

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE CÁLCIO E FÓSFORO  
DISPONÍVEL PARA CODORNAS JAPONESAS

Autora: Caroline Espejo Stanquevis  
Orientador: Prof. Dr. Antônio Claudio Furlan  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simara Márcia Marcato

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro– 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE CÁLCIO E FÓSFORO  
DISPONÍVEL PARA CODORNAS JAPONESAS

Autora: Caroline Espejo Stanquevis  
Orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simara Márcia Marcato

“Tese apresentada como parte das exigências para  
obtenção do título de DOUTORA EM  
ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá –  
Área de Concentração Produção Animal

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro– 2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR, Brasil)

S789e Stanquevis, Caroline Espejo  
Exigência nutricional de cálcio e fósforo disponível para codornas japoneas / Caroline Espejo Stanquevis. -- Maringá, PR, 2018.  
xvi, 80 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan.  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simara Márcia Marcato.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) - Nutrição. 2. Codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) - Crescimento. 3. Codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) - Produção. I. Furlan, Antonio Claudio, orient. II. Marcato, Simara Márcia, orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 23.ed. 636.6



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE CÁLCIO E FÓSFORO  
DISPONÍVEL PARA CODORNAS JAPONESAS

Autora: Caroline Espejo Stanquevis  
Orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal


APROVADA em 20 de fevereiro de 2018.

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Marta Loddi

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elis Regina de Moraes  
Garcia

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tatiana Carlesso dos  
Santos

  
Dr. Iván Camilo Ospina Rojas

  
Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan  
Orientador

“Quem decide se colocar como juiz da verdade e do conhecimento é naufragado pela gargalhada dos deuses”

Albert Einstein

A Deus, por caminhar na frente, tornando a trajetória mais fácil.

A meu esposo, Germano Luiz Palaro, pelo apoio em todos os momentos, sempre acreditando que iria conseguir.

Aos meus pais, Wagner Stanquevis e Zilda de Fátima Espejo Stanquevis, e minha irmã Bianca Espejo Stanquevis, pelo apoio e amor incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus que amparou minhas orações, permitindo que novos dias recomeçassem e mostrando que tudo é possível quando se caminha ao lado dEle.

Ao meu esposo, Germano Luiz Palaro, que sonhou esse título comigo, batalhando, trabalhando e me encorajando a nunca desistir. Obrigada por me provar que o impossível não existe.

Aos meus pais, Wagner Stanquevis e Zilda de Fátima Espejo Stanquevis, pelo apoio, incentivo, e por acreditarem tanto em mim, nas horas difíceis, e, por saber que vocês estariam “ali,” eu continuei bem mais confiante.

À minha irmã, Bianca Espejo Stanquevis, por sempre estar ao meu lado, mostrando que tudo tem um lado bom.

À Universidade Estadual de Maringá (UEM), Fazenda Experimental de Iguatemi e Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela disponibilidade para realização deste trabalho.

À Granja Vicami, em especial ao Sr. Osvaldo Esperança Rocha, por cederem os animais para a realização do experimento.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Simara Márcia Marcato, por aceitarem me orientar mais uma vez e acreditarem que eu conseguiria realizar este trabalho. Sempre serei grata, por ter sido da equipe de vocês.

Aos funcionários do LANA (Laboratório de Análises e Nutrição Animal), Augusto de Camargo Neto e Osvaldo Tarelho Jr, e funcionários do laboratório de solos Roberto e Anderson, por me atenderem nas horas em que precisei. À Prof<sup>ª</sup>. Lilian Cristina Vessoni Iwaki, do setor de radiologia da Clínica de Odontologia da UEM e seus orientados, à Natalia Fier (COMCAP), por toda atenção para utilização do laboratório; ao técnico Cipriano, do laboratório de Engenharia Civil e ao Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza, por todo empenho, ao ceder os equipamentos e laboratório para realização de algumas análises.

Ao meu amado grupo de pesquisa, esclareço que esse trabalho é totalmente nosso, e exponho aqui, o quanto foi bom poder estar mais um ano nessa equipe, e como está sendo depressivo deixá-los... Mas, agradeço muito ter tido a oportunidade de estar ao lado de vocês, que sabem trabalhar em grupo, que, afinal só é bom, quando temos um grupo unido e sempre com vontade de aprender! A todos vocês, Taciana Maria de Oliveira Bruxel, Taynara Prestes Perine, Erica Grecco, Eline Maria Finco, Tainara Euzébio, Mariani Ireni Benites, Priscila Martins, Nayara Lima, Isabela Martins, João Paulo Rossato, Yohana Vieira, Andressa de Carvalho, Bianca Maciel, Luana Freitas, Marcos Pereira Fabricio Vieira dos Santos, Mariane Bueno, Mariana Colhado e Felipe Amêndola Rodriguez, O MEU MUITO OBRIGADA.

Aos amigos que me ajudaram, tornando-se parte do nosso time, Christian Figueroa, Lucas Pimentel Bonaguriu, Isabela Naemi Kaneko, Flavia Kleszcz da Cruz, Iván Camilo Ospina Rojas, Vittor Zancanela e Daiane de Oliveira Grieser, a quem também serei eternamente grata, pelas dúvidas sanadas e auxílios.



## BIOGRAFIA

Caroline Espejo Stanquevis, filha de Wagner Stanquevis e Zilda de Fatima Espejo Stanquevis, nasceu em São Paulo- SP, no dia 24 de outubro de 1988.

Em dezembro de 2011, concluiu a graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

Em março de 2012, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de Concentração Produção Animal, desenvolvendo estudos na área de nutrição de animais não ruminante, da Universidade Estadual de Maringá, submetendo-se à banca examinadora para defesa da Dissertação de Mestrado, em fevereiro de 2014, obtendo o título de Mestre em Zootecnia.

Em março de 2014, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, na Universidade Estadual de Maringá, continuando na mesma área de Concentração Produção Animal, desenvolvendo estudos na área de nutrição de animais não ruminante.

Em junho de 2017, submeteu- se à banca examinadora para o exame geral de qualificação, apresentada como parte das exigências para obtenção do título de doutor em Zootecnia.

No dia 20 de fevereiro de 2018, submete-se à banca examinadora para a defesa da tese.

## ÍNDICE

<b>I - INTRODUÇÃO</b> .....	1
1 Revisão de Literatura.....	2
1.1. <i>Importância do Cálcio e do Fósforo</i> .....	2
1.2. <i>Metabolismo do Cálcio e do Fósforo</i> .....	4
1.3. <i>Exigência nutricional de Cálcio e Fósforo para codornas de postura</i> .....	5
1.4. <i>Cálcio e Fósforo na mineralização óssea</i> .....	7
1.5. <i>Cálcio e Fósforo na produção de ovos</i> .....	9
2. Referências .....	12
<b>II- OBJETIVOS GERAIS</b> .....	<b>18</b>
<i>Objetivos Específicos</i> .....	18
<b>III – Exigência de cálcio e fósforo disponível para codornas japonesas em crescimento</b> .....	<b>19</b>
RESUMO- .....	19
ABSTRACT- .....	20
3.1. Introdução.....	21
3.2. Materiais e Métodos .....	22
3.2.1. <i>Animais, Instalações e Manejo</i> .....	22
3.2.2. <i>Delineamento Experimental e Dietas</i> .....	23
3.2.3. <i>Índices de Desempenho</i> .....	24
3.2.4. <i>Perfil bioquímico sérico</i> .....	27
3.2.5. <i>Variáveis ósseas</i> .....	28
3.2.6. <i>Análise Estatística</i> .....	29
3.2.7. <i>Gráficos de contornos sobrepostos</i> .....	30
3.3. Resultados e Discussão.....	31
3.3.1. <i>Índices de desempenho</i> .....	31

<i>3.3.2. Perfil bioquímico sérico</i> .....	40
<i>3.3.3. Variáveis ósseas</i> .....	43
3.4. Conclusão .....	52
3.5. Referências .....	52
<b>IV – Calcium and available phosphorus requirements of Japanese quails in initial egg-laying stage</b> .....	<b>57</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>57</b>
4.1. Introduction .....	58
4.2. Materials and methods .....	59
4.3. Results and discussion .....	65
4.4. References .....	77
<b>V- CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>80</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>III – Exigência de cálcio e fósforo disponível para codornas japonesas em crescimento.....</b>	<b>19</b>
Tabela 1. Composição percentual das rações experimentais para codornas japonesas em crescimento com níveis de cálcio e fósforo disponível para a fase de cria (1 a 14 dias de idade) e para a fase de recria (15 a 42 dias de idade) .....	25
Tabela 2. Composição nutricional das rações experimentais para codornas japonesas em crescimento com níveis de cálcio e fósforo disponível para a fase de cria (1 a 14 dias de idade) e para a fase de recria (15 a 42 dias de idade) .....	26
Tabela 3. Desempenho de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível .....	32
Tabela 4. Desempenho de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	33
Tabela 5. Desempenho de codornas japonesas em fase de postura, que foram submetidas a diferentes níveis de cálcio e fósforo disponível na durante a fase de recria.....	38
Tabela 6. Qualidade de ovos de codornas japonesas em fase de postura, que foram submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível na durante a fase de recria.....	39
Tabela 7. Perfil bioquímico sérico de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	41
Tabela 8. Perfil bioquímico sérico de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	42
Tabela 9. Parâmetros ósseos no fêmur de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	45
Tabela 10. Parâmetros ósseos no tibiotarso de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	46

Tabela 11. Parâmetros ósseos no fêmur de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	48
Tabela 12. Parâmetros ósseos no tibiotarso de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	49
Tabela 13. Parâmetros histológicos de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) e recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível.....	51

#### **IV – Calcium and available phosphorus requirements of Japanese quails in initial egg-laying stage ..... 57**

Table 1. Percentage composition of experimental diet for japanese quail in laying phase with different levels of calcium and available phosphorus .....	61
Tabela 2. Nutritional composition of experimental diet for japanese quail in laying phase with levels of calcium and available phosphorus .....	62
Table 3. Performance of japanese quail in laying phase (68 to 164 days of age) with levels of calcium and available phosphorus .....	66
Table 4. Egg quality of japanese quail in laying phase (68 to 164 days of age) with levels of calcium and available phosphorus .....	70
Table 5. Serum biochemical profile of japanese quail in laying phase (68 to 164 days of age) with levels of calcium and available phosphorus .....	73
Table 6. Bone variables of japanese quail in laying phase (68 to 164 days of age) with levels of calcium and available phosphorus .....	76

