

## EFEITO DE NÍVEIS DE FÓSFORO NÃO-FÍTICO E DE FITASE SOBRE A TÍBIA DE FRANGOS DE CORTE

### *Effect of nonphytate phosphorus and phytase levels on broiler tibia*

OLIVEIRA, M.C.<sup>1</sup>; SILVA, D.<sup>1</sup>; LOCH, F.C.<sup>1</sup>; LAURENTIZ, A.C.<sup>2</sup>; JUNQUEIRA, O.M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Rio Verde.

<sup>2</sup> UNESP – Ilha Solteira.

<sup>3</sup> UNESP – Jaboticabal.

Endereço para correspondência: Maria Cristina de Oliveira - cristina@fesurv.br.

### RESUMO

---

Avaliou-se o efeito de níveis de fósforo não-fítico (FNF) e fitase sobre a morfometria e a densidade de tibia de frangos. Foram utilizadas 1200 aves em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4 x 3 (níveis de FNF x níveis de fitase), com quatro repetições. Os níveis de FNF, em cada fase, foram 0,45; 0,37; 0,29 e 0,21% na fase inicial; 0,41; 0,33; 0,25 e 0,17% na de crescimento e 0,37; 0,29; 0,21 e 0,13% na final. Os níveis de fitase foram 0, 500 e 1000 UFT/kg de ração. Não houve efeito sobre diâmetro das tíbias aos 21 dias. Tíbias com menor peso, comprimento e densidade de diáfise, epífise distal e média, e densidade de epífise proximal resultaram da redução do FNF de 0,37 para 0,29% e de 0,29 para 0,21%, respectivamente. A inclusão de 500 UFT/kg de ração melhorou o comprimento e a densidade da diáfise das tíbias, independente dos níveis de FNF. Pode-se adotar dieta FNF nas fases inicial, crescimento e final de 0,37, 0,33 e 0,29%, respectivamente, suplementadas com 1000 UFT/kg de ração, de um a 42 dias, sem comprometer a qualidade óssea.

**Palavras-chave:** aditivos, enzimas, qualidade óssea.

---

### ABSTRACT

---

It was evaluated the effect of nonphytate phosphorus (NPP) and phytase on broiler tibia. One thousand and two hundred chicks were allocated in a completely randomized design and factorial arrangement 4 x 3 (NPP x phytase levels), with four replicates. NPP levels, at each phase, were 0.45, 0.37, 0.29 and 0.21% - initial, 0.41, 0.33, 0.25 and 0.17% - growth, and 0.37, 0.29, 0.21 and 0.13% - withdrawal. Phytase levels were 0, 500 and 1000 FTU/kg of diet. There was no effect on diameter at 21 days of age. Tibia with lower weight, length and diaphysis, distal epiphysis and average densities e proximal epiphysis density resulted from NPP reduction from 0.37 to 0.29% and from 0.29 to 0.21%, respectively. Inclusion of 500 FTU/kg of phytase improved length and diaphysis density of the tibia, independent of NPP levels. Diets with NPP, at initial, growth and final phases, of 0.37, 0.33 and 0.29%, respectively, supplemented with 1000 FTU/kg of phytase, can be used with no negative effect on bone quality in broilers.

**Key words:** additives, bone quality, enzymes.

---

## INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é um mineral essencial para o crescimento e desenvolvimento dos ossos nos animais. Além disso, esse mineral também desempenha um papel crítico no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, principalmente na fosforilação oxidativa (Hatten *et al.*, 2001). O não fornecimento de quantidades adequadas de P pode resultar em pior desempenho, deformidades ósseas, maior condenação de carcaça e alta mortalidade (Panda *et al.*, 2007).

O ácido fítico, abundante em grãos e sementes oleaginosas, é a principal forma de armazenamento de P nesses alimentos. A molécula de ácido fítico tem alto teor de P (28,2%) e, uma vez que a maior parte da dieta de frangos consiste de ingredientes vegetais, o P do ácido fítico assume considerável importância nutricional. Entretanto, a capacidade da ave em utilizar o P fítico é baixa, devido a quantidades insuficientes ou ausência de secreção de fitase endógena (Wu *et al.*, 2004). O ácido fítico também se liga a outros minerais, tais como Ca, Fe, Zn, Mn, Cu e Co, podendo reduzir a disponibilidade desses minerais (Shelton e Southern, 2006).

