



## Níveis de fósforo disponível e tamanho de partícula do fosfato bicálcico na dieta de poedeiras comerciais de 24 a 58 semanas de idade

Lúcio Francelino Araújo<sup>1</sup>, Otto Mack Junqueira<sup>2</sup>, Cristiane Soares da Silva Araújo<sup>2</sup>, Davi Savietto<sup>1</sup>, Ricardo de Albuquerque<sup>3</sup>, Luís Carlos Garibaldi Simon Barbosa<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/USP, CEP: 13635-900 – Pirassununga/SP – Brasil.

<sup>2</sup> Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAVJ/UNESP, CEP: 148894-900 – Jaboticabal/SP – Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/USP, CEP: 13635-900 – Pirassununga/SP – Brasil.

<sup>4</sup> Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP, CEP: 16015-050 – Araçatuba/SP – Brasil.

**RESUMO** - Um experimento foi conduzido para verificar o efeito de níveis de fósforo e do tamanho de partícula do fosfato bicálcico na dieta de poedeiras comerciais na fase de produção. Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 3$  com dois tamanhos de partícula do fosfato (fino e granulado) e três níveis de fósforo disponível (0,28; 0,38 e 0,48%), totalizando seis tratamentos, cada um com cinco repetições de oito aves. As dietas experimentais foram isoproteicas, isocalóricas e isocálcicas. O consumo de ração, a produção de ovos, a massa de ovos, a conversão alimentar, a porcentagem de casca, a gravidade específica e os teores de cinzas, cálcio, fósforo e magnésio nos ossos não foram afetados pelas dietas. Dietas contendo fosfato bicálcico (fino ou granulado) e 0,28% de fósforo disponível atendem às exigências de fósforo de galinhas poedeiras semipesadas de 24 a 58 semanas de idade.

Palavras-chave: desempenho, minerais ósseos, poedeiras, qualidade de casca

## Levels of the available phosphorus and particle size of dicalcium phosphate in brown egg layer hens diet from 24 to 58 weeks of age

**ABSTRACT** - An experiment was carried out to verify the effect of levels of phosphorus and the particle size of dicalcium phosphate on diets for brown egg layer hens during production phase. A complete randomized experimental design as a  $2 \times 3$  factorial arrangement, with two sizes of particles of phosphate (fine and granulate) and three levels of available phosphorus (0.28, 0.38 and 0.48%), totalizing six treatments with five replications of eight birds each, was used. The experimental diets were isoproteic, isocaloric, and isocalcium. Feed intake, egg production, egg mass, feed conversion, shell percentage, egg specific gravity, ash, calcium, phosphorus and magnesium levels in the bones were not affected by the diets. Diets with dicalcium phosphate (fine or granulated) and 0.28% available phosphorus level meet the phosphorus requirements in brown egg layer hens from 24 to 58 weeks of age.

Key Words: bone minerals, brown egg layer hens, eggshell quality, performance

### Introdução

O desempenho de poedeiras pode ser prejudicado por baixos (Summers et al., 1976; Leeson et al., 1993) ou altos níveis de fósforo dietético (Miles et al., 1983). O excesso de fósforo não somente prejudica a ave como também reduz a disponibilidade de cátions bivalentes e do fósforo fítico, por diminuir a hidrólise do fitato (Ballam et al., 1985), levando ao aumento da poluição ambiental. O consumo de quantidades inadequadas de fósforo pode provocar anormalidades esqueléticas, aumento da mortalidade, redução do tamanho e da produção dos ovos e má qualidade da casca com altos índices de quebra (Roland, 1992;

Junqueira, 1993). Além disso, a qualidade da casca dos ovos também pode ser prejudicada por altos (Harms, 1982; Said & Sullivan, 1985; Leeson et al., 1993) ou baixos níveis de fósforo dietético (Leeson et al., 1993). Entretanto, alguns trabalhos comprovam melhoria na qualidade da casca dos ovos quando se utilizam dietas com baixos níveis de fósforo (Holder, 1981).