## LISTA DE FIGURAS

### **III – Exigência de cálcio e fósforo disponível para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em crescimento ..... 19**

Figura 1. Contornos sobrepostos do Peso médio (PM), Ganho de peso (GP), Consumo de ração (CR) e Conversão alimentar (CA) indicando a estimativa para os níveis de Cálcio e Fósforo disponível de codornas japonesas de 1 a 14 dias de idade..... 35

Figura 2. Contornos sobrepostos do Peso médio (PM), Ganho de peso (GP), Consumo de ração (CR) e Conversão alimentar (CA) indicando a estimativa para os níveis de Cálcio e Fósforo disponível de codornas japonesas de 15 a 42 dias de idade..... 35

### **IV – Calcium and available phosphorus requirements of Japanese quails in initial egg-laying stage ..... 57**

Figure 1. Overlapping contour graph of daily feed intake (DFI), egg production (EP), egg mass (EG), feed conversion ratio per egg mass (FCEM) and feed conversion ratio per dozen egg (FCDZ) indicating the estimated levels of available calcium and phosphorus of Japanese laying quails..... 68

## RESUMO

Quatro experimentos foram realizados com o objetivo de estimar as exigências nutricionais de cálcio (Ca) e fósforo disponível (Pd) para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) nas fases de crescimento (1 a 14 dias e 15 a 42 dias de idade) e postura. Para os experimentos I e II, utilizaram-se, respectivamente, 1824 e 1680 codornas distribuídas em um esquema fatorial com 4 níveis de Ca (0,57; 0,81; 1,05 e 1,29%) x 4 níveis de Pd (0,21; 0,32; 0,43 e 0,54%), totalizando 16 tratamentos com 3 repetições, contendo 38 e 35 codornas por unidade experimental. Os dados foram analisados por meio de regressão polinomial para os níveis de Ca e Pd para estimar o modelo de melhor ajuste e a exigência nutricional foi determinada por meio da aplicação de gráficos de contornos sobrepostos. Considerando as estimativas obtidas por meio dos gráficos de contornos sobrepostos das equações obtidas para as variáveis de desempenho ( $P < 0,05$ ), foram estimados os níveis de 0,92% de Ca e 0,37% de Pd na fase de cria (1 a 14 dias) e 0,94% de Ca e 0,39% de Pd na fase de recria (15 a 42 dias). As variáveis relacionadas à qualidade óssea foram influenciadas pelos minerais estudados em ambas as fases, interagindo entre si ou isoladamente, demonstrando a importância do mesmo frente à qualidade óssea. No experimento III, utilizou-se do mesmo delineamento, com 12 aves por unidade experimental, que receberam ração convencional para avaliar o efeito residual da fase da recria durante a postura, sendo que os melhores resultados reforçam os níveis estimados durante o crescimento das aves. O IV experimento teve como objetivo estimar as exigências nutricionais de Ca e Pd para codornas japonesas na fase de postura (64 a 168 dias) e, também, verificar seus efeitos sobre a qualidade dos ovos e as variáveis ósseas. Foram utilizadas 480 codornas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com 4 níveis de Ca (1,70; 2,40; 3,10 e 3,80%) x 4 níveis de Pd (0,15; 0,30; 0,45 e 0,60%) totalizando 16 tratamentos com 3 repetições e 10 codornas por unidade experimental. O

desempenho foi avaliado sucessivamente durante cinco ciclos de produção com 21 dias cada, assim como a qualidade de ovos nos últimos três dias de cada ciclo. Já os parâmetros ósseos foram avaliados ao final do experimento. Por meio dos gráficos de contornos sobrepostos, foi possível otimizar as respostas dos níveis de Ca e Pd sobre as características de desempenho, estimando os níveis em 2,68 % de Ca e 0,38% de Pd. O peso do ovo, a porcentagem de casca, o peso da casca por unidade de superfície de área, e a espessura da casca, não apresentaram interação significativa, no entanto apresentaram efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) para ambos minerais, já os níveis de Ca resultaram em um aumento linear ( $P < 0,05$ ) na concentração de Ca na casca de ovo, enquanto que os níveis de Pd resultaram em efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) para esta variável. Em relação às variáveis ósseas, houve interação ( $P < 0,05$ ) entre os níveis de Ca e Pd na densidade óssea e na resistência óssea do fêmur, apresentando efeito quadrático na densidade óssea para ambos minerais, enquanto a resistência óssea apresentou efeito quadrático para Ca e aumento linear para Pd. No tibiotarso, a resistência óssea aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ), de acordo com os níveis de Ca, obtendo a mesma resposta na concentração de cálcio neste osso. De acordo com estes experimentos, foi possível estimar as exigências nutricionais de Ca e Pd para codornas japonesas nas fases de cria, recria e postura, demonstrando seus benefícios e vantagens.

**Palavras-chave:** casca de ovo, densidade óssea, gráfico de contornos sobrepostos, massa de ovo, produção de ovos



## ABSTRACT

Four experiments were carried out to estimate the nutritional requirements of calcium (Ca) and available phosphorus (aP) for Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) during growing (1 -14 and 15- 42 days old) and laying phases. In experiments I and II, 1824 and 1680 quails were used, respectively, and distributed in a factorial scheme with 4 levels of Ca (0.57, 0.81, 1.05 and 1.29%) x 4 levels of aP ( 0.21, 0.32, 0.43 and 0.54%), totaling 16 treatments with 3 replicates, containing 38 and 35 quails per experimental unit. The data were analyzed through polynomial regression for the Ca and aP levels to estimate the best fit model and the nutritional requirement was determined through the application of overlapping contours graph. Considering the estimates obtained from the overlapping contours graph of the equations obtained for the performance variables ( $P < 0.05$ ), the levels of 0.92% of Ca and 0.37% of aP were estimated for the rearing phase (1- 14 days) and 0.94% of Ca and 0.39% of aP for the growing phase (15 - 42 days). The variables related to bone quality were influenced by the minerals studied in both phases, interacting with each other or alone, demonstrating its importance in relation to bone quality. In experiment III, the same design was used with 12 birds per experimental unit that received conventional feed to evaluate the residual effect of the growing phase during laying, and the best results reinforce the estimated levels during the growth of the birds. Experiment IV was conducted to estimate the nutritional requirements of Ca and aP for Japanese laying quails (64 to 168 days) and to verify their effects on egg quality and bone variables. 480 quails were used and distributed in a completely randomized design, in a factorial scheme with 4 levels of Ca (1.70, 2.40, 3.10 and 3.80%) x 4 levels of aP (0.15, 0.30 , 0.45 and 0.60%) totaling 16 treatments with 3 replicates and 10 quails per experimental unit. The performance was evaluated successively during five production cycles with 21 days each, as well as egg quality in the last three days of each cycle, and the bone parameters were evaluated at the end of the experiment. Through overlapping contour graph, Ca

and aP levels responses were optimized on the performance characteristics, estimating the levels of 2.68% of Ca and 0.38% of aP. Egg weight, eggshell percentage, shell weight per unit of surface area and shell thickness did not show significant interaction, however, they presented a quadratic effect ( $P < 0.05$ ) for both minerals. Ca levels resulted in a linear increase ( $P < 0.05$ ) in the concentration of Ca in the eggshell, while the aP levels resulted in a quadratic effect ( $P < 0.05$ ) for this variable. In relation to the bone variables, there was interaction ( $P < 0.05$ ) between Ca and aP levels in bone density and bone resistance of the femur, showing a quadratic effect on bone density for both minerals, while bone resistance showed a quadratic effect for Ca and linear increase for aP. In the tibiotarso, bone resistance increased linearly ( $P < 0.05$ ) according to Ca levels, obtaining the same calcium concentration response in this bone. According to these experiments, it was possible to estimate the nutritional requirements of Ca and aP for Japanese quails in the rearing, growing and laying phases, demonstrating their benefits and advantages.

**Key- words:** bone density, egg mass, egg quality, eggshell, overlapping contours graph

## I - INTRODUÇÃO

Atualmente, a coturnicultura vem se destacando, sendo que o aumento no consumo de ovos corresponde ao aumento no processamento dos mesmos, resultando em melhor distribuição e maior facilidade de acesso ao produto (Bertechini, 2010). Além disso, as características das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) têm atraído os produtores para criação dessa espécie devido ao fato dessas aves terem rápido crescimento, maturidade sexual precoce (40 a 45 dias), alta taxa de postura (média 300 ovos/ave/ano), elevada densidade de criação, vida produtiva de em média 14 a 18 meses, baixo investimento e rápido retorno do capital investido (Albino & Barreto, 2003).

Associado a esse aumento, ocorre maior preocupação com a nutrição desses animais, pois pouco se conhece a respeito das corretas exigências nutricionais. Nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011), as informações referentes às exigências das codornas de postura são apresentadas considerando apenas uma fase durante o crescimento e uma durante toda a produção. Já em 2017, as Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017), dividem as fases em cria (1 a 14 dias) e recria (15 a 35 dias). No entanto, existem trabalhos que utilizam outros períodos para essas fases, ou até mais fases. Essa falta de padronização na divisão das fases de criação de codornas vem sendo discutida há muito tempo, conforme observado por Murakami & Ariki (1998).

Para suprir essa necessidade de informações, diversas pesquisas vêm sendo feitas para adequação dos corretos níveis nutricionais, maximizando, assim, a produção e obtendo melhores índices zootécnicos. Essa necessidade de pesquisa também se deve ao fato da constante modificação das linhagens brasileiras que vêm sendo aperfeiçoadas, obtendo importantes avanços na área de melhoramento genético para produção de ovos.

## **1 Revisão de Literatura**

### *1.1.Importância do Cálcio e do Fósforo*

Dentre os ingredientes de grande importância na nutrição animal, encontram-se os minerais, que compõem 5% do corpo de um animal. Esses nutrientes contribuem com grande parte do esqueleto (80% a 85%), além de estarem presentes na formação da casca dos ovos e na estrutura dos músculos, sendo, indispensáveis ao bom funcionamento do organismo (McDowell, 1992).

