



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

NÍVEIS DE VITAMINA D NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE; FORÇA DE RUPTURA DA TÍBIA E MORFOLOGIA

Roselaine Ponso¹; Rodrigo Garófallo Garcia²; Fabrício Eugênio Araújo³; Nilsa Duarte da Silva Lima⁴

¹ Pós-doutoranda bolsista da FUNDECT/CNPQ - UFGD-FCA, C. Postal 533, CEP 79804-970 Dourados-MS, E-mail: roselaineponso@ufgd.edu.br

² Professor do curso de Zootecnia, UFGD/FCA

^{3,4} Mestrando em Zootecnia.

RESUMO

A vitamina D destaca-se por ser essencial para nutrição animal e por estar envolvida em vários processos fisiológicos. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar características ósseas, níveis de cálcio e fósforo e morfologia em tíbias de frangos de corte de três linhagens comerciais suplementados com três diferentes níveis de vitamina D. Para isto avaliou-se resistência óssea a quebra, teor destes minerais e morfologia em tíbias de frango de corte, alimentados com níveis adequados destes minerais. No estudo foi utilizado um total de 468 pintos machos de um dia, de três linhagens comerciais, criados em baterias metálicas. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, alocadas em esquema fatorial 3x3, com quatro repetições cada, sendo três linhagens: Ross 308®, Cobb 500® e Hybro®; e três níveis de inclusão de vitamina D: 1250UI D₃/kg sem 25-(OH)D₃; 1250UI D₃/kg com 69mg 25-(OH)D₃/t e 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t). Foram avaliadas as concentrações de cálcio, fósforo, força de ruptura e morfologia de tíbias das aves aos 21 dias de idade. Os teores de cálcio, fósforo e força de ruptura não foram influenciados pelos tratamentos utilizados. As aves não sofreram alterações na mineralização óssea das tíbias. A análise histológica demonstrou que os tratamentos não influenciaram o desenvolvimento de problemas locomotores. Conclui-se que o nível de 1250UI de vitamina D demonstrou ser suficiente para garantir a qualidade das tíbias de frangos de corte aos 21 dias de idade, já que, as aves não desenvolveram problemas locomotores, independentemente dos níveis de vitamina D₃ na dieta e da linhagem estudada.

Palavras-chave: avicultura, nutrição, sistema locomotor, tecido ósseo

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a produção avícola evoluiu para atender ao mercado interno e externo, visando obter um produto com preço acessível aliado a melhores condições ambientais nas diversas fases de criação. Para atender essa demanda foram necessárias pesquisas que objetivassem melhorias na seleção genética, desempenho, balanço nutricional das rações, bem como condições favoráveis de manejo, instalações, sanidade, processamento e comercialização (PONSO, 2013).

Segundo MENDES et al. (2010), o Brasil é o terceiro maior produtor mundial e o primeiro maior exportador de carne de frango, o que em termos de competitividade, deve-se também ao baixo custo de produção.

O rápido crescimento e ganho de peso acelerado dos frangos de corte promovem alterações anatômicas e fisiológicas do esqueleto para sustentação do sobrepeso que podem resultar em problemas locomotores, como a discondroplasiatibial, degeneração femoral, desvios angulares como *valgus*, *varus*, e, ocasionalmente, o raquitismo (KHAN et al., 2010), o que acarreta em pior desempenho (RAVINDRANET et al, 2006; ALMEIDA PAZ et al, 2010).

Com o aumento da demanda de carne de frango, o melhoramento genético como intuito de obter linhagens de maior produção de carne acarretou em problemas locomotores, visto que o desenvolvimento ósseo não acompanhou o acelerado ganho de peso dos animais. A tíbia é o osso de mais rápido crescimento no organismo e muito sensível às deficiências de cálcio e fósforo, sendo utilizado nos estudos para determinação das exigências nutricionais destes minerais (YAN et al., 2005). Assim, atualmente há uma grande preocupação com esses problemas locomotores, considerando que podem interferir no desempenho e ocasionar condenação de carcaça, e para isso faz-se necessário a adequada formulação de dietas para frangos de corte que supram suas necessidades (GARCIA, 2012).