Em trabalhos recentes (Van der Klis et al., 1997; Boling et al., 2000 a,b) a suplementação de 0,15 a 0,20% de fósforo disponível na dieta tem sido suficiente para manter desempenho adequado das aves.

Existem poucas investigações sobre o uso de fosfato granulado na dieta de poedeiras comerciais. Griffith &

Schexnailder (1970) relataram que o uso de fosfato com maior granulometria em aumenta a disponibilidade de fósforo para as poedeiras, pois melhora a retenção do fosfato na moela, fazendo com que o produto permaneça mais tempo em um ambiente ácido melhorando a sua digestão. De acordo com Malavolta (1979) a solubilidade de um fosfato aumenta com o grau de moagem, ou seja, é mais solúvel quanto menor a partícula. Durante o período noturno, em que há formação da casca, uma parte do fósforo é dirigida para a deposição na gema do ovo e outra parte se combina com o cálcio para ser depositado no osso. A liberação de cálcio do osso é acompanhada pela de fósforo, aumentando significativamente o nível desse mineral na corrente sanguínea. Assim, especial atenção deve ser dada aos níveis de fósforo da dieta, uma vez que o excesso prejudica a liberação de cálcio do osso e a adequada mineralização da casca (Gonzales, 1999).

Objetivou-se neste trabalho avaliar o tamanho de partícula do fosfato bicálcico e os níveis de fósforo disponível na dieta de poedeiras comerciais.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus da UNESP de Jaboticabal, SP. O período experimental foi de 196 dias. Foram utilizadas 240 galinhas poedeiras Hy-Line vermelhas, selecionadas e pesadas antes do início do experimento, com 24 semanas e alojadas duas a duas em gaiolas de arame.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 3$  (composto de duas granulometrias de fosfato bicálcico (fino e granulado) e três níveis de fósforo disponível (0,28; 0,38; 0,48%) com cinco repetições de oito aves cada. Na análise de granulometria dos fosfatos, ocorreu uma retenção de 40,20 e 1,70% na malha de 0,15 mm para os fosfatos granulado e fino, respectivamente.

Foram utilizadas dietas à base de milho e farelo de soja, todas isoproteicas (17,90% PB), isocalóricas (2940 kcal EM/kg) e isocálcicas (3,5% Ca) e formuladas conforme as exigências nutricionais recomendadas pelo NRC (1994) (Tabela 1).

Para a coleta dos dados de produção (%) e peso (g) dos ovos, massa dos ovos (porcentagem produção  $\times$  peso do ovo), consumo de ração (g/ave/dia), conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos e g de ração/massa dos ovos), porcentagem e espessura da casca (mm) e a gravidade específica dos ovos (g/mL H<sub>2</sub>O), utilizaram-se sete períodos de 28 dias. A produção de ovos foi registrada diariamente e o cálculo, realizado no final de cada período de 28 dias. O

peso médio dos ovos foi obtido pela pesagem de todos os ovos íntegros produzidos nos últimos dois dias a cada 28 dias durante o experimento. As soluções salinas utilizadas para obtenção da densidade aparente dos ovos foram preparadas conforme recomendações de Moreng & Avens (1990), com os devidos ajustes para um volume de 20 litros de água. A faixa de densidade das soluções foi de 1,0650 a 1,0950 com intervalos de 0,0025.

Ao final do experimento, duas aves por repetição foram abatidas e a tíbia esquerda coletada para determinação de cinzas ósseas, cálcio, fósforo total e magnésio. Para estas determinações, os ossos foram limpos, secos em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, desengordurados com éter de petróleo em extrator de Soxhlet por oito horas, fervidos com detergente neutro por 15 minutos e secos novamente em estufa a 65°C por 72 horas. Os resultados foram expressos com base na matéria seca desengordurada.

Os dados obtidos foram analisados por meio do sistema SAS (2003) e no caso de efeito significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5%.