Os minerais também estão envolvidos em quase todas as vias metabólicas do organismo animal, exercendo funções fisiológicas vitais, não só para manutenção da vida, como também para o aumento da produtividade animal (Bertechini, 2006). Estes podem interagir entre si ou com outros nutrientes da dieta, por isso é necessário ter conhecimento das necessidades fisiológicas do animal para evitar deficiências ou excessos nutricionais.

Eles são classificados em macro e microminerais, e esta classificação está relacionada com as concentrações dos elementos nos tecidos, que de certa forma, indicam as suas necessidades orgânicas (Bertechini, 2006). E isto, com destaques para o cálcio (Ca) e o fósforo (P), ambos minerais que requerem atenção especial na nutrição de aves, para a formação óssea e estrutura da casca dos ovos. Portanto, são os principais minerais utilizados no desenvolvimento das aves, associados principalmente ao metabolismo, particularmente na formação óssea, sendo que 98 a 99% do Ca e 80 a 85% do P estão presentes nos ossos (Scott et al., 1982).

Klasing (1998) afirma que o Ca e o P são minerais importantes na nutrição animal, por serem necessários não apenas para a ótima taxa de crescimento, mas também para a mineralização óssea, e estarem envolvidos em grande número de processos fisiológicos, como a transmissão de impulsos nervosos, contração muscular, coagulação sanguínea e ativação de sistemas enzimáticos.

Aproximadamente 35-38% da casca dos ovos é formada por Ca, tornando esse mineral essencial para a sua boa qualidade (Stadelman & Cotterill, 1995). Sohail & Roland (2002) citam o P também como um mineral essencial no metabolismo e na formação da casca dos ovos. Portanto, é de fundamental importância verificar os níveis de Ca e P que devem ser utilizados na dieta, pois estes estão diretamente ligados à qualidade dos ovos, uma vez que ovos com qualidade inferior provocam grandes perdas

econômicas (Kira et al., 1996) e, conseqüentemente, este é um fator ligado diretamente à rentabilidade da produção.

Por ser um íon de extrema importância e grande utilização, o Ca encontra-se sempre em transição entre o plasma sanguíneo e o osso (Macari et al., 2002), havendo a necessidade da suplementação adequada, pois uma vez deficiente vai haver mobilização óssea, enquanto em níveis adequados a deposição acontece no osso. Edwards (2000) cita que a deposição de Ca no esqueleto é mais intensa na fase de crescimento, assim, o conteúdo de Ca no organismo dos pintos aumenta de maneira rápida na fase inicial, chegando ao final do primeiro mês de vida a 80% do total de Ca da ave adulta.

No período de crescimento, a maior proporção de Ca da dieta é utilizada para formação óssea, então uma dieta deficiente em Ca faz com que o animal cresça com anormalidades ósseas. Muniz et al. (2007) citam que uma suplementação mineral inadequada durante a fase de crescimento terá como consequência um desequilíbrio na homeostase mineral e desenvolvimento inapropriado nos ossos das aves, ou seja, calcificação anormal dos ossos. Os sintomas de deficiência de Ca incluem: atraso no crescimento, diminuição no consumo de alimento, baixos níveis de Ca nos ossos, ovos de casca fina e redução na postura (Scott et al., 1982).

De acordo com Whitehead (1995), em aves de postura, durante a fase de produção de ovos, existe uma forte retirada do Ca de reserva corporal para formação da casca, que será substituído por um novo tecido chamado de tecido ósseo medular. O que corrobora com Ito (1998) ao citar que 30-40% do Ca destinado à formação da casca provém de ossos medulares e o mesmo autor ainda afirma que quanto maior a dependência de Ca do esqueleto, menor a quantidade de Ca depositada na casca.

No entanto, o Ca em excesso pode agir como antagonista, dificultando a absorção de alguns minerais tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros (Smith & Kabaja, 1984). E também pode alterar a utilização de P, devido à alteração da relação Ca:P (Anderson et al., 1995).

A principal função do P para poedeiras nas fases de cria e de recria é a formação óssea e, durante a postura, este mineral é importante para formação da casca dos ovos (Leeson & Summers, 2001). Para Pizzolante (2000), o P está envolvido na formação de colágeno e mineralização óssea, aumentando a resistência tênsil do osso e acelera a cicatrização de fraturas. Esse mineral também está altamente relacionado com a produção e qualidade dos ovos (Costa et al., 2004), além de influenciar o apetite e a eficiência alimentar (Runho et al., 2001).

## *1.2. Metabolismo do Cálcio e do Fósforo*

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, sendo possível a avaliação de alterações no funcionamento de órgãos e a adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos (González & Scheffer, 2003). Quase metade do Ca plasmático está na forma de Ca livre ionizado fisiologicamente ativo nos tecidos alvos; cerca de 15% está associado a ânions de baixo peso molecular (citratos, fosfatos) e os 40% restantes estão na forma não ionizada, reversivelmente ligados a proteínas plasmáticas, principalmente albumina (NRC, 2005; Eaton & Pooler, 2006). Calderon (1994) cita que ao contrário do Ca, o mecanismo de regulação do nível de P no plasma sanguíneo não é tão eficiente e varia muito com o nível de P oferecido na dieta.

A homeostase do Ca no organismo é eficientemente atingida por meio da ação combinada de três órgãos-sistema: trato gastrointestinal, rins e ossos (Hoenderop et al., 2005), sendo então absorvido no intestino delgado e seu controle homeostático é mantido pela ação da 1,25-diidroxicolecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), do hormônio da paratireoide (PTH) e da calcitonina que controlam sua absorção, excreção e o metabolismo ósseo (Henry, 1995), esses mesmos hormônios também controlam o nível de P sanguíneo (McDowell, 1992).

O PTH tem ação de regular, indiretamente, a absorção do Ca, por intermédio da hidroxilação da 25-(OH)-vitamina D à forma do composto ativo nos rins. Essa estimulação ocorre, em níveis plasmáticos baixos de Ca (Maiorka & Macari, 2002). Nessa mesma condição, o PTH atua no incremento da absorção intestinal (ativando a proteína transportadora de Ca), na redução da eliminação renal e na reabsorção óssea (ativando osteoclastos), a calcitonina faz o contrário (Bertechini, 2014), atuando principalmente quando a concentração sérica de Ca está alta, diminuindo a absorção intestinal, a desmineralização óssea e a reabsorção renal (Maiorka & Macari, 2002).

O metabolismo do P está associado ao metabolismo do Ca, uma vez que a taxa de produção da vitamina D<sub>3</sub>, pelo PTH, estimula a absorção de P, enquanto a calcitonina, ao se contrapor à ação do PTH, diminui sua absorção intestinal e a sua mobilização óssea e estimula a excreção renal (Maiorka & Macari, 2002),

A absorção do Ca ocorre ao longo de todo intestino delgado, principalmente duodeno e jejuno. Pode ocorrer de duas maneiras: através do transporte passivo e do transporte ativo. O transporte passivo ocorre entre as células do epitélio absorptivo

chamadas de junções firmes, e é dependente do gradiente eletroquímico; e o transporte ativo ocorre pela ação da vitamina D<sub>3</sub> que estimula as etapas do transporte de Ca transcelular pelo aumento da expressão dos canais de Ca luminal, da proteína de ligação do Ca (Calbidina) e do sistema de expulsão do Ca para fora da célula (Hoenderop et al., 2005). Semelhante ao que ocorre com o Ca, a absorção do P parece envolver um transporte ativo, estimulado pela vitamina D e dependente de sódio (transporte ativo secundário) (Maiorka & Macari, 2002).

A eficiência da utilização desses minerais é dependente da quantidade e da relação dos mesmos. Como já citado, em excesso viram antagonistas e dificultam a absorção de outros minerais. O Ca em altos níveis na dieta também vai diminuir sua própria absorção, fator este provavelmente relacionado pela saturação das proteínas transportadoras de Ca (Maiorka & Macari, 2002). O excesso de Ca na ração, também prejudica o aproveitamento do P, provavelmente reduzindo a utilização do P fítico, devido à formação de complexos insolúveis com o Ca no trato digestivo, anulando o efeito da fitase em dietas suplementadas com essa enzima, uma vez que a mesma não é capaz de hidrolisar estes complexos (Leeson, 1999).

Níveis plasmáticos de Ca e P são reduzidos quando há uma deficiência de P ou quando há um desbalanço na relação Ca:P da dieta, pois o excesso de cada um desses elementos causa precipitação do outro elemento no intestino (Leeson & Summers, 2001).

### *1.3. Exigência nutricional de Cálcio e Fósforo para codornas de postura*

A utilização dos minerais Ca e P pelo organismo dependem da idade e do tipo de animal, uma vez que as recomendações nutricionais variam entre as fases de crescimento e produção (Vargas et al., 2004). Nos estudos de exigências e biodisponibilidade dos minerais para aves, utilizam-se além do desempenho, tecidos-alvo onde existe maior sensibilidade de resposta com a variação do conteúdo dietético (Bertechini, 2014).

Embora demonstrando uma grande defasagem de informação, alguns nutricionistas, ainda utilizam como bases nutricionais os requisitos propostos pelo NRC (1994) para codornas, onde o mesmo cita que, desde 1984, não se têm novas informações a respeito de exigências para codornas, demonstrando uma grande defasagem de informações. Além disso, não há uma padronização na divisão das fases

de crescimento entre os trabalhos científicos, sendo sugeridos 0,80% de Ca e 0,30% de fósforo disponível (Pd) durante a fase inicial e de crescimento.

As Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017) dividem as fases de crescimento em cria (1 a 14 dias de idade) e recria (15 a 35 dias de idade), sugerindo os valores destes minerais em 1,092% de Ca e 0,513% de Pd na fase de cria e 0,911% de Ca e 0,428% de Pd na fase de recria.

Já no trabalho de Silva & Costa (2009), as especificações nutricionais para codornas japonesas são de 0,60% de Ca e 0,30% de Pd na fase inicial (1 a 21 dias), 0,50% de Ca e 0,25% de Pd na fase de crescimento (22 a 42 dias) e, quando considerado o período total (1 a 42 dias), tem-se 0,55% de Ca e 0,26% de Pd.