Devido à presença do ácido fítico, a disponibilidade de P em alimentos comumente usados para aves é de, aproximadamente, 30 a 40% (NRC, 1994; Rostagno *et al.*, 2005). Sendo assim, fósforo inorgânico (Pi) é adicionado às dietas de monogástricos para compensar a utilização ineficiente do P fítico (Jendza *et al.*, 2006). Entretanto, deve-se considerar que o P é o terceiro nutriente mais caro em dietas avícolas, após proteína e nutrientes fornecedores de energia (Biehl *et al.*, 1998).

As pesquisas mais recentes têm sugerido que as recomendações de fósforo não-fítico (FNF) do NRC (1994) excedem as exigências dos frangos de corte (Dhandu e Angel, 2003; Angel *et al.*, 2005b). A inclusão da fitase, enzima que

hidrolisa o ácido fítico, em dietas avícolas pode resultar em mais P fítico disponível para ser absorvido pelo animal. Haveria também a diminuição da necessidade de suplementação com Pi uma vez que o teor de P dietético seria reduzido (Applegate *et al.*, 2003; Angel *et al.*, 2005a).

O teor de minerais dos ossos tem sido extensivamente usado como critério para avaliar as exigências de P por ser um indicador mais sensível da suficiência de P do que a taxa de crescimento (Dhandu e Angel, 2003). Porém, tanto o teor mineral como a densitometria óssea podem ser usados para determinar a mineralização óssea, sendo que a densitometria resulta em menor trabalho e em menor gasto de tempo comparado com a tradicional metodologia da matéria mineral dos ossos (Angel *et al.*, 2004).

Nesse sentido, esse experimento foi realizado para avaliar o efeito de níveis dietéticos de FNF e da enzima fitase sobre o peso, a morfometria e a densidade de tíbias de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 1200 pintos de corte machos, da linhagem Cobb, com um dia de idade, alojados em galpão de alvenaria dividido em boxes de 2,8 x 1,6m (área total de 4,48 m<sup>2</sup>). O manejo adotado para as fases de criação seguiu as recomendações do manual da linhagem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial 4 x 3 (quatro níveis de FNF x três níveis de fitase), com quatro repetições de 25 aves cada. Os níveis de fósforo não-fítico, em cada fase, foram de 0,45; 0,37; 0,29 e 0,21% na fase inicial (1 a 21 dias); 0,41; 0,33; 0,25 e 0,17% na fase de crescimento (22 a 35 dias) e de 0,37; 0,29; 0,21 e 0,13% na fase final (36 a 42 dias de idade). Assim a redução dos níveis de fósforo não-

fítico das dietas, em cada fase de criação, foi de 18, 36 e 54% na fase inicial; 19, 38 e 58% na de crescimento; 21, 43 e 64% na final. Os níveis de fitase utilizados foram 0, 100 e 200g/tonelada, garantindo 0, 500 e 1000 UFT/kg de ração.

Os tratamentos foram os seguintes: T<sub>1</sub> – 0,45%, 0,41% e 0,37% FNF; T<sub>2</sub> – T<sub>1</sub> + 500 UFT/kg de ração; T<sub>3</sub> – T<sub>1</sub> + 1000 UFT/kg de ração; T<sub>4</sub> – 0,37%, 0,33% e 0,29% FNF; T<sub>5</sub> – T<sub>4</sub> + 500 UFT/kg de ração; T<sub>6</sub> – T<sub>4</sub> + 1000 UFT/kg de ração; T<sub>7</sub> – 0,29%, 0,25% e 0,21% FNF; T<sub>8</sub> – T<sub>7</sub> + 500 UFT/kg de ração; T<sub>9</sub> – T<sub>7</sub> + 1000 UFT/kg de ração; T<sub>10</sub> – 0,21%, 0,17% e 0,13% FNF; T<sub>11</sub> – T<sub>10</sub> + 500 UFT/kg de ração e T<sub>12</sub> – T<sub>10</sub> + 1000 UFT/kg de ração.

A enzima fitase utilizada foi a Natuphos 5.000<sup>®</sup>, obtida por intermédio da fermentação por fungos *Aspergillus niger*, contendo atividade inicial mínima, declarada pelo fabricante, de 5.000 UFT/g do produto. As dietas experimentais fareladas eram isonutritivas e foram formuladas de acordo as recomendações nutricionais e a composição dos ingredientes de Rostagno *et al.* (2005), exceto para os valores de fósforo não-fítico.