## Resultados e Discussão

Nenhuma diferença foi encontrada para consumo de ração, taxa de postura, conversão alimentar, peso dos ovos, massa de ovos, porcentagem e espessura da casca e gravidade específica dos ovos (Tabela 2). Esses resultados concordam com aqueles encontrados por Costa et al. (2004)

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais, com base na matéria natural

Ingrediente	Fósforo disponível (%)		
	0,28	0,38	0,48
Milho	58,15	58,15	58,15
Farelo de soja	28,00	28,00	28,00
Óleo de soja	3,60	3,60	3,60
Calcário	8,57	8,17	7,87
Fosfato bicálcico	0,55	1,08	1,58
Sal comum	0,30	0,30	0,30
Suplemento vitamínico e mineral*	0,50	0,50	0,50
Inerte**	0,33	0,20	0,00
Nutriente (composição calculada)			
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.940	2.940	2.940
Proteína bruta (%)	17,90	17,90	17,90
Cálcio (%)	3,50	3,50	3,50
Fósforo disponível (%)	0,28	0,38	0,48
Lisina (%)	0,95	0,95	0,95
Metionina (%)	0,28	0,28	0,28
Metionina + cistina (%)	0,59	0,59	0,59
Sódio (%)	0,12	0,12	0,12

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico-mineral: vit. A - 800.000 UI; vit. D - 100.000 UI; vit. E - 1.000 mg; vit. K - 100 mg; vit. B<sub>2</sub> - 400 mg; vit. B<sub>12</sub> - 2.000 mcg; ácido pantotênico - 440 mg; niacina - 2.000 mg; colina - 50.000 mg; I - 60 mg; Se - 20 mg; Mn - 6.000 mg; Zn - 10.000 mg; Cu - 15.000 mg; Fe - 10.000 mg; antioxidante - 125 mg; q.s.p. - 1.000 g.

<sup>2</sup> Inerte - Caulim.

que forneceram dietas para poedeiras semipesadas contendo 0,235; 0,305 e 0,375 de fósforo disponível e não encontraram diferenças no desempenho dos animais. Entretanto, ao contrário dos resultados deste experimento, Ceylan et al. (2003) encontraram diferenças significativas na conversão alimentar, no peso e na massa dos ovos, e na porcentagem de casca quando as aves foram alimentadas com dietas contendo 0,35 e 0,45% de fósforo disponível. Contudo, esses autores observaram que, com a suplementação da enzima fitase, foi possível obter o mesmo desempenho dos animais sob suplementação com 0,20% de fósforo disponível. Silva et al. (2008) trabalhando com diferentes relações cálcio:fósforo para poedeiras semi-pesadas encontraram melhor desempenho com a suplementação de 0,38% de fósforo disponível.

Sabe-se que a redução dos níveis de fósforo dietético para poedeiras deve ser realizada com racionalidade já que os suplementos utilizados apresentam disponibilidade variada desse elemento. Entretanto, os dados deste estudo indicaram que a redução dos níveis de fósforo não prejudicou o desempenho das aves. É provável que o nível marginal utilizado tenha sido suficiente para atender às necessidades da ave, concordando com o trabalho conduzido por Rama Rao et al. (1999), que, utilizando diferentes níveis de fósforo total na dieta de poedeiras comerciais, descreveram que as aves necessitam de dieta contendo 0,47% de fósforo disponível para melhor desempenho.

Considerando a variabilidade dos resultados para as características de qualidade de casca dos ovos com a administração de fósforo, acredita-se que as colocações realizadas por Roland & Gordon (1996) sejam oportunas, uma vez que é grande a variação entre as aves em relação aos efeitos de dietas com níveis marginais de fósforo. Além disso, a melhoria da qualidade da casca é temporária. Roland (1989), em trabalho de revisão, avaliou o efeito dos

níveis de fósforo sobre a qualidade da casca e verificou que, em 18 estudos o fósforo não teve influência na qualidade da casca e, em 20 trabalhos, afirmava-se o contrário.

Williams (1991) estudou o uso de níveis de 0,37; 0,42 e 0,47% de fósforo disponível na dieta de poedeiras no início, fase intermediária e no final de postura do primeiro ciclo, respectivamente, e concluiu que o nível de 0,42% pode ser reduzido até 0,37% para a fase final.