Costa et al. (2009), trabalhando com codornas de postura e sete níveis de Ca, encontraram efeito quadrático sobre a conversão alimentar, o consumo de ração e o ganho de peso na fase inicial (1 a 21 dias) e propuseram a exigência de 1,26% e nessa fase o teor de Ca no tibiotarso e fêmur também foi afetado. Na fase de crescimento (22 a 35 dias), apenas a conversão alimentar foi influenciada sendo o melhor nível de 0,87%. Brandão (2005) também encontrou 1,26% como melhor de nível de Ca para ganho de peso na fase inicial (1 a 21 dias) e, na fase de crescimento (22 a 35 dias) encontrou 0,92% para conversão alimentar. O mesmo autor, estudando níveis de Pd, obteve influência na conversão alimentar, com níveis de 0,43% e 0,40% na fase inicial e de crescimento, respectivamente. Enquanto Camelo (2011), trabalhando com exigência de Pd com cinco tratamentos, encontrou efeito quadrático nas variáveis de consumo de ração, e conversão alimentar e efeito linear nas concentrações de Pd no osso, recomendando 0,34% de Pd disponível para codorna de postura de 8 a 14 dias de idade e 0,32 % para codornas de 15 a 29 dias.

No caso de codornas em fase de postura, o NRC (1994) recomenda a exigência nutricional de Ca de 2,5% e de Pd de 0,35%. Enquanto, nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017) recomendam a exigência de acordo com a produtividade e consumo de ração, sendo a média de 3,16% de Ca e 0,33% de Pd. Ambas as recomendações não dividem em fases de produção, sendo que o particionamento de fases permitiria atender corretamente as necessidades nutricionais das aves de acordo com sua fisiologia.

Silva & Costa (2009) sugerem duas divisões para fase de postura, sendo a primeira correspondente até o pico de produção com nível estimado de 2,95% de Ca e 0,35% de Pd, e a segunda 3,20% de Ca e 0,40% de Pd. Garcia et al. (2000), trabalhando



com codornas de 10 semanas de idade distribuídas em tratamento com esquema fatorial, sendo 4 tratamentos de Ca x 4 tratamentos de Pd, encontraram interação linear, sendo que o nível de Pd que maximizou essa interação foi de 0,36% e 3,06% de Ca. Enquanto, Amoha et al. (2012) trabalhando com codornas de 12 semanas de idade, submetidas a dieta contendo três níveis de Ca (2,5; 3,0 e 3,5%) e dois níveis de Pd (0,25 e 0,45%), concluem que a exigência foi maior que a praticada no mercado recomendando 2,5% de Ca, e que 0,45% de Pd foi satisfatório independente da quantidade de Ca. Já para Brandão et al. (2007) a quantidade de 3,5% de Ca vai otimizar o desempenho sem afetar a qualidade dos ovos, para codornas de 46 a 130 dias de idade.

#### *1.4. Cálcio e Fósforo na mineralização óssea*

A característica do osso que o distingue dos demais tecidos orgânicos é a mineralização da matriz, que produz um tecido extremamente rígido, capaz de desempenhar funções de sustentação e proteção (Ross & Rowrell, 1993). Essa matriz óssea também vai servir de reserva metabólica de Ca e P ao organismo, os quais podem ser mobilizados durante alterações da homeostase (Pizauro Júnior, 2002).

Pizauro Júnior (2002) também menciona o papel do esqueleto na homeostase do Ca, em que deve-se considerar a regulação da troca do Ca solúvel entre o osso e o fluido extracelular pelo PTH e a Vitamina D<sub>3</sub>, uma vez que existe uma tendência do Ca se difundir do meio saturado (fluido extracelular) para o meio de baixa concentração (fluido do tecido ósseo).

No entanto, sabe-se que células ósseas possuem receptores para PTH e que existem vários mecanismos pelos quais o Ca pode ser translocado para o fluido extracelular, em resposta à necessidade de manutenção da homeostase e, também, levar em consideração a remodelação óssea, em que primeiramente os osteoclastos são ativados, promovendo a reabsorção óssea solubilizando o material, essa cavidade é então invadida por células mononucleares que irão estimular a diferenciação de osteoblastos. Os osteoblastos participam da calcificação da matriz, através da secreção de pequenas vesículas ricas em fosfatase alcalina para o interior desta, somente durante o período em que a célula está produzindo a matriz óssea (Ross & Rowrel, 1993).

Tem sido verificado que a calcitonina diminui a formação e a atividade dos osteoclastos e estimula a atividade osteoblástica, de modo que haja mais osso

neoformado, aumentando a calcificação, por causar deposição de Ca e P, reduzindo rapidamente concentrações plasmáticas desses íons (Pizauro Júnior, 2002).

O tamanho esquelético obtido no desenvolvimento da ave pode determinar as reservas de Ca no pico de produção de ovos (Coelho, 2001). O Ca acumulado nos ossos durante o crescimento servirá como reservatório para ser utilizado durante toda a vida do animal (Honma, 1992). Desde o nascimento da ave, há a formação de osso estrutural e durante a maturidade sexual existe aumento dos níveis de estrógeno que resulta em desvio na formação do osso estrutural para a acumulação de osso medular (Whitehead & Fleming, 2000).

Este tipo ósseo é conhecido por ser um reservatório lábil de Ca e é utilizado como fonte secundária de Ca para formação da casca do ovo em períodos de privação de alimentos (Whitehead, 2004). Esse fornecimento de Ca para formação da casca vai ser constantemente influenciado pela esteirogênese ovariana, onde estrogênios e androgênios estimulam osteoblastos a depositar Ca no osso medular (Rutz et al., 2005). Este tecido medular ósseo é encontrado nos ossos longos em aves fêmeas e por apresentar uma resposta rápida ao nível de estrogênio circulante, sugere que os osteoblastos nesses ossos sejam altamente sensíveis a esse hormônio (Hiyama et al., 2009).

O osso medular é estrategicamente mais fraco que o osso estrutural por ser uma formação óssea baseada em uma estrutura de fibras de colágeno irregulares, o que facilita sua degradação e sua recomposição (Fleming, 1998). E também passa por períodos de deposição e reabsorção óssea (Rutz et al., 2005), em função da necessidade de Ca no útero para formação da casca.

- Importância dos métodos de análise:

O tecido ósseo é sensível a diversos fatores nutricionais, principalmente durante o crescimento (Junqueira & Carneiro, 1999). Porém, mesmo com toda a importância deste desenvolvimento ósseo, a maioria das pesquisas vem sendo realizadas considerando índices de desempenho. Todavia a exigência para otimizar o desempenho das aves é inferior à exigência para maximizar a resistência óssea (Rostagno et al., 1996).

Para determinação da quantidade de minerais nos ossos das aves, a utilização de radiografias tem sido um parâmetro biofísico de grande importância (Louzada et al., 1998). Vulcano (2000) indicou a densitometria óptica radiográfica como um método preciso e confiável para ser utilizado por pesquisadores, permitindo avaliar de forma

mais segura a mineralização óssea, quando comparados com os parâmetros químicos, dessa maneira pode-se inferir de uma forma mais correta sobre a composição mineral dos ossos.

A concentração da enzima fosfatase alcalina no sangue é outro bom indicador de formação óssea, uma vez que os osteoblastos secretam grandes quantidades dessa enzima, indicando a deposição ativa de fosfato inorgânico na matriz óssea (Swenson & Reece, 1993).

A resistência óssea também é um parâmetro de qualidade óssea, onde Rath et al. (2000), relataram que a resistência óssea não está condicionada apenas ao nível de minerais, mas também à estrutura orgânica do osso. Os autores explicam que o osso é um tecido complexo composto pelas matrizes orgânicas e inorgânicas que oferecem suporte e resistência mecânica. A matriz inorgânica, principalmente, hidroxiapatita, fornece a resistência a compressão e a matriz orgânica, composta predominantemente por colágeno, provém a resistência a tensão e serve de suporte para a incorporação da matriz orgânica. Zoollitsch et al. (1996) citaram que a absorção de Ca ósseo para atender às necessidades metabólicas é um processo normal, e que a perda óssea de Ca somente comprometerá a resistência quando houver deficiência prolongada. Uma deficiência de minerais prolongada pode prejudicar as aves na fase de postura, por isso, é fundamental que as aves de postura tenham boa mineralização e estrutura óssea.

### *1.5. Cálcio e Fósforo na produção de ovos*

A qualidade do ovo está relacionada à nutrição, e o Ca e o P têm grande influência. Na avicultura de postura, perdas de enorme importância econômica estão relacionadas com a qualidade de casca dos ovos e aos índices de quebras que se traduzem em prejuízos diretos. Segundo Macari & Mendes (2005), a qualidade da casca é a principal preocupação das indústrias de postura, devido aos prejuízos econômicos associados à incidência de má qualidade.

A boa nutrição do Ca em poedeiras requer conhecimentos das necessidades metabólicas e da fonte de aporte de Ca. Sua exigência vai variar de acordo com função ou categoria reprodutiva, porém aves jovens têm melhor capacidade de absorver Ca do que aves velhas (Leeson et al., 1986).

A quantidade de Ca na casca dos ovos é próxima de 10% do total de estoque de Ca no corpo da ave (Macari & Mendes, 2005). Leeson & Summers (1997) elucidam que

a utilização das reservas de Ca dos ossos medulares para a formação dos ovos pelas aves resulta em uma perda súbita de 2 g de Ca corporal, sendo, portanto, necessária uma reserva de Ca nos ossos antes do período de produção. Como os ossos são compostos de fosfato de Ca, existe uma concomitante liberação de P durante a mobilização de Ca dos ossos (Leeson & Summer, 2001). O P é responsável pelo controle da acidose sanguínea durante a formação da casca do ovo, assim as necessidades dietéticas de P pelas poedeiras são reduzidas para evitar que o seu excesso comprometa esse controle e, por consequência, a qualidade da casca (Bertechini, 2014).

Mesmo as aves consumindo quantidades adequadas de Ca, aproximadamente 30% do mineral depositado na casca é oriundo dos ossos medulares, que funciona como uma reserva lábil de Ca, e pode ser mobilizada a qualquer momento durante a calcificação da casca do ovo (Ito, 1998).