Aos 21 e 42 dias de idade, 48 aves, quatro por tratamento, foram abatidas por deslocamento cervical e delas foram retiradas as tíbias. Estas tíbias, após serem extraídas, tiveram a remoção dos tecidos aderentes. As tíbias esquerdas foram utilizadas para obtenção do peso e para a morfometria (comprimento e diâmetro) obtida com paquímetro manual e as tíbias direitas foram utilizadas para a determinação da densidade óssea.

Para a densidade óssea fez-se uso de imagens radiográficas das tíbias e, como referencial densitométrico, utilizou-se uma escala de alumínio (alumínio 6063 ABNT) com 12 degraus. O primeiro degrau tinha espessura de 0,5 mm e do segundo até o décimo degrau, a espessura aumentou de 0,5 em 0,5 mm sucessivamente. O 11<sup>o</sup> degrau tinha espessura de 6 mm e o 12<sup>o</sup> de 8 mm. A área de cada degrau era de 5 x 25

mm. A escala de alumínio foi radiografada juntamente com as tíbias. Um aparelho de raio-X convencional foi calibrado para 44 kVp e 4 mAs, com um metro de distância entre o foco e o filme. Para a determinação da densidade óssea, as imagens foram digitalizadas em *scanner* HP Scanjet 4C equipado com um adaptador para digitalizar imagens radiográficas. Após a digitalização, as imagens foram transferidas para um computador e analisadas por meio do Programa *Image-Pro Media Cybernetics* (versão 4.1.0). A densidade foi determinada nas epífises proximal e distal, e na diáfise de cada osso, sendo estes valores comparados com a densidade óptica da escala de alumínio e expressos em mm de Alumínio (mm Al) (Louzada, 1994). Calculou-se também a densidade média dos três valores obtidos para as densidades das epífises proximal e distal e da diáfise.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância por meio do programa SAEG (UFV, 2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre o diâmetro das tíbias aos 21 dias de idade (Tabela 1). Entretanto, a redução dos níveis de FNF para 0,29% ou menos resultou em tíbias com menores ( $P<0,05$ ) peso, comprimento e menores valores de densidade nas epífises proximal e distal, na diáfise e de densidade média do osso. A inclusão de 500 UFT/kg de ração melhorou ( $P<0,05$ ) o comprimento e a densidade da diáfise das tíbias, independente dos níveis de FNF.

O nível de 0,37% de FNF foi suficiente para manter normais o peso e o comprimento, bem como a densidade das tíbias durante a fase inicial de criação. Nessa fase, o P é utilizado em larga escala, não só para o crescimento do tecido ósseo, mas também como constituinte de ácidos

Tabela 1 – Peso e morfometria de tíbias de frangos aos 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo níveis de fósforo não-fítico (FNF) e de fitase

Parâmetro	Fitase (U/kg)	FNF (%)				Média	CV (%)
		0,45	0,37	0,29	0,21		
Peso (g)	0	5,96	6,18	4,91	4,40	5,36	11,18
	500	6,51	5,76	5,83	5,07	5,79	
	1000	6,16	6,32	5,52	4,93	5,73	
	Média	6,21a	6,08ab	5,42bc	4,80c		
Diâmetro (mm)	0	6,50	6,25	6,00	5,37	6,03	11,01
	500	6,00	5,75	6,00	5,75	5,87	
	1000	6,25	6,12	6,00	5,62	6,00	
	Média	6,25	6,04	6,00	5,58		
Comprimento (mm)	0	73,00	72,75	68,87	63,37	69,50B	3,49
	500	75,25	72,25	71,75	67,87	71,78A	
	1000	73,00	73,75	72,50	66,50	71,43A	
	Média	73,75a	72,91ab	71,04b	65,91c		

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

nucléicos, de compostos energéticos e de fosfolipídios encontrados nas membranas e também está envolvido em várias reações enzimáticas bem como no transporte de O<sub>2</sub>, como um constituinte de compostos fosfoglicerato (Drezner, 2002). Mesmo assim, a exigência de P foi atendida com um nível abaixo do remendado na literatura, que é 0,45%.

A densidade óssea é uma estimativa do teor de minerais por unidade de área ou volume (Nelson *et al.*, 2000) e por isso, a redução dos níveis de FNF diminuiu a densidade das tíbias em aves que ingeriram dietas com 0,29 e 0,21% de FNF (Tabela 2). Pode-se inferir, então, que a taxa de mineralização também foi menor, sendo o nível de 0,37% adequado também para a manutenção da densidade tibial na fase inicial.