Os fatores nutricionais envolvidos no desenvolvimento ósseo e suas características morfológicas são importantes na ocorrência de desordens esqueléticas principalmente na fase inicial (até 21 dias) em que o pico de formação óssea ocorre (DAS et al., 2011). A formulação comercial de dietas para frangos de corte consiste na

combinação de ingredientes em proporções adequadas para atingir o perfil nutricional desejado, visando nível ótimo entre desempenho e custo com máxima rentabilidade.

Entre os componentes utilizados na formulação da dieta estão os suplementos de micronutrientes, como as vitaminas e minerais, como cálcio e fósforo (MESQUITA, 2012). O uso dos minerais é importante, pois exercem funções biológicas na fisiologia animal, como estruturas ósseas, musculares, equilíbrio ácido-base, pressão osmótica, permeabilidade de membrana, coadjuvante em atividades enzimáticas e diferenciação celular (MELLO, 2010).

A adição de vitamina D na dieta de frangos de corte visa, dentre outras funções, atender à demanda deste nutriente para que ocorra a completa formação óssea. As aves possuem capacidade de sintetizar pequena quantidade desta vitamina, porém não o suficiente para atender a demanda fisiológica, principalmente porque os ambientes de criação não recebem radiação solar para que haja ativação endógena desta vitamina. (REECE, 2006).

A forma ativa da vitamina D, a 25 hidroxicolecalciferol é um importante regulador do desenvolvimento do tecido ósseo, do metabolismo e da homeostase do cálcio, possuindo papel fundamental na regulação do crescimento e diferenciação celular do tecido ósseo (WHITEHEAD ET AL., 2004). A forma 25(OH)D₃ tem atividade é duas vezes mais eficiente que a vitamina D₃ (colecalfiferol), além de ser facilmente absorvida pelas células do intestino, quando comparada com colecalfiferol (TORRES ET AL., 2009).

A vitamina D atua na recuperação óssea, no metabolismo de cálcio e fósforo, na formação óssea, sendo diretamente responsável pelo crescimento esquelético que dá suporte para que as aves possam obter o seu máximo desempenho produtivo (BRITO et al., 2010). Existe a disponibilidade de algumas formas de vitamina D para a alimentação animal, desde a mais utilizada que é o colecalfiferol, utilizado nas pré-misturas; o 25(OH)D₃; o análogo sintético da forma hormonal da vitamina D, a 1 α -hidroxicolecalciferol (1 α -OHD₃) e o metabólito ativo da vitamina D, o 1,25(OH)₂ D₃ (GARCIA, 2012). A literatura relata que a inclusão de níveis adequados de minerais e vitaminas podem diminuir as lesões locomotoras em aves de produção.

O uso da vitamina D na nutrição de frangos de corte tem sido estudado constantemente devido, principalmente, à sua capacidade de controle do crescimento ósseo, prevenção do raquitismo, diminuição da incidência de problemas locomotores e a

inter-relação entre cálcio, fósforo e a vitamina D no metabolismo animal. A vitamina D tem contribuído para uma melhora significativa na produção dos frangos de corte.

Embora existam registros na literatura da adição de vitamina D₃ (colecalfiferol) e de sua forma disponível, o hidroxicolciferol, sobre o desempenho de frangos de corte, considerando ou não a incidência de problemas locomotores nas aves (EDWARDS, 1990; BAKER, 1998; WHITEHEAD ET AL., 2004; FRITTS E WALDROUP, 2005; WALDENEST, 2006; ANGEL, 2007; RAMA RAO ET AL., 2008; WHITEHEAD, 2009; BRITO ET AL., 2010), não há referência sobre adição de fontes de vitamina D à dieta sobre os desvios angulares, locomoção em frangos de corte.

Dessa forma este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a inclusão de vitamina D em níveis de cálcio e fósforo na dieta de frangos de corte até os 21 dias de idade, as características ósseas das tíbias de frangos de corte de três linhagens comerciais, e o aspecto histológico no desenvolvimento de problemas locomotores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizado no Campus de Pirassununga - SP, com duração de 21 dias. Para isto foram utilizados 468 pintos machos, das linhagens Ross 308®, Cobb 500® e Hybro®, criados em baterias metálicas. As aves foram suplementadas com vitamina D na forma convencional e vitamina D na forma biodisponível (25-(OH)D₃). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado alocado em esquema fatorial 3x3 (linhagens x níveis de vitamina), com quatro repetições cada, como segue: T1 – Ross 308, 1250UI D₃/kg, T2 – Ross 308, 1250UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T3 – Ross 308, 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T4 – Cobb500, 1250UI D₃/kg, T5 – Cobb 500, 1250UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T6 – Cobb 500, 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T7 – Hybro, 1250UI D₃/kg, T8 – Hybro, 1250UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t e T9 – Hybro, 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t.