A adequação da granulometria do calcário de acordo com a solubilidade desejada pode contribuir para aumento da taxa de absorção (Fassani et al., 2004). O aumento da solubilidade de Ca presente em partículas finas melhora a eficiência fisiológica em relação a partículas grosseiras de Ca (Rabon & Roland, 1985). Porém, partículas maiores de Ca fazem com que ele seja dissolvido mais lentamente e, assim, melhor aproveitado na formação da casca do ovo (Ajakaije et al., 1997), uma vez que, estarão presentes na moela durante a fase de maior demanda de Ca, que ocorre no período noturno em caso de poedeiras (Bertechini, 2014). Para codornas essa maior demanda ocorre no período luminoso.

O tamanho e a qualidade do ovo também são influenciados por fatores como fisiologia da ave, tempo de ovoposição, estrutura da gaiola, número de fêmeas por gaiola, frequência de colheita de ovos, condições de manejo, estado sanitário, temperatura e umidade e genética (Andriguetto et al., 1998).

Estudos relacionados ao processo de formação da casca demonstraram que há variação nas exigências e eficiências de absorção de Ca pelas aves nos diferentes estágios de formação do ovo (Etches, 1996). Segundo Yoshimura et al. (1997) os receptores de vitamina D estão mais concentrados no útero do que em outros segmentos do oviduto de poedeiras em produção, e a presença do ovo na glândula da casca (útero) estimula a síntese e acúmulo de calbidina e receptores de vitamina D neste órgão (Ieda et al., 1995).

Outro fator fisiológico importante é a maior eficiência orgânica de aproveitamento do Ca intestinal em relação ao obtido pela reabsorção óssea (Bertechini,

2004). Quando o útero está sem a presença do ovo, a absorção de Ca pelo intestino é em torno de 40%, e quando existe a presença do ovo, essa absorção chega a mais de 70% (Clunies & Lesson, 1995). Também deve-se ficar atento para não utilizar níveis altos de P inorgânico para não prejudicar a qualidade da casca, bem como nível muito baixo que pode comprometer a qualidade óssea da galinha poedeira (Bertechini, 2014).

A formação do ovo ocorre, primeiramente com a formação de todos os componentes internos, durando aproximadamente quatro horas. A segunda é um processo lento, com duração de aproximadamente 20 horas, onde ocorre a deposição de Ca durante a formação da casca do ovo na câmara calcifica, onde o íon  $\text{HCO}_3^-$  (bicarbonato) se combina com o  $\text{Ca}^{2+}$  formando  $\text{CaCO}_3$  (carbonato de cálcio), que representa 98% da composição da casca (Bertechini, 2007). O  $\text{CaCO}_3$  se apresenta na forma de cristais na casca do ovo, formando assim uma cobertura rígida e lisa (Macari & Gonzales, 2003), e sua composição perfaz cerca de 98,2% na composição da casca, o restante é formado por carbonato de magnésio (0,9%) e fosfato de Ca (0,9%) (Ornellas, 2001)

A relação Ca:P na casca é de aproximadamente 100:1, no entanto o P interage com o Ca durante a formação dos ossos sendo de extrema importância (Calderano, 2010). O excesso de P prejudica a liberação de Ca nos ovos, promovendo a mineralização inadequada da casca (Lesson & Summers, 2001).

A casca do ovo tem a principal função biológica de formar uma câmara para o desenvolvimento embrionário e do ponto de vista de produção comercial de ovos, a casca poderia ser vista como uma embalagem que envolve a gema e o albúmen para os proteger (Baião & Cançado, 1997). Os mesmos autores citaram a espessura da casca, a porcentagem da casca, o peso da casca por unidade de superfície de área, como métodos para avaliar a qualidade da casca.

Em relação à postura de ovos, as codornas apresentam ritmo diferenciado quando comparadas às galinhas, pois a uma maior frequência de postura de ovos ocorre no final da tarde, a partir das 15:00 horas, encerrando por volta das 23:00 horas (Albino & Barreto, 2003).

Pelos minerais estarem intimamente associados, entende-se que através da estimativa nutricional de Ca e Pd para codornas em crescimento e postura, os fatores devem ser estudados e avaliados de forma a entender seu comportamento.

## 2. Referências

- AJAKAIJE, A.; ATTEH, J.O.; LEESON, S. Effects of calcium source, particle size and time on in-vitro calcium solubility of some indigenous Nigerian mineral for poultry diets. **Animal Feed Science Technology**, v.65, p.293-298, 1997.
- ALBINO, L.F.T.; BARRETO, S.L.T. **Codornas: Criação de codornas para produção de ovos e carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 289p.
- AMOAHA, J.K.; MARTIN, E.A.; BARROGA, A.J.; GARILLO, E.P.; DOMINGO, I. Calcium and phosphorus requirements of Japanese quail layers. **Journal of Applied Biosciences**, v.54, p.3892-3900, 2012.
- ANDERSON, K.; HARVENSTEIN, G.B., BRAKE, J. Effects of strain and rearing dietary regimens on brown-egg pullet growth and strain, rearing dietary regimens, density, and feed space effects on subsequent laying performance. **Poultry Science**, v.74, p.1079-1092, 1995.
- ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L; MINARDI, I; GEMAE, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **A nutrição animal: as bases e os fundamentos de nutrição animal**. São Paulo: Nobel, 1998. 183p.
- BAIÃO, N.C.; CANÇADO, S.U. Fatores que afetam a qualidade da casca do ovo. **Caderno Técnico de Veterinária**, n.21, p.43-59, 1997.
- BERTECHINI, A.G. Exigências de minerais para aves. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2014. p.375-388.
- BERTECHINI, A.G. Situação Atual e Perspectivas Para a Coturnicultura no Brasil. In: IV SIMPÓSIO INTERNACIONAL E III CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA, 2010, Lavras, **Anais**. Lavras - MG, 2010.
- BERTECHINI, A.G. O ovo de codorna. In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL E II CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA, 2007. **Anais**. Lavras: UFLA, NECTA, 2007.
- BERTECHINI, A.G. Absorção e metabolismo de minerais em aves. In: CURSO DE FIOLOGIA DA DIGESTÃO E METABOLISMO DOS NUTRIENTES EM AVES, 2004, Jaboticabal, **Anais**. Jaboticabal –SP, 2004.
- BRANDÃO, P.A.; COSTA, F.G.P.; SILVA, J.H.V.; BRANDÃO, J.S.; NOBRE, J.G.S.; GOULART, C.C. Exigência de Ca para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.29, n.1, p.17-21, 2007.
- BRANDÃO, P.A. **Exigências de Ca e P para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) machos e fêmeas nas fases de reposição e postura**. 2005. 147p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB.

CALDERANO, A.A. Fracionamento de dietas com níveis diferenciados de Ca e P para aves de postura. **Revista eletrônica nutritime**, Artigo 122, v.7, n.5, p.1346-1352, Setembro/Outubro, 2010.

CALDERON, V.C. Efectos nutricionales sobre la calidad de la cáscara. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1994, Santos, **Anais**. Santos- SP, 1994. p.35-66.

CAMELO, L.C.L. **Requerimentos nutricionais de P disponível para codornas japonesas**. 2011. 58p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo- AL.

CLUNIES, M.; LEESON, S. Effect of dietary calcium level on plasma proteins and calcium flux occurring during a 24h ovulatory cycle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.75, p.439-444, 1995.

COELHO, M. Early maturing layers require altered management. **Feedstuffs**, p.11-16, June, 2001.

COSTA, F.G.P.; BRANDÃO, P.A.; SILVA, J.H.V.; LIMA, R.C.; GOULART, C.C.; PEREIRA, W.E. Exigências de Ca para codornas japonesas fêmeas de um a 35 dias de idade. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. Maringá, v.31, n.1, p.7-12, 2009.

COSTA, F.G.P.; JÁCOME, I.M.T.D.; SILVA, J.H.V. da; ARAÚJO, M.J. de; CAMPOS, K.M.F. de; BARBOSA, J.G.; PEIXOTO, J.P.N.; SILVA, J.C.A. da; NASCIMENTO, G.A.J. do; CLEMENTINO, R.H. Níveis de P disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n.2, p. 73-81, Abr./Jun, 2004.

EATON, D.C.; POOLER, J.P. **Fisiologia Renal de Vander**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 254p.

EDWARDS, H.M. Jr. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1018-1023, 2000.

ETCHES, R.J. **Reproduction in poultry**. Cambridge: CAB International, 1996. 398p.

FASSANI, E.J.; BERTECHINI, A.G.; KATO, R.K.; FIALHO, E.T.; GERALDO, A. Composição e solubilidade in vitro de calcários calcíticos de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, p.913-918, 2004.

FLEMING, R.H.; McCORMACK, H.A.; McTEIR, L.; WHITEHEAD, C.C.; Medullary bone and humeral breaking strength in laying hens. **Research in Veterinary Science**, v.64, p.63-67, 1998.

GARCIA, J.; MURAKAMI, A.E.; MARTINS, E.N.; FURLAN, A.C. Exigências nutricionais de Ca e P para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura. **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.733-739, 2000.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: I SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2003, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p.73-89.

HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18ª Ed. Barueri: Editora Manole LTDA, 1995. 1678p.

HIYAMA, S.; SUGIYAMA, T.; KUSUHARA, S.; UCHIDA, T. Evidence for the expression of estrogen receptors in osteogenic cells isolated from hen medullary bone. **Acta Histochemica**. v.111, n.6, p.501–507, 2009.

HOENDEROP, J.G.L.; NILIUS, B; BINDELS, R.J.M. Calcium absorption across epithelia. **Physiological Reviews**, n.35, p.373-422, 2005.

HONMA, N.H. **Efeitos dos níveis nutricionais de Ca sobre a capacidade reprodutiva e integridade dos ossos de galos reprodutores de corte**. 1992. 63p. *Dissertação* (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

IEDA, T.; SAITO, N.; ONO, T.; SHINADA, K. Effects of presence of egg and calcium deposition in the shell gland on levels of messenger ribonucleic acid of CaBP-D (28k) and on vitamin D3 receptor in the shell gland of the layung hens. **General and Comparative Endocrinology**, v.99, p.145-151, 1995.

ITO, R.A. Aspectos nutricionais relacionados à qualidade da casca de ovos. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 3., 1998, São Paulo. **Anais**. São Paulo: APA, 1998. p.119-138.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 427p.