Como o fósforo é um nutriente crítico nas dietas de poedeiras, a redução excessiva deste mineral pode comprometer o desempenho da ave, como observado por Leeson et al. (1993), que constataram prejuízo da qualidade da casca com a administração de 0,30 e 0,45% de fósforo disponível na dieta, respectivamente. Neste mesmo sentido, Vandepopuliere & Lyons (1992) concluíram que, apesar de se conseguir melhoria na gravidade dos ovos das aves que receberam o nível de 0,24% de fósforo disponível, em comparação aos níveis de 0,33; 0,40 e 0,47% na dieta, o menor nível não foi adequado para peso e produção dos ovos. Roland & Farmer (1986) constataram que a diminuição dos níveis de fósforo, com a melhoria da qualidade da casca, nem sempre tem efeito satisfatório no desempenho das poedeiras.

Faria et al. (2000) trabalharam com os níveis de 0,35; 0,45 e 0,55% de fósforo disponível e relataram que o desempenho das poedeiras foi comprometido quando as aves foram alimentadas com as dietas contendo 0,35% de fósforo e não notaram benefícios na qualidade de casca dos ovos. Assim, embora o nível de 0,45% de fósforo tenha proporcionado taxas normais de produção pelas poedeiras, seria conveniente considerar o período de tempo de sua utilização para efetiva avaliação de seus efeitos.

Scheideler & Al-Batshan (1994) argumentaram sobre os possíveis benefícios da administração de baixos níveis de fósforo nas dietas de poedeiras, como a diminuição no custo da dieta e a da contaminação ambiental, mas

Tabela 2 - Desempenho e qualidade de ovo de poedeiras comerciais alimentadas com dietas com diversos níveis de fósforo e fosfato bicálcico

Característica	Fosfato bicálcico fino			Fosfato bicálcico granulado			CV (%)
	0,28	0,38	0,48	Nível de fósforo			
	0,28	0,38	0,48	0,28	0,38	0,48	
Consumo de ração (g/dia)	105	104	103	101	104	105	7,34
Taxa de postura (%)	92,37	89,60	88,86	88,84	89,82	91,99	6,70
Massa de ovos (g)	53,67	52,15	52,59	51,89	51,61	53,12	4,64
Cálcio (kg/dúzia)	1,36	1,39	1,37	1,38	1,38	1,36	5,57
Conversão alimentar (g/massa de ovos)	1,96	1,99	1,96	1,95	2,02	1,98	6,03
Peso dos ovos (g)	58,10	58,20	59,18	58,41	57,46	57,75	2,77
Casca (%)	9,84	10,00	9,70	9,83	10,08	9,97	6,56
Gravidade específica	1,095	1,095	1,094	1,095	1,095	1,095	0,23
Espessura de casca (mm)	0,472	0,478	0,466	0,482	0,478	0,482	4,08

Tabela 3 - Material mineral, cálcio, fósforo e magnésio ósseos em poedeiras alimentadas com diversos níveis de fósforo total e fosfato bicálcico na dieta

Característica	Fosfato bicálcico fino			Fosfato bicálcico granulado			CV (%)
	Nível de fósforo						
	0,28	0,38	0,48	0,28	0,38	0,48	
Matéria mineral (%)	51,74	50,69	50,84	49,37	50,46	50,01	3,42
Cálcio (%)	33,82	33,47	33,98	34,01	34,22	34,13	4,53
Fósforo (%)	15,08	15,87	16,32	15,59	16,05	16,91	4,02
Magnésio (%)	0,62	0,73	0,75	0,71	0,77	0,83	3,88

questionaram sobre o tempo que as aves suportariam esses baixos níveis sem apresentar osteoporose. Araújo et al. (2009) não observaram efeitos das fontes com diferentes relações de fósforo:flúor sobre o nível de minerais ósseos.