Aos 21 dias de idade as aves foram abatidas por eletronarcole e corte de veias jugulares e artéria aorta. Posteriormente foram colhidas amostras da tíbia de duas aves por repetição. Procedeu-se então as análises para determinações de força de ruptura de acordo com a metodologia descrita por CRESHAW (2003), nas tíbias direitas in natura. As tíbias esquerdas, após a retirada de gordura no extrator Soxhlet foram colocadas na

mufla a 600°C por 4h, para obtenção da matéria mineral e posterior estabelecimento dos teores de cálcio e fósforo, conforme metodologia citada por TEIXEIRA et al. (2005). As análises de força de ruptura foram realizadas com auxílio de prensa computadorizada denominada Instron (Instron Corporation Series IX Automated Materials Testing System 1,09).

Os ossos foram colocados na posição horizontal sobre dois suportes, sendo a pressão aplicada no centro dos mesmos. A quantidade máxima de força aplicada ao osso antes de sua ruptura foi considerada como resistência à quebra. As tíbias direitas foram incisadas com bisturi em cortes longitudinais, divididas em paquímeros ventral e dorsal, sendo paquímero dorsal imerso em solução fixadora de Bouin, para estudos de morfologia, conforme a rotina de inclusão em parafina. Posteriormente estes foram corados por hematoxilina-eosina para a observação e descrição histológica dos ossos.

Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com o auxílio do pacote estatístico SAS[®] (2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de cálcio, fósforo e força de ruptura não foram influenciados pelos tratamentos utilizados ($p > 0,05$). As linhagens ou os níveis e formas de inclusão de vitamina D não foram responsáveis por diferenças na absorção ou fixação de minerais nas tíbias das aves (Tabela 1). Isto pode ter ocorrido devido ao rápido crescimento das aves, e desenvolvimento imaturo das estruturas ósseas e articulares, já que em cada fase do desenvolvimento há uma necessidade específica de afluxo de nutrientes para o tecido em crescimento, (MACARI et al., 2002). Além disso o fato de que as aves foram criadas em baterias metálicas em condições adversas as praticadas em campo bem como a idade de abate, provavelmente explica os dados observados neste estudo

As variáveis ósseas não são afetadas pela origem genética, mas existe forte correlação entre o peso vivo e o volume do osso e a área da seção transversal, independentemente da origem genética (LETERRIER et al., 1998). THORP & WADDINGTON (1997) indicaram que a relação Ca:P 2:1 foi ótima para a normal mineralização dos ossos e sugeriram que a resistência à quebra seja influenciada pela variação dessa relação. Segundo os autores, se houver quebra na estrutura do cristal de hidroxiapatita, os ossos tornam-se mais frágeis e ficam susceptíveis a fraturas.

Tabela 1: Concentrações de cálcio e fósforo por mg/kg na matéria original, relação entre cálcio e fósforo e força de ruptura (kgf/cm²) de tíbias de frangos de corte aos 21 dias.

Variáveis	Tratamentos								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Cálcio (mg/kg)	10,06	10,84	9,44	9,52	10,9	12,0	11,37	11,8	11,9
Fósforo (mg/kg)	5,72	5,55	5,30	5,57	5,44	6,29	6,07	5,71	6,89
Relação Ca:P	1,76	1,95	1,78	1,71	2,00	1,91	1,87	2,08	1,74
Força de Ruptura (kgf/cm ²)	2,52	2,65	2,68	2,58	3,03	3,03	2,26	3,14	2,41

T1 – Ross 308, 1250UI D₃/kg, T2 – Ross 308, 1250UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T3 – Ross 308, 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T4 – Cobb500, 1250UI D₃/kg, T5 – Cobb 500, 1250UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T6 – Cobb 500, 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t, T7 – Hybro, 1250UI D₃/kg, T8 – Hybro, 1250UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t e T9 – Hybro, 3000UI D₃/kg com 69 mg 25-(OH)D₃/t.