KIRA, K.C., MURAKAMI, A.E., FURLAN, A.C. Utilização de diferentes fontes de Ca para poedeiras comerciais. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais**. Curitiba: FACTA, 1996. p.26.

KLASING, K.C. **Comparative avian nutrition**. New York: Cab International, 1998. 350p.

LEESON, S. Enzimas para aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES, FACTA, 1999, Campinas. **Anais**. Campinas: FACTA, 1999. p.173-185.

LEESON,S.; SUMMERS, J. **Nutrition of the chicken**. Ontario: University Books, 2001. 591p.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. Ontario: Book University, 1997. 350p.



LEESON, S.; JULIAN, R.J.; SUMMERS, J.D. Influence of prelay and early-lay dietary calcium concentration on performance and bone integrity of leghorn pullets. **Canadian Journal Animal Science**, v.66, p.1087-1095, 1986.

LOUZADA, M.J.Q.; PELÁ, C.A.; BELANGERO, W.D.; SANTOS-PINTO, R. Avaliações de densidade óssea em imagens radiográficas: estudo em peças ósseas de cães. **Caderno de Engenharia Biomédica**, v.14, n.1, p.47-64, jan-jun, 1998.

MACARI, M.; MENDES, A.A. **Manejo de matrizes de corte**. Campinas: FACTA, 2005. 428p.

MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2003. p.472-498.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.

McDOWELL, L.R. **Calcium and Phosphorus – Minerals in Animal and Human Nutrition**. California: Academy Press Inc, 1992, p.26-77.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Edit.). **Fisiologia Aviária: aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.167-173.

MUNIZ, E.B.; ARRUDA, A.M.V.; FASSANI, E.J. TEIXEIRA, A.S.; PEREIRA, E.S. Avaliação de Fontes de Ca para Frangos de Corte. **Revista Caatinga**. v.20, n.1, p.05-14, 2007.

MURAKAMI, A.E.; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**. Jaboticabal: Funep/Unesp, 1998. 79p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Mineral Tolerance of Animal**. Washington: National Academy Press, 2005. 97p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Poultry**. Washington: University Press, 1994. 155p.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. São Paulo: Editora Metha, 2001. 330p.

PIZAURO JÚNIOR, J.M. 2002. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M., FURLAN, R.L. E GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frango de corte**. Jaboticabal: FUNEP. p.247-265.

PIZZOLANTE, C.C. **Estabilidade da fitase e sua utilização em frangos de corte**. 2000. 121p. *Tese* (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras –MG.

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

RABON, H.W.Jr.; ROLAND, D.A. Solubility comparasions of limestones and oystershells from different companies, and the short term effects of switching limestone varying in solubity in egg specifc gravity. **Poultry Science**, Abstracts, v.64, p.39, 1985.

ROSS, M.H.; ROWRELL, L.J. **Histologia texto e atlas**. São Paulo: Média Panamericana, 1993. 779p

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGURES, P. B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C. O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2017. 488p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. GOMES, P.C; OLIVEIRA, R.F; LOPES, D.C; FERREIRA; A.S; BARRETO, S.L.T; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. 252p.

ROSTAGNO, H.S.; BARBARINO JR., P.; BARBOZA, W.A. Exigências nutricionais de aves determinadas no Brasil. In: **Simpósio internacional sobre exigências nutricionais de aves e suínos**, 1., 1996, Viçosa. **Anais**. Viçosa: UFV, 1996. p.361-388.

RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; LOPES, P.S.; POZZA, P.C. Exigência de P disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.187-196, 2001.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; PAN, E.A. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. **Manejo de matrizes de corte**. Campinas: FACTA, 2005. p.75-144.

SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YOUNG, R.J. **Nutrition of the chicken**. Ithaca: Ed Scott, M.L., 1982. p.433.

SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. **Tabela para codornas japonesas e européias**. Jaboticabal: FUNEP, 2009. 110p.

SMITH, O.B.; KABAJA, E. Effect of high dietary calcium and wide calcium/phosphorus rations in broiler diets. **Poultry Science**. v.64, p.1713-1720, 1984.

SOHAIL, S.S.; ROLAND, D.A. Influence of dietary phosphorus on performance of HyLine W36 hens. **Poultry Science**, v.81, p.75-83, 2002.

STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. **Egg science and technology**. New York: Food Products Press. 1995. 592p.

SWENSON, M.J.; REEC,W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.488.

VARGAS JUNIOR, J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CUPERTINO, E.S.; CARVALHO, D.C.O.; SILVA, M.A. E PINTO, R. Níveis

nutricionais de Ca e de P disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.936-946, 2004.

VULCANO, L. C. Determinación de los valores normales de la densidad mineral ósea del carpo accesorio de equinos da la raza Puro Sangue Ingles por medio de la densitometría optica em imagen radiográfica. **Imagen Veterinaria**. v.3, n.6, p.237-240, 2000.

WHITEHEAD, C.C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, v.83, p.193-199, 2004.

WHITEHEAD, C.C. Nutrition and skeletal disorders in broilers and layers. **Poultry International**. v.34, p.40-48, 1995.

WHITEHEAD, C.C.; FLEMING, R.H. Osteoporosis in Cage Layers. **Poultry Science**, v.79, p.1033-1041, 2000.

YOSHIMURA, Y.; OHIRA, H.; TAMURA, T. Immunocytochemical localization of vitamin D receptors in the shell gland of immature, laying, and molting hens. **General and Comparative Endocrinology**, v.108, p.282-289, 1997.

ZOOLLITSCH, W.; ZHIQIANG, C.; PEGURI, A., et al. Nutrient requirements of laying hens. In. Simpósio Internacional sobre exigência nutricionais de aves e suínos. Editado por HÓRACIO SANTIAGO ROSTAGNO. Viçosa. 1996, p.109-159.

## II- OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho teve como objetivo estimar as exigências nutricionais de cálcio e fósforo disponível para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em fase de crescimento (cria e recria) e produção. Com a determinação do nível ótimo desses minerais na dieta, pretende-se melhorar os índices zootécnicos, maximizando a eficiência produtiva das codornas.

### *Objetivos Específicos*

- Estimar a exigência de cálcio e fósforo disponível e sua relação para codornas japonesas em fase de cria (1 a 14 dias de idade), recria (15 a 35 dias de idade) e postura (64 a 168 dias de idade) por meio do desempenho zootécnico das aves;
- Determinar o perfil bioquímico serico de codornas japonesas aos 14, 42 e 168 dias de idade quando submetidas a diferentes níveis de cálcio e fósforo disponível;
- Analisar os parâmetros ósseos de codornas japonesas aos 14, 42 e 168 dias de idade quando submetidas a diferentes níveis de cálcio e fósforo disponível;
- Examinar o efeito residual de aves criadas com níveis de cálcio e fósforo disponível na recria, durante a postura (64 a 168 dias);
- Avaliar o efeito dos diferentes níveis de cálcio e fósforo disponível sobre a produção e qualidade de ovos de codornas japonesas em postura (64 a 168 dias de idade).

### **III – Exigência de cálcio e fósforo disponível para codornas japonesas em crescimento**

**Resumo-** Foram realizados três experimentos com o objetivo de determinar as exigências de cálcio (Ca) e fósforo disponível (Pd) para codornas japonesas nas fase de cria (1 a 14 dias de idade) e recria (15 a 42 dias de idade) e verificar seus efeitos sobre desempenho, variáveis ósseas e perfil bioquímico. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com 4 níveis de Ca (0,57; 0,81; 1,05 e 1,29%) x 4 níveis de Pd (0,21; 0,32; 0,43 e 0,54%) totalizando 16 tratamentos com 3 repetições, 38 e 35 codornas por unidade experimental nas fases de cria (n=1824) e recria(n=1680), respectivamente. No terceiro experimento foi avaliado o efeito da recria durante a fase de postura utilizando- se do mesmo delineamento com 12 aves por unidade experimental (n= 576). Na fase de cria, houve interação ( $P < 0,05$ ) entre os minerais para o consumo de ração (CR), com comportamento quadrático, estimando os pontos de mínima com 0,99% de Ca e 0,39% de Pd. De maneira independente, nesta fase, o peso médio (PM), ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA) também apresentaram efeito quadrático dos níveis de Ca e Pd, para otimizar essa variáveis com 0,90; 0,90 e 0,94% de Ca e 0,37; 0,37 e 0,38% de Pd respectivamente. Na fase de recria, houve interação ( $P < 0,05$ ) entre os níveis de Ca e Pd para PM, GP, CR e CA com efeito quadrático para ambos minerais, estimando os níveis de 0,93; 0,94; 0,94 e 0,94% de Ca e 0,39; 0,40; 0,36 e 0,38% de Pd respectivamente. Em ambas as fases a viabilidade não foi influenciada ( $P > 0,05$ ). Os parâmetros relacionados à qualidade óssea foram influenciados pelos minerais estudados nas duas fases, interagindo entre si ou isoladamente, permitindo estimar níveis pouco acima dos recomendados, demonstrando a importância dos minerais frente à qualidade do osso. Os resultados do terceiro experimento confirmam as estimativas obtidas na fase de recria. Conclui- se de acordo com os gráficos de contorno sobrepostos, que é possível otimizar o desempenho com os níveis de 0,92% de Ca e 0,37% de Pd na fase de cria e 0,94% de Ca e 0,39% de Pd na fase de recria.