A interação FNF x fitase foi significativa para o comprimento das tíbias de aves com 42 dias de idade (Tabela 3). Aves que consumiram dietas sem fitase e com o menor nível de FNF avaliado, apresentaram tíbias menores. Porém, quando as dietas foram suplementadas com 500 ou 1000 UFT/kg de ração, as tíbias atingiram o comprimento obtido com o uso de rações com níveis adequados de FNF.

Para que o osso cresça, é necessária a presença de minerais em quantidades adequadas. Nesse aspecto, supõe-se que

a suplementação com fitase levou a um aumento na disponibilidade de P para absorção e posterior utilização para crescimento dos ossos.

A redução dos níveis de FNF resultou em menores (P<0,05) peso e diâmetro médios. Nas fases de crescimento e final, os órgãos e tecidos já estão formados e o metabolismo dos nutrientes é dirigido principalmente para a deposição muscular, que é maior comparada com a fase inicial. Portanto, a exigência de P nessa fase é menor, o que permitiu que níveis ainda menores de FNF pudessem ser utilizados sem que houvesse prejuízo no peso e diâmetro das tíbias. O diâmetro aumentou (P<0,05) com a inclusão de 500 UFT/kg de ração, resultado da liberação P para que fosse absorvido e depositado no osso.

Não houve efeito (P>0,05) da interação FNF x fitase aos 42 dias de idade (Tabela 4). No entanto, os menores níveis de FNF resultaram em menores valores de densidade das epífises proximal e distal. A diminuição da densidade na epífise proximal ocorreu mesmo quando níveis mais altos de FNF foram usados, diferente do ocorrido na epífise distal. Isso ocorreu

por que a epífise proximal é a região do osso que está submetida a maior pressão ocasionada pelo peso do corpo da ave. De acordo com Joakimsen *et al.* (1998) e Uusi-Rasi *et al.* (2002), quanto maior o peso suportado pelo osso, maior o desenvolvimento e remodelagem óssea e, conseqüentemente, maior a massa óssea o que irá se refletir em maior densidade.

A inclusão de fitase melhorou ( $P < 0,05$ ) a densidade da diáfise e a densidade média. Como já mencionado, o peso do corpo é um fator que estimula o desenvolvimento e manutenção da massa óssea, mas para que isso ocorra é necessário que haja minerais em quantidades suficientes e, nesse caso, foram necessárias 1000 UFT/kg de ração para que houvesse

liberação de P suficiente para atender a demanda óssea.

Resultados semelhantes foram obtidos por Viveros *et al.* (2002) que estudaram dietas com níveis reduzidos de FNF (0,45 a 0,24%) suplementadas ou não com 500 UFT/kg de ração e notaram que houve redução no peso da tíbia com os menores níveis de FNF e a suplementação de dietas com fitase melhorou o peso dos ossos. Já Kocabagli (2001) que relataram que a inclusão de 700 a 1500 UFT/kg de ração em dietas com níveis de P reduzidos para frangos não afetou o peso, comprimento e diâmetro das tíbias.

Atia *et al.* (2000), ao avaliarem níveis de Ca e P em dietas para perus notaram que quando dietas suplementadas com 500

Tabela 2 – Densidade das tíbias de frangos aos 21 dias de idade, alimentados com dietas com níveis de fósforo não-fítico (FNF) e de fitase

Densidade (mm Al)	Fitase (U/kg)	FNF (%)				Média	CV (%)
		0,45	0,37	0,29	0,21		
Epífise proximal	0	1,90	1,67	1,47	1,81	1,71	15,15
	500	2,13	1,74	1,44	1,62	1,73	
	1000	1,71	1,95	1,58	1,51	1,69	
	Média	1,91a	1,79a	1,64ab	1,50b		
Diáfise	0	2,74	2,58	1,89	1,62	2,21B	12,39
	500	3,07	2,56	2,48	1,95	2,52A	
	1000	2,67	2,94	2,24	1,98	2,46A	
	Média	2,83a	2,69a	2,20b	1,85c		
Epífise distal	0	1,87	1,65	1,27	1,48	1,57	14,15
	500	1,88	1,62	1,38	1,44	1,58	
	1000	1,78	1,76	1,52	1,32	1,59	
	Média	1,84a	1,67a	1,39b	1,42b		
Densidade média	0	2,16	1,96	1,54	1,63	1,82	11,74
	500	2,35	1,9	1,76	1,67	1,94	
	1000	2,05	2,21	1,77	1,60	1,91	
	Média	2,19a	2,05a	1,69b	1,63b		