LEDWABA (2003) avaliando os efeitos dos níveis de vitamina D observou que a adição de valores de 0,65% e 0,50% de cálcio associado com alguns níveis de suplementação de 25(OH)2D₃, ou menos de 69 µg deste elemento foi efetiva para prevenir problemas locomotores, principalmente por melhorar a mineralização óssea. MESQUITA (2012) observou que não houve efeito das formas e níveis de vitamina D sobre os teores de cálcio (Ca) e fósforo (P) nas tíbias das aves, em todas as idades avaliadas. Já BRITO et al. (2010), avaliando níveis/formas de vitamina D em aves da linhagem Cobb-700® aos 21 dias de idade encontraram maior concentração de cálcio nas tíbias quando foi suplementada com a fonte 25-OHD₃ (20 e 37,5 µg/kg), em comparação com a D₃. Os mesmos autores ao avaliarem o teor de fósforo de frangos nas tíbias de corte aos 45 dias de idade observaram que as aves alimentadas com rações suplementadas com 25-OHD₃ obtiveram valores maiores, em relação às aves submetidas a rações suplementadas com vitamina D₃. Também observaram incremento no teor desse mineral nas tíbias à medida que se aumentou a suplementação de vitamina D, independente das formas avaliadas e verificou ainda, a superioridade das formas conjuntas (D₃+25-OHD₃).

LIMA et al. (2010) avaliando a suplementação de fitase e de 25-OHD₃ na dieta de frangos de corte, observaram que o teor de fósforo nas tíbias de frangos de corte foi

influenciado pelos tratamentos, de forma que os melhores resultados foram observados nas dietas suplementadas com fitase + 25-OHD₃.

SOUZA et al. (2013), observaram que o fornecimento suplementar de vitamina D₃ nas rações pode estar diretamente relacionado à diminuição de condenações de carcaças em frigoríficos decorridas de fraturas e/ou desordens locomotoras. Ao minimizar tais condenações, tem-se conseqüentemente a redução dos custos de produção, importante meta da indústria avícola. Outros autores relatam que a menor absorção de cálcio e fósforo está relacionada à menor disponibilidade de vitamina D para aves de produção (ALMEIDA PAZ & BRUNO, 2006) e à diminuição da força de ruptura do osso. Isto não ocorreu neste estudo, provavelmente por que o menor nível de vitamina já era adequado para as aves na fase de desenvolvimento em que se encontravam. Ou seja, a adição de níveis elevados desta vitamina não proporcionou maior nível de fixação de minerais nas tíbias. Não foi observado o desenvolvimento de problemas locomotores nas aves estudadas, independentemente do nível de inclusão de vitamina D ou linhagem avaliada, sendo que todas as tíbias encontraram-se dentro dos padrões ótimos de desenvolvimento. Os resultados dos exames macroscópicos foram confirmados sob aspecto histológico. Nas Figuras 1 A e B observa-se a formação da cartilagem, com penetração vascular, não caracterizando a presença de lesão óssea, assim como a zona de transição e início de formação do tecido osteóide, mineralização e zona de transição entre cartilagem e osso. Essa caracterização de tecido ósseo normal sem a presença de lesões está de acordo com as afirmações de Rao et al. (2008). No entanto, muitos autores relatam que a inclusão de metabólitos 1-hidroxilados em dietas de frangos de corte é eficiente na promoção adequada da diferenciação de condrócitos, reduzindo o aparecimento de distúrbios ósseos (Frittset al., 2003, Ledwaba, 2003).