**Palavras-chave:** *Coturnix coturnix japonica*, densidade óssea, fosfatase alcalina

### **III - Requirement of calcium and available phosphorus in Japanese quail grower diets**

**Abstract-** Three experiment was carried out with the objective of determine the requirements of calcium (Ca) and available phosphorus (aP) for grower Japanese quails during the starter (1-14 days old) and grower phase (15-42 days old) and to evaluate their effects on performance, bone variables and biochemical profile. The experimental design was the complete randomized, in factorial with 4 levels of Ca (0.57, 0.81, 1.05 and 1.29%) x 4 levels of Pa (0.21, 0.32, 0.43 and 0.54%) totaling 16 treatments with 3 replicates each, 38 and 35 quails per experimental for starter phase (n=1824) and for the grower phase (1680), respectively. In the third experiment the effect of grower phase during the laying phase was evaluated using the same design with 12 birds per experimental unit (n=576). In the starter phase there was interaction (P<0.05) between the minerals for the feed intake (FI) obtaining quadratic effect and estimating the minimum points with 0.99% of Ca and 0.39% of Pa. Independently, at this stage, the body weight (BW), weight gain (WG) and feed conversion (FC) also presented quadratic effect, estimating the best levels with 0.90; 0.90 and 0.94% Ca and 0.37; 0.37 and 0.38% Pa respectively. In the grower phase, there was interaction (P <0.05) for MW, WG, FC and FC with quadratic effect for both minerals, to optimize these variables with levels of 0.93; 0.94; 0.94 and 0.94% Ca and 0.39; 0.40; 0.36 and 0.38% of Pa respectively. In both phases the viability was not influenced. The parameters related to bone quality were influenced by the minerals studied in the two phases, interacting with each other or alone, allowing the estimate of levels slightly above those recommended, demonstrating the importance of the same in relation to bone quality. The results of the third experiment confirm the estimates obtained in the grower phase. It was concluded according to the overlapped contour plots that the optimized responses of the effect of these minerals were 0.92% of Ca and 0.37% of Pd in the starter phase and 0.94% % Ca and 0.39% Pd in the grower phase.

**Key words:** alkaline phosphatase, bone density, *Coturnix coturnix japonica*

### 3.1. Introdução

As necessidades de cálcio e fósforo são, dentre os minerais, as mais importantes para a nutrição animal. por serem necessários não apenas para a ótima taxa de crescimento, mas também para a mineralização óssea, e estarem envolvidos em grande número de processos fisiológicos, como a transmissão de impulsos nervosos, contração muscular, coagulação sanguínea e ativação de sistemas enzimáticos (Klasing, 1998). O cálcio em excesso pode agir como antagonista, dificultando a absorção de outros minerais tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros (Smith & Kabaja, 1984). Esse excesso também pode alterar a utilização de fósforo, devido à alteração da relação Ca:P (Anderson et al., 1995).

A influência dos níveis de cálcio e de fósforo na dieta sobre a deposição e retenção óssea desses minerais é de suma relevância, uma vez que os ossos são tecidos metabolicamente ativos, e em níveis deficientes há mobilização óssea para a corrente sanguínea, enquanto que quando estão em níveis adequados ocorre a deposição destes minerais no osso, e todo esse processo pode acarretar em uma influência direta no crescimento da ave, assim como do desempenho produtivo durante a postura. Por isso, nos estudos de exigências e biodisponibilidade dos minerais para aves utilizam-se, além do desempenho, tecidos-alvo onde existe maior sensibilidade de resposta com a variação do conteúdo dietético (Bertechini, 2014).

No entanto, a utilização destes minerais pelo organismo depende da idade e do tipo de animal, uma vez que as recomendações nutricionais variam entre as fases de crescimento e produção (Vargas et al., 2004). Além disso, ainda não existe padronização na divisão das fases de crescimento para codornas nos trabalhos científicos. Essa falta de padronização durante as fases no desenvolvimento de codornas vem sendo discutida há muito tempo, visto que Murakami & Arikí (1998) já observavam que não havia uniformidade na determinação dos períodos para as fases inicial e de crescimento e nos níveis nutricionais recomendados para as fases iniciais.

Com o intuito de suprir a falta de informações na nutrição de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), diversas pesquisas vêm sendo feitas para adequação dos corretos níveis nutricionais maximizando, assim, a produção e obtendo melhores índices zootécnicos. Para que isso ocorra, é de extrema importância que se conheça as reais necessidades nutricionais das codornas. Determinar os requisitos nutricionais corretos é de grande importância para todas as espécies avícolas, uma vez que a dieta talvez seja o

principal fator para determinar seu desenvolvimento com o máximo potencial genético (Mariz et al., 2016). Outra justificativa também está relacionada ao material genético nacional dessa espécie que vem sendo aperfeiçoado a cada dia, obtendo importantes avanços na área de melhoramento genético para produção de ovos.

Portanto, objetivou-se com esse estudo avaliar as exigências de cálcio e fósforo disponível para codorna de postura durante as fases de cria (1 a 14 dias) e recria (15 a 42 dias), visando à maximização do desempenho zootécnico, além de verificar seus efeitos sobre as variáveis ósseas e perfil bioquímico e avaliar o efeito residual da recria durante a fase de postura.

### **3.2. Materiais e Métodos**

Todos os procedimentos adotados seguiram as normas do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo nº 5250070515 /2015). Os experimentos foram realizados no setor de Coturnicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá.

#### *3.2.1. Animais, Instalações e Manejo*

No experimento I, foram utilizadas 1824 codornas japonesas fêmeas (*Coturnix coturnix japonica*), adquiridas de um criatório comercial com um dia de idade, da linhagem comercial Vicami, até os 14 dias de idade, compreendendo então a fase de cria. Essas aves foram alojadas num galpão convencional, dividido em 48 boxes de 2,5 m<sup>2</sup> com cama de palha de arroz.

O experimento II compreendeu a fase de recria, em que foram utilizadas 1680 codornas de postura fêmeas com 15 dias de idade, adquiridas do mesmo criatório comercial, e criadas até o início deste experimento, recebendo ração convencional de milho e farelo de soja de acordo com as exigências de Rostagno et al. (2011). Aos 15 dias de idade as aves foram então alojadas no mesmo galpão convencional e subdivididas nos boxes de acordo com os tratamentos até os 42 dias de idade.

Para avaliar o efeito residual da fase de recria durante a fase de postura, no experimento III, foram utilizadas 576 codornas que foram submetidas aos tratamentos do experimento dois. As aves foram transferidas para o galpão de postura com 42 dias de idade e alojadas em gaiolas de arame galvanizado, dispondo de bebedouros tipo *nipple* e de comedouros tipo calha até 168 dias de idade.



Durante todo o período experimental, a ração e a água foram fornecidas *ad libitum* para as aves. Em cada unidade experimental, foram utilizados círculos de proteção e campânula como fonte de aquecimento até o 10º dia de idade. O programa de iluminação utilizado foi por meio de luz natural no experimento I e II, e no experimento III o foto período adotado iniciou com 14 horas de luz e, semanalmente, foram adicionados 30 minutos até atingir 17 horas de luz natural + artificial controlado com o auxílio de relógio automático com intensidade luminosa de 21 lux.

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram coletados no início da manhã (8h00min) e, à tarde (15h30min), durante todo período experimental, por intermédio de termohigrômetros, em três pontos distintos do galpão (início, meio e fim), registrando, assim, a temperatura e umidade relativa máxima e mínima dentro do boxe, tendo a média de máxima e mínima no experimento I de 33- 25 °C e 76- 50 %, no experimento II média de máxima e mínima 33 - 20 °C e 87- 42% e no experimento III tiveram máxima e mínima de 24 - 16°C e 87 - 57 %.

### 3.2.2. *Delineamento Experimental e Dietas*

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4 x 4 (níveis de cálcio 0,57; 0,81; 1,05; 1,29% x níveis de fósforo disponível 0,21; 0,32; 0,43; 0,54%) totalizando 16 tratamentos com 3 repetições e 38 codornas por unidade experimental no experimento I (fase de cria) e 35 codornas por unidade experimental no experimento II (fase de recria). Em ambas as fases, as codornas receberam as mesmas rações, formuladas à base de milho e farelo de soja considerando os valores de composição química dos alimentos e as recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011), exceto para os níveis de cálcio e fósforo disponível (Tabelas 1 e 2).

No experimento III, as aves foram distribuídas conforme os tratamentos que pertenciam na fase de recria, totalizando 16 tratamentos com 3 repetições e 12 codornas por unidade experimental. A ração fornecida foi convencional baseada em milho e farelo de soja, de acordo com as exigências de Rostagno et al. (2011) para codornas em fase de postura.

### 3.2.3. Índices de Desempenho

Durante a cria e recria, as codornas e as rações foram pesadas semanalmente para determinação do respectivo peso corporal (g), do consumo de ração (g), do ganho de peso (g) e da conversão alimentar. O ganho de peso foi determinado pela diferença entre os pesos final e inicial de cada unidade experimental. O consumo de ração pela diferença entre a ração fornecida e as sobras de ração. A conversão alimentar (CA) pela relação entre o consumo de ração e o ganho de peso das aves. As aves mortas eram contabilizadas diariamente para correção do consumo de ração e também para a determinação da viabilidade de cada unidade experimental, determinada pela relação entre o número de aves no final e no início do experimento.

Para avaliar o efeito da recria durante a postura, a partir do 64º dia, durante cinco ciclos de produção, que compreendiam 21 dias cada, os ovos eram coletados diariamente (8h00), a fim de se calcular a taxa de postura (%) e a produção de massa de ovos (g ovos/ave/dia). Os ovos quebrados, trincados, e de casca mole eram contabilizados separadamente. O peso médio do ovo foi determinado a partir de todos os ovos viáveis nos três últimos dias de cada ciclo. Já as codornas e as rações foram pesadas no último dia de cada ciclo para determinação do respectivo peso corporal (g), do consumo de ração (g), e da conversão alimentar (g ração/ g de ovos e por dúzia de ovos), as aves mortas eram contabilizadas diariamente para correção do consumo de ração e também para a determinação da viabilidade de cada unidade experimental, conforme experimento I e II.