Não ocorreu interação para os teores de cinzas, cálcio, fósforo e magnésios ósseos (Tabela 3). Embora tenha havido aumento dos níveis de fósforo na dieta, esses níveis não influenciaram o teor de minerais nos ossos. Semelhantemente ao que ocorreu com os níveis de fósforo, o grau de moagem do fosfato também não interferiu nos níveis dos minerais estudados. Em pesquisa com poedeiras comerciais durante o pico de produção, Frost & Roland (1991) não encontraram diferenças na matéria mineral das aves alimentadas com os níveis de 0,30; 0,40 e 0,50 % de fósforo disponível na dieta. Em outro trabalho Ceylan et al. (2003) avaliaram a suplementação com 0,25; 0,30; 0,35 e 0,40% de fósforo disponível também não encontraram diferenças significativas no nível de matéria mineral e de minerais nos ossos. Lima et al. (1995), no entanto, verificaram aumento deste elemento à medida que aumentaram o nível de fósforo da dieta.

Em criteriosa avaliação da literatura é possível encontrar trabalhos sobre o efeito da granulometria do calcário na dieta de poedeiras comerciais (Rao et al., 1992; Geraldo et al., 2006). Entretanto, são escassos os trabalhos sobre o efeito da granulometria na dieta de poedeiras comerciais. Em pesquisa com frangos de corte no período de 1 a 21 dias, Junqueira et al. (2001) forneceram dietas para frangos de corte formuladas com diferentes granulometrias de fosfato (fina e granulada) e observaram que, mesmo com o melhor desempenho das aves alimentadas com dietas contendo o fosfato granulado, a granulometria não influenciou a qualidade óssea dos animais.

### Conclusões

Dietas formuladas com fosfato bicálcico fino ou granulado e com 0,28% de fósforo disponível atendem à exigência de fósforo de galinhas poedeiras semipesadas de 24 a 58 semanas de idade.

### Referências

- ARAUJO, L.F.; ARAUJO, C.S.S.; JUNQUEIRA, O.M. et al. Uso de fosfatos com diferentes relações flúor:fósforo na alimentação de poedeiras semipesadas na fase de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1033-1036, 2009.
- BALLAM, G.C.; NELSON, T.S.; KIRBY, L.K. Effect of different dietary levels of calcium and phosphorus on phytate hydrolysis by chicks. **Nutrition Report International**, v.32, p.909-913, 1985.
- BOLING, S.D.; DOUGLAS, M.W.; JOHNSON, M.L. et al. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, v.79, p.224-230, 2000a.
- BOLING, S.D.; DOUGLAS, M.W.; SHIRLEY, R.B. et al. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. **Poultry Science**, v.79, p.535-538, 2000b.
- CEYLAN, N.; SCHEIDELER, S.E.; STILBORN, H.L. High available phosphorus corn and phytase in layer diets. **Poultry Science**, v.82, p.789-795, 2003.
- COSTA, F.G.P.; JACOME, I.M.T.D.; SILVA, J.H.V. et al. Níveis de fósforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, p.73-81, 2004.
- FROST, T. J., ROLAND, D. A. The influence of various calcium and phosphorus levels on tibia strength and eggshell quality of pullets during peak production. **Poultry Science**, v.70, p.963-969, 1991.
- FARIA, D.E.; JUNQUEIRA, O.M.; SALOMURA, N.K. et al. Efeito de diferentes níveis de sódio e fósforo sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.458-466, 2000.
- GERALDO A.; BERTECHINI, A.G.; BRITO, J.A.G. Níveis de cálcio e granulometrias do calcário para frangas de reposição no período de 3 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.113-118, 2006.
- GONZALES, E. A qualidade da casca do ovo. **Revista Alimentação Animal**, n.16, 1999.
- GRIFFITH, M.; SCHEXNAILDER, R. The relation of dietary particle size to phosphorus availability in purified diets. **Poultry Science**, v.49, p.1271-1274, 1970.
- HARMS, R.H. The influence of nutrition on egg shell quality. Part 2: Phosphorus. **Feedstuffs**, v.54, p.25-26, 1982.
- HOLDER, D.P. Dietary phosphorus requirements of force-molted leghorn hens. **Poultry Science**, v.60, p.433-437, 1981.
- JUNQUEIRA, O.M. Avanços recentes nas exigências de fósforo para poedeiras. In: CONFERÊNCIA APINCO 1993 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos, 1993. **Anais...** Santos: FACTA, 1993, p.167-175.
- JUNQUEIRA, O.M.; LEMOS, M.G.; ARAUJO, L.F. et al. Uso de fosfato bicálcico granulado sobre o desempenho e mineralização óssea de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, p.57-64, 2001.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D.; CASTRO, L. Response of brown egg strain layers to dietary calcium or phosphorus. **Poultry Science**, v.72, p.1510-1514, 1993.