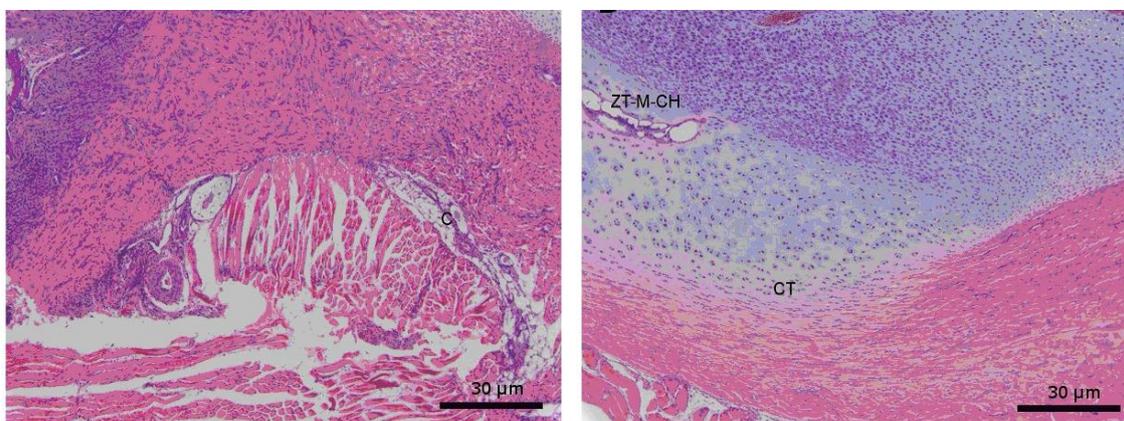


Figura 1. Em A: fotomicrografia de corte transversal da tíbia de frango de corte aos 14 dias de idade, descalcificada e corada pela técnica da hematoxilina e eosina. Em

B: fotomicrografia de corte transversal da tíbia de frango de corte aos 14 dias de idade, descalcificada e corada pela técnica da hematoxilina e eosina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não ocorreram alterações na mineralização óssea e, conseqüentemente, na força de ruptura das tíbias de frangos de corte das diferentes linhagens suplementadas com os diferentes níveis de vitamina D.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao apoio financeiro concedido pela FUNDECP/CNPQ para a execução do projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ABREU, V.M.N.; ABREU, P.G DE. Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Brasília, v. 40, p. 1-14, 2011.

ALMEIDA PAZ ICL, GARCIA RG, BERNARDI R, NÄÄS IA, CALDARA FR, FREITAS LW, SENO LO, FERREIRA VMOS, PEREIRA DF, CAVICHIOLO F. Selecting appropriate bedding to reduce locomotion problems in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.189-195, 2010. ALMEIDA PAZ, ICL; BRUNO, LDG. Bone mineral density: review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 8, n. 2, June 2006.

BRITO, J.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, É. J.; RODRIGUES, P. B.; LIMA, E. M. C.; MENEGHETTI, C. Efeito da vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, 2010.

ANGEL R. Metabolic Disorders: Limitations to Growth of and Mineral Deposition into the Broiler Skeleton after Hatch and Potential Implications for Leg Problems. **Poultry Research**, v. 16, p.138-149, 2007.

Baker DH, Biehl RR & Emert JL. Vitamin D₃ requirement of young chicks receiving diets varying in calcium and available phosphorus. **British Poultry Science**, v. 39, p. 413-417, 1998.

CRENSHAW, T.D. Nutricional manipulation of bone mineralization in developing gilts. In: Allen D. Lemans. **Swine conference. Proceedings. Anais...** Minnesota: Veterinary Outreach Programs, v.30, p. 183, 189, 2003.

DAS, S.; PALAI, T. K.; MISHRA, S. R.; DAS, D.; JENA, B. Nutrition in Relation to Diseases and Heat stress in Poultry. **Veterinary World**, Gujarat, v. 4, n. 9, p. 429-432, 2011.

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

FRITTS CA, WALDROUP PW. Comparison of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in broilers diets designed to minimize phosphorus excretion. **Journal Applied Poultry Research**, v.14, n.1, p.156-166, 2005.

FRITTS, C.A.; WALDROUP, P.W. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v.12, n.1, p.45-52, 2003.

GARCIA, A.F.Q.M. **Utilização de vitamina D e seus metabólicos na alimentação de frangos de corte**. 2012. 74f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Paraná.

KHAN SH, SHAHID R, MIAN AA, SARDAR R AND ANJUM MA. Effect of the level of cholecalciferol supplementation of broiler diets on the performance and tibial dyschondroplasia. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.94, p. 584-593, 2010.