Tabela 1. Composição percentual das rações experimentais para codornas japonesas em crescimento com níveis de cálcio e fósforo disponível para a fase de cria (1 a 14 dias de idade) e para a fase de recria (15 a 42 dias de idade)

Cálcio (%)	0,57				0,81				1,05				1,29			
Fósforo disponível (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54
Milho grão	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631	57,631
Farelo de soja 45%	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380	33,380
Glúten de milho 60%	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544	2,544
Óleo de soja	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005
Inerte <sup>1</sup>	2,726	2,454	2,182	1,91	2,089	1,817	1,546	1,274	1,453	1,181	0,909	0,637	0,816	0,544	0,272	0,000
Fosfato monocálcico	0,529	1,108	1,687	2,266	0,529	1,108	1,687	2,266	0,529	1,108	1,687	2,266	0,529	1,108	1,687	2,266
Calcário calcítico	0,971	0,664	0,357	0,050	1,608	1,301	0,993	0,686	2,244	1,937	1,630	1,323	2,881	2,574	2,267	1,960
Suplemento vit/min <sup>2</sup>	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Sal comum	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397
L- Lisina HCl	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152	0,152
DL- Metionina	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157
L-Treonina	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098
Antioxidante <sup>3</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

<sup>1</sup>Areia lavada; <sup>2</sup>Suplementação vitamínica/mineral (níveis de garantia por kg do produto); Vit. A – 3.125,000 UI/g; Vit. D3 – 625.000,000 UI/g; Vit. K3 – 975,000mg; Vit. B1 – 1.225,000 mg; Vit. B2 – 2.200,000 mg; Vit. B6 – 2.062,500 mg; Vit. B12 – 6.250,000 mcg; Vit. E – 15.645,000 UI; Pantotenato de Cálcio – 14.843,750 mg; Niacina – 15.312,500 mg; Ácido fólico – 416,667 mg; Biotina – 62,500mg; Colina – 81.375,00mg C; Antioxidante – 1.250,000 mg e <sup>3</sup>BHT (Butil Hidroxi Tolueno)

Tabela 2. Composição nutricional calculada das rações experimentais para codornas japonesas em crescimento com níveis de cálcio e fósforo disponível para a fase de cria (1 a 14 dias de idade) e para a fase de recria (15 a 42 dias de idade)

Cálcio (%)	0,57				0,81				1,05				1,29			
Fósforo Disponível (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54
EM (kcal/kg)	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900
Proteína Bruta (%)	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00
Cálcio (%)	0,570	0,570	0,570	0,570	0,810	0,810	0,810	0,810	1,050	1,050	1,050	1,050	1,290	1,290	1,290	1,290
Fósforo disponível (%)	0,210	0,320	0,430	0,540	0,210	0,320	0,430	0,540	0,210	0,320	0,430	0,540	0,210	0,320	0,430	0,540
Lisina digestível (%)	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120
Met.+cist. digestível (%)	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760
Treonina digestível (%)	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790
Triptofano digestível (%)	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219
Sódio (%)	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176	0,176
Cloro (%)	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315	0,315
Potássio (%)	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781	0,781
Balanço eletrol. mEq/kg	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54	187,54

#### 3.2.4. *Qualidade interna e externa dos ovos*

Nos três últimos dias de cada ciclo do experimento III, também foram realizadas as análises de qualidade interna e externa dos ovos. A gravidade específica foi obtida através do método de imersão de todos os ovos em solução salina, de acordo com a metodologia descrita por Hamilton (1982).

Para as demais análises de qualidade, três ovos dentro do peso médio da unidade experimental foram identificados e avaliados. Os três ovos foram seccionados e o conteúdo interno disposto sobre um vidro escuro para a determinação da altura (mm) e do diâmetro (mm) da gema e do albúmen a partir da leitura realizada com paquímetro digital. A determinação da altura da gema foi realizada no seu ponto mais alto e para a altura do albúmen, a medida foi feita na região mais próxima à gema. O diâmetro foi obtido pela média de duas mensurações transversais da gema. Por meio destes dados, foi possível avaliar a qualidade interna dos ovos, determinando o índice de gema e a unidade Haugh (1937).

Posteriormente, a gema e o albúmen foram separados para a pesagem da gema em balança de precisão, as cascas foram lavadas e, após estarem secas, também foram pesadas, então, o peso do albúmen foi obtido subtraindo-se do peso do ovo, o peso da gema e da casca, esses dados permitiram quantificar as porcentagens de gema, albúmen e casca em relação ao peso do ovo.

Foi determinado o peso da casca por unidade de superfície de área (PCSA), calculado, utilizando-se a fórmula adaptada por Rodrigues et al. (1996). E então foram utilizadas para determinar a matéria seca e a concentração de matéria mineral e cálcio, seguindo as metodologias descritas por AOAC (2005).

#### 3.2.4. *Perfil bioquímico sérico*

A fim de quantificar os níveis séricos de cálcio total, fósforo, albumina, proteína total e fosfatase alcalina, realizou-se a colheita de sangue de quatro aves por unidade experimental ao final do experimento I e duas aves por unidade experimental no final do experimento II, formando um pool. As codornas foram selecionadas dentro do peso médio da repetição ( $\pm 5\%$ ) e submetidas a um prévio jejum alimentar de 6 horas.

A colheita de sangue foi realizada pela veia ulnar e as amostras acondicionadas em tubos de ensaio, e centrifugadas imediatamente a 3.000 rpm por 15 minutos. O soro obtido foi separado e acondicionado em tubos *ependorf* identificados e armazenados a

-20°C até a realização das análises em espectrofotômetro (modelo bioplus 2000) utilizando-se kits comerciais (Gold Analisa Diagnóstica Ltda). O cálcio iônico foi obtido através da fórmula (Gold Analisa Diagnóstica Ltda): *Cálcio Iônico (mg/dL) =  $(6 * C - ((0,19 * PT) + A) / 3) / ((0,19 * PT) + A + 6)$* ; onde: C = Cálcio sérico (mg/dL); PT = Proteína total sérica (mg/dL) e A = Albumina sérica (mg/dL).

### 3.2.5. Variáveis ósseas

Duas aves por unidade experimental, que foram utilizadas na colheita de sangue, foram então sacrificadas conforme aprovação do comitê de ética e os ossos fêmur e tibiotarso (esquerdo) dissecados e preparados para análises de qualidade óssea e tibiotarso (direito) para análise histológica

Os ossos destinados à qualidade óssea foram então congelados (-20° C) até o início das análises. Posteriormente, foi determinado o índice de Seedor (Seedor et al., 1996), para isso, foram pesados em balança de precisão e medido o comprimento com auxílio de um paquímetro digital.

Estes ossos foram mergulhados em éter de petróleo por um período de 24 horas para serem desengordurados e então secos em estufa de ventilação forçada a 55° C por 72 horas para prosseguirem as análises.

A determinação da densidade óptica radiográfica foi realizada na Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Maringá, as peças ósseas foram colocadas sob filme periapical (marca Kodak Intraoral E-Speed Film), contendo um *stepwedge*, e radiografadas (raios-x odontológico DabiAtlante<sup>®</sup>, modelo Spectro 70X eletrônico (DabiAtlante, Ribeirão Preto, Brasil), operando a 70 kVp, 8 Ma), utilizando o tempo de exposição de 0,2 segundos e à distância foco-filme de 6 cm. O processamento das películas radiográficas foi realizado por meio de uma processadora automática Revel Indústria e Comércio de equipamentos Ltda., com tempo de trabalho de 150 segundos, operando com soluções da Kodak RP X-Omat. Foram então digitalizadas e gravadas em arquivos com extensão JPG progressivo.

A leitura das radiografias para a determinação da densidade das peças ósseas foi realizada, utilizando o software “Adobe Photoshop CS6”, através da ferramenta “Histograma”, a qual é baseada em uma escala de cinza, contendo 256 tons, no qual o zero representa o preto e o 256 representa o branco. A densidade óptica radiográfica foi obtida comparando a área de três pontos centrais do osso (10 pixels x 10 pixels) com um ponto do 3° degrau da escala de alumínio.

As análises de resistência óssea foram realizadas no Laboratório de Mecânica dos Solos do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Estadual de Maringá por meio de prensa para ensaios de resistência à compressão simples. Os ossos foram posicionados e apoiados pela região das epífises, na posição antero-posterior. A força foi aplicada na região central de sonda com velocidade de 5 mm/s e carga de 500 N (Newton), e mensurada no momento anterior à ruptura do osso.

Após a determinação da resistência óssea, foram determinadas a matéria seca e a concentração de matéria mineral, cálcio e fósforo seguindo as metodologias descritas por AOAC (2005).

Já o tibiotarso direito após total remoção do tecido aderente foi fixado em solução de paraformaldeído (10%), descalcificado em solução contendo ácido fórmico e citrato de sódio para evitar a hidrólise e o intumescimento do tecido ósseo, incluso em parafina e seccionados em micrótomo rotativo a 10 µm de espessuras. Foram então corados com hematoxilina-eosina. As imagens foram capturadas com câmera digital (Moticam 5MP), com ampliação final equivalente à objetiva de 4X, com o programa *Motic Image Plus*, versão 2.0, para a obtenção da espessura da placa epifisária e mensuração das áreas (diâmetro total, diâmetro medular e espessura da cortical).

### 3.2.6. Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do programa estatístico RStudio (R Core Team, 2013). O modelo abaixo descrito foi adotado para o teste dos efeitos, e em seguida, foi verificado o atendimento do pressuposto da normalidade dos resíduos.

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_i + \beta_j + \beta_i\beta_j + \epsilon_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  = variável medida na unidade experimental  $k$ , alimentada com dieta contendo o nível  $i$  de cálcio e o nível  $j$  de fósforo disponível;

$\beta_0$  = constante geral;

$\beta_i$  = efeito do cálcio;

$\beta_j$  = efeito do fósforo disponível;

$\beta_i\beta_j$  = efeito da interação entre cálcio e fósforo disponível;

$\epsilon_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Quando observado efeito significativo dos fatores ( $P < 0,05$ ), procedeu-se às análises de regressão polinomial para os níveis de cálcio e fósforo disponível, buscando estimar o modelo de melhor ajuste aos dados, sendo que a exigência nutricional foi determinada em função do modelo quadrático, conforme proposto por Sakomura & Rostagno (2016).

### 3.2.7. Gráficos de contornos sobrepostos

As variáveis de desempenho do experimento I e II que apresentaram efeito quadrático foram selecionadas para elaboração de um gráfico de contornos sobrepostos de acordo com o proposto por Oliveira- Bruxel (2016), por meio do programa estatístico RStudio (R Core Team, 2013).

Estes gráficos apresentam a visão superior de um gráfico de superfície, exibindo as respostas para as equações em funções dos fatores contínuos nos eixos, sendo que as linhas conectam pontos interpolados de igual valor, enfatizando a região onde a resposta para a equação está dentro de seus limites. Para obtenção destas linhas de contorno, faz-se necessário a implementação das equações do modelo estatístico ajustado para as variáveis de desempenho significativamente quadráticas, e do intervalo de dados utilizado para a obtenção destas, