM (µm) ²				P	Ca*DGM	CV ³
	80	100	P	126	163	466	933			
21 dias										
Cinzas										
(%)	47,96	48,49	0,3129	48,59	47,84	47,93	48,53	0,6251	0,3323	3,69
Ca (%)	12,72	12,81	-	12,53	12,51	12,72	13,31	-	0,0477	6,03
P (%)	8,71	8,69	0,8341	8,66	8,61	8,77	8,75	0,6513	0,1578	4,09
Ca:P	1,462	1,474	0,5948	1,446	1,452	1,451	1,520	0,0640	0,1207	5,13
42 dias										
Cinzas										
(%)	53,00	53,43	0,1058	53,57	53,61	52,87	52,80	0,0536	0,6233	1,70
Ca (%)	20,77	20,97	0,3232	21,03	20,76	20,69	21,00	0,4995	0,1956	3,17
P (%)	9,66	9,71	0,7300	9,90	9,72	9,42	9,70	0,1124	0,2426	4,84
Ca:P	2,153	2,161	0,7893	2,131	2,137	2,193	2,166	0,4667	0,2345	4,97

838 ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio
 839 expresso em micrômetros. ³Coefficiente de variação. *Probabilidade da interação entre o nível de
 840 cálcio e granulometria do calcário. (-)Os fatores não foram estudados separadamente em caso de
 841 interação significativa (P<0,05).

842

843

844 **Tabela 7.** Cálcio na tíbia de frangos de corte aos 21 dias alimentados com
 845 diferentes níveis de cálcio e granulometrias do calcário

Cálcio (%) ¹	DGM (µm) ²				P	CV ³
	126	163	466	933		
	Cálcio (%)					
80	12,57	12,96	12,42	12,93	<i>0,5443</i>	
100	12,48 b	12,05 b	13,01 ab	13,69 a	<i>0,0052</i>	6,03
<i>P</i>	<i>0,8379</i>	<i>0,0471</i>	<i>0,1981</i>	<i>0,0977</i>	<i>0,0477*</i>	

846 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste
 847 Studen-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 848 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 849 variação. *Probabilidade da interação entre os níveis de cálcio e as granulometrias do calcário.

850

851

852

853

854

855

856

857

858

859

860

861 **Tabela 8.** Índice de Seedor (IS) e densitometria óssea (DO) da tíbia de
 862 frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade alimentados com diferentes
 863 níveis de cálcio e granulometrias do calcário

Resposta	Cálcio (%) ¹		P	DGM (µm) ²				P	Ca*DGM	CV ³
	80	100		126	163	466	933			
21 dias										
DO										
(mmAl) ⁴	2,298	2,332	-	2,363	2,303	2,319	2,276	-	0,0028	5,65
IS										
(mg/mm)	32,49	33,17	0,2482	33,54 ab	33,82 a	32,36 ab	31,59 b	0,0365	0,3422	6,15
42 dias										
DO										
(mmAl) ⁴	2,624	2,710	0,2060	2,766	2,648	2,631	2,624	0,4026	0,3183	8,64
IS										
(mg/mm)	57,00	57,89	0,4145	57,24	58,75	56,75	57,05	0,5663	0,1947	6,50

864 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de
 865 Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 866 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 867 variação. ⁴Densitometria óssea expressa em milímetros de alumínio. *Probabilidade da interação
 868 entre o nível de cálcio e granulometria do calcário. (-)Os fatores não foram estudados
 869 separadamente em caso de interação significativa (P<0,05).

870

871

872 **Tabela 9.** Densitometria óssea (DO) da tíbia de frangos de corte aos 21
 873 dias de idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e
 874 granulometrias do calcário

Cálcio (%) ¹	DGM (μm) ²				P	CV ³
	126	163	466	933		
	DO (mmAl) ⁴					
80	2,412 a	2,374 a	2,216 b	2,190 b	<i>0,0105</i>	
100	2,314	2,231	2,421	2,361	<i>0,0978</i>	5,65
<i>P</i>	<i>0,2030</i>	<i>0,0666</i>	<i>0,0100</i>	<i>0,0297</i>	<i>0,0028*</i>	

875 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste
 876 Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 877 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 878 variação. ⁴Densitometria óssea expressa em milímetros de alumínio. *Probabilidade da interação
 879 entre os níveis de cálcio e as granulometrias do calcário.
 880

881

882

883

884

885

886

887

888

889

890

891

892

893

894

895 **Tabela 10.** Resistência óssea de frangos de corte aos 21 e 42 dias de
 896 idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do
 897 calcário

Resistência (Tíbia)	Cálcio (%) ¹		P	DGM (µm) ²				P	Ca*DGM	CV ³
	80	100		126	163	466	933			
21 dias										
Kn	0,182	0,199	0,001	0,196 a	0,197 a	0,196 a	0,173 b	0,002	0,2749	8,69
kN/cm²	0,670	0,729	-	0,699	0,723	0,730	0,646	-	0,0457	9,17
kN	0,386	0,401	0,461	0,389	0,413	0,398	0,375	0,570	0,8114	17,04
kN/cm²	0,624	0,654	0,303	0,638	0,656	0,619	0,643	0,838	0,4393	15,84

898 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de
 899 Studen-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 900 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 901 variação. *Probabilidade da interação entre o nível de cálcio e granulometria do calcário. (-)Os
 902 fatores não foram estudados separadamente em caso de interação significativa (P<0,05).

903

904

905

906 **Tabela 11.** Resistência óssea (tíbia) de frangos de corte aos 21 dias de
 907 idade alimentados com diferentes níveis de cálcio e granulometrias do
 908 calcário

Cálcio (%) ¹	DGM (μm) ²				P	CV ³
	126	163	466	933		
	kN/cm ²					
80	0,675 a	0,729 a	0,701 a	0,575 b	0,0012	
100	0,723	0,716	0,759	0,717	0,6217	9,17
<i>P</i>	0,2080	0,7411	0,1263	0,0016	0,0457*	

909 a,b Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste
 910 Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ¹Porcentagem de cálcio da dieta em relação a
 911 exigência da ave. ²Diâmetro geométrico médio expresso em micrômetros. ³Coefficiente de
 912 variação. *Probabilidade da interação entre os níveis de cálcio e as granulometrias do calcário.

(VERSÃO PRELIMINAR)