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Peso e morfometria de tíbias de frangos, com 42 dias de idade, alimentados com dietas com níveis de fósforo não-fítico e de fitase

Parâmetro	Fitase (U/kg)	FNF (%)				Média	CV (%)
		0,45-0,41-0,37	0,37-0,33-0,29	0,29-0,25-0,21	0,21-0,17-0,13		
Peso (g)	0	14,50	14,90	17,96	10,67	14,51	15,53
	500	14,79	14,39	13,82	13,07	14,02	
	1000	15,97	16,10	15,16	13,30	15,13	
	Média	15,09a	15,13a	15,65 <sup>a</sup>	12,35b		
Diâmetro (mm)	0	8,37	8,62	8,12	7,37	8,12B	9,24
	500	8,87	8,50	8,50	7,87	8,43AB	
	1000	9,25	9,37	8,25	8,37	8,81A	
	Média	8,83a	8,83a	8,29b	7,87b		
Comprimento (mm)	0	101,25Aa.	100,37Aa.	102,50Aa.	85,47B	97,40	4,05
	500	100,37Aa.	102,00Aa.	97,25Aa.	97,62Aa.	99,31	
	1000	101,87Aa.	101,00Aa.	98,62Aa.	96,12Aa.	99,40	
	Média	101,16	101,12	99,45	93,07		

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Densidade das tíbias de frangos aos 42 dias de idade alimentados com dietas com níveis de fósforo não-fítico e de fitase

Densidade (mm Al)	Fitase (U/kg)	FNF (%)				Média	CV (%)
		0,45-0,41-0,37	0,37-0,33-0,29	0,29-0,25-0,21	0,21-0,17-0,13		
Epífise proximal	0	2,63	2,45	2,54	2,30	2,48	15,5
	500	2,72	2,10	1,93	2,60	2,34	
	1000	2,94	2,36	2,42	2,14	2,45	
	Média	2,76a	2,30b	2,30b	2,35b		
Diáfise	0	2,78	3,28	2,85	2,44	2,84B	16,5
	500	2,47	2,85	2,56	2,42	2,57B	
	1000	3,66	3,26	4,00	3,09	3,50A	
	Média	2,97	3,13	3,14	2,65		
Epífise distal	0	2,22	2,35	2,85	1,63	2,26	19,3
	500	1,98	2,01	1,73	1,90	1,91	
	1000	2,31	2,03	2,41	1,95	2,17	
	Média	2,17a	2,13a	2,33a	1,83b		
Dens. média	0	2,51	2,69	2,75	2,12	2,51B	13,6
	500	2,39	2,32	2,04	2,30	2,26B	
	1000	2,97	2,54	2,94	2,38	2,71A	
	Média	2,62	2,52	2,58	2,27		

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

UFT/kg de ração e com 90 e 52% de Ca e P, respectivamente, eram usadas, a densidade óssea era semelhante a das aves do tratamento controle. Entretanto, Orban et al. (1999) não constataram diferenças na densidade das diáfises tibiais devido à inclusão 750 ou 1500 UFT/kg de ração. Mais recentemente, Onyango *et al.* (2004) avaliaram níveis de FNF de 0,50, 0,24 e 0,12% e relataram que houve redução na densidade mineral das tíbias. Os autores, no entanto, observaram que a inclusão de 1000 UFT/kg de ração com 0,24% de FNF, elevou a densidade para valores similares aos obtidos com 0,50% de FNF.

## CONCLUSÕES

Pode-se adotar dieta com níveis de FNF nas fases inicial, crescimento e final de 0,37, 0,33 e 0,29%, respectivamente, suplementadas com 1000 UFT/kg de ração, no período de um a 42 dias de idade, sem que haja comprometimento da qualidade óssea dos frangos de corte.

## REFERÊNCIAS

- ANGEL, R.; SAYLOR, W.W.; MITCHELL, A.D. et al. Validation of dual X-ray absorptiometry (DXA) bone mineralization measures in broilers as an alternative to bone ash and breaking measures. **Poultry Science**, v. 83, Suppl. 1, p. 318, 2004.
- ANGEL, R.; POWERS, W.; APPLGATE, T.J. et al. Influence of phytase on water-soluble phosphorus in poultry and swine manure. **Journal of Environmental Quality**, v. 34, n. 2, p. 563-571, 2005a.
- ANGEL, R.; SAYLOR, W.W.; DHANDU, A.S. et al. Effect of dietary phosphorus, phytase, and 25-hydroxycholecalciferol on performance of broiler chickens grown in floor pens. **Poultry Science**, v. 84, n.7, p. 1031-1044, 2005b.
- APPLGATE, T.J.; JOERN, B.C.; NUSSBAUM-WAGLER, D.L. et al. Water-soluble phosphorus in fresh broiler litter is dependent upon phosphorus concentration fed but not on fungal phytase supplementation. **Poultry Science**, v. 82, n. 6, p. 1024-1029, 2003.
- ATIA, F.A.; WAIBEL, P.E.; HERMES, I. et al. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. **Poultry Science**, v. 79, n. 2, p. 231-239, 2000.
- BIEHL, R.R.; BAKER, D.H.; DELUCA, H.F. Activity of various hydroxylated vitamin D<sub>3</sub> analogs for improving phosphorus utilization in chicks receiving diets adequate in vitamin D<sub>3</sub>. **British Poultry Science**, v. 39, n. 3, p. 408-412, 1998.
- DHANDU, A.S.; ANGEL, R. Broiler non-phytin phosphorus requirement in the finisher and withdrawal phases of a four phase feeding program. **Poultry Science**, v. 82, n. 8, p. 1257-1265, 2003.
- DREZNER, M.K. Phosphorus homeostasis and related disorders. In: BILEZIKIAN, J.P.; RAISZ, L.G.; RODAN, G.A. **Principles of Bone Biology**, San Diego: Academic Press, 2002. p. 321-338.
- HATTEN III, L.F.; INGRAM, D.R.; PITTMAN, S.T. Effect of phytase on production parameters and nutrient availability in broilers and laying hens – a review. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 10, n. 3, p. 274-278, 2001.
- JENDZA, J.A.; DILGER, R.N.; SANDS, J.S. et al. Efficacy and equivalency of an *Escherichia coli*-derived phytase for replacing inorganic phosphorus in the diets of broiler chickens and young pig. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 12, p. 3364-3374, 2006.

- JOAKIMSEN, R.M.; FONNEBO, V.; MAGNUS, J.H. et al. The Tromsø study: physical activity and the incidence of fractures in a middle-aged population. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 13, n. 7, p. 1149-1157, 1998.
- KOCABAGLI, N. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Turkish Journal of Veterinary Animal Science**, v. 25, n. 5, p. 797-802, 2001.
- LOUZADA, M.J.Q. **Otimização da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas de peças ósseas. Estudo "in vitro"**. 1994, 191f. Campinas, Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) – Universidade Estadual de Campinas.
- NELSON, D.A.; BARONDESS, D.A.; HENDRIX, S.L. et al. Cross-sectional geometry, bone strength, and bone mass in the proximal femur in black and white postmenopausal women. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, n. 10, p. 1992-1997, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 8.ed., Washington: National Academy Press, 1994.
- ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. The yeast production system in which *Escherichia coli* phytase is expressed may affect growth performance, bone ash, and nutrient use in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 83, n. 3, p. 421-427, 2004.
- ORBAN, J.I.; ADEOLA, O.; STROSHINE, R. Microbial phytase in finisher diets of White Pekin ducks: effect on growth performance, plasma phosphorus concentration, and leg bone characteristics. **Poultry Science**, v. 78, n. 3, p. 366-377, 1999.
- PANDA, A.K.; RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.L.N. et al. Performance of broiler chickens fed low non phytate phosphorus diets supplemented with microbial phytase. **Journal of Poultry Science**, v. 44, n. 3, p. 258-264, 2007.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Composição de alimentos e exigências nutricionais, Viçosa: UFV, 2005.
- SHELTON, J.L.; SOUTHERN, L.L. Effects of phytase addition with or without a trace mineral premix on growth performance, bone response variables, and tissue mineral concentrations in commercial broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15, n.1, p. 94-102, 2006.
- UFV - Universidade Federal de Viçosa. SAEG – **Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, 2001.
- UUSI-RASI, K.; SIEVANEN, H.; PASANEN, M. et al. Associations of calcium intake and physical activity with bone density and size in premenopausal and postmenopausal women: a peripheral quantitative computed tomography study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.17, n.3, p.544-552, 2002.
- VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I. et al. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v.81, n.8, p.1172-1183, 2002.
- WU, Y.B.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P.C.H. et al. Evaluation of a microbial phytase, produced by solid-state fermentation, in broiler diets. 1. Influence on performance, toe ash contents, and phosphorus equivalency estimates. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, n.3, p.373-383, 2004.