- LIMA, F.R.; MENDONÇA, J.M.X.; ALVAREZ, J.C. et al. Chemical and physical evaluations of comercial dicalcium phosphates as sources of biologically available phosphorus for broiler chicks. **Poultry Science**, v.74, p.1659-1670, 1995.
- MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1979. p. 40-54.
- MILES, R.D.; COSTA, P.T.; HARMS, R.H. The influence of dietary phosphorus level on laying hen performance. **Poultry Science**, v.62, p.1033-1037, 1983.
- MORENG, R.E.; AVENS, J.S. **Ciência e produção de aves**. São Paulo: Roca, 2002. 380p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed.rev. Washington, D.C.: National Academy Press, 1994. 157p.
- RAMA RAO, S.V.; REDDY, V.R.; REDDY, V.R. Non-phytin phosphorus requirement of commercial broilers and White leghorn layers. **Animal Feed Science and Technology**, v.80, p.1-10, 1999.
- RAO, K.S.; ROLAND, D.A.; ADAMS, J.L. et al. Improved limestone retention in the gizzard of commercial leghorn hens. **Journal Applied of Poultry Research**, v.1, p.6-10, 1992.
- ROLAND, D.A. Calcium and phosphorus in laying hen rations. In: GEORGIA NUTRITION CONFERENCE, 1982, Athens. **Proceedings...** Athen: 1982. p.149-160.
- ROLAND, D.A. Phosphorus requirements of commercial leghorns. In: NUTRITION CONFERENCE FOR THE FEED INDUSTRY, Atlanta. **Proceedings...** Atlanta: 1989. p.26-35.
- ROLAND, D.A. Recent developments with calcium and phosphorus with emphasis on osteopenia in commercial laying hens. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 7., Campinas, 1992. **Anais...** Campinas, CBNA, 1992. p.85-102.
- ROLAND, D.A.; FARMER, M. Studies concerning possible explanations for the varying response of different phosphorus levels on eggshell quality. **Poultry Science**, v.65, p.956-963, 1986.
- ROLAND, D.A.; GORDON, R. Phytase helps optimize phosphorus, calcium in layer diets. **Feedstuffs**, v.68, p.16-39, 1996.
- SAID, N.W.; SULLIVAN, T.W. A comparison of continous and phased levels of dietary phosphorus for commercial laying hens. **Poultry Science**, v.64, p.1763-1771, 1985.
- SCHEIDELER, S.A.; AL-BATSHAN, H. Basics of calcium, phosphorus nutrition in layers studied. **Feedstuffs**, v.66, p.15-16, 1994.
- SILVA, J.H.V.; ARAUJO, J.A.; GOULART, C.C. et al. Relação cálcio:fósforo disponível e níveis de fitase para poedeiras semipesadas no primeiro e segundo ciclos de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.2166-2172, 2008.
- SUMMERS, J.D.; GRANDHI, R.; LEESON, S. Calcium and phosphorus requirements of the laying hen. **Poultry Science**, v.56, p.402-413, 1976.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **SAS language reference**. Cary: 2003. 530p.
- VAN DER KLIS, J.D.; VERSTEEGH, H.A.J.; SIMONS, P.C.M. et al. The efficacy of phytase in corn-soybean meal based diets for laying hens. **Poultry Science**, v.76, p.1535-1542, 1997.