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

LETERRIER, C.; ROSE, N.; CONSTANTIN, P.; NYS, Y. Reducing growth rate of broiler chickens with a low energy diet does not improve cortical bone quality. **British Poultry Science**, v. 39, n. 1, p. 24-30, 1998.

LIMA, M.R de.; BARROSO JUNIOR, F.; COSTA, F.G.P.; LECZNIESKI, J.; MORAIS, S.A.N.; SOUZA, R.B.; LIMA, R.C.; NETO, S.P.H.; SALVIANO, G.O.; SILVA, T.B.; SOUZA, S.M. Desempenho em mineralização óssea em frangos de corte de 1 a 43 dias de idade com redução nutricional de fósforo e suplementado com fitase e 25-(OH)D₃. In: **CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL**, 4., 2010, Estância de São Pedro. **Anais...** Berkeley: [s.n], 2010. p. 99-100.

MELLO, H.H de.C. **Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas mantendo a relação cálcio:fósforo disponível em 2:1**. 2010.135f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

MESQUITA, F.R. **Níveis e formas de vitamina D em rações de frangos de corte**. 2012. 101f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

MENDES, A.A.; SALDANHA, E.S.P.B. A cadeia produtiva de carne de aves no Brasil. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I. de.A.; MACARI, M. (Ed.). **Anais... Produção de frangos de corte**. Campinas: FACTA, p.1-22, 2010.

PONSO, R.; GARCIA, R.G.; ALMEIDA PAZ, I.C DE.L.; LIMA, N.D DA.S.; SANTOS, R DE.K.S DOS. Morfologia do tecido ósseo de tíbias de frangos de corte submetidos à dieta com 25 hidroxicoalciferol. **Centro Científico Conhecer**, v. 9, n. 17, p. 1929, 2013.

RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.L.N.; PANDA, A.K. et al. Effect of surfeit concentrations of vitamin D₃ on performance, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks. **Journal of Poultry Science**, v.45, n.1, p.25-30, 2008.

RAVINDRAN V, THOMAS DV, THOMAS DG, MOREL PCH. Performance and welfare of broilers as affected by stocking density and zinc bacitracin supplementation. **Animal Science Journal**, v.77, p.110-116, 2006.

REECE WO. DUKES **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Tradução de Cid Figueiredo; Idilia Ribeiro Vanzellotti; Ronaldo Frias Zanon. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 12ª edição, cap.34, p.521-523, 2006.

SAS. STATYSTICAL ANALISYS SISTEM. **SAS/STAT: Users guide**. Version 6. 12 ed. Cary: SasInstitute Inc., 2000

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M.; VASCONCELLOS, C.H.F.; CALDERANO, A.A.; NUNES, R.V.; FERREIRA, C.M.; PEREIRA, T.V.S.; MORAES, G.H.K. Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.519-525, 2013.

TEIXEIRA, A de.O.; LOPES, D.C.; GOMES, P.C.; LOPES, J.B.; COSTA, L. F.; FERREIRA, V.P.D.A.; BÜSEN, S. Níveis de substituição do fosfato bicálcico pelo monobicálcico em dietas para suínos nas fases de crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, vol.34, n.1, p. 142-150, 2005.

THORP, B.H.; WADDINGTON, D. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 62, n. 1, p. 67-73, 1997.

TORRES CA, VIEIRA SL, REIS RN, FERREIRA AK, SILVA PX, FURTADO FVF. Productive performance of broiler breeder hens fed 25-hydroxycholecalciferol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1286-1290, 2009.

WHITEHEAD CC, MCCORMACK HA, MCTIER L, FLEMING RH. High vitamin D3 requirements in broilers for bone quality and prevention of tibialdyschondrplasia and interactions with dietary calcium available phosphorous and vitamin A. **British Poultry Science** v.45, p.42-436, 2004.

WHITEHEAD CC. Factores nutricionales que influyen em los problemas óseos actuales de los broilers. **XLVI Symposium Científico de Avicultura**. Zaragoza, 29 de septiembre a 2 de octubre de 2009.

YAN, F.; KEEN, C.A.; ZHANG, K.Y.; WALDROUP, P.W. Comparison of Methods to Evaluate Bone Mineralization. **The Journal Applied Poultry Research**, v. 14, p. 492-498, 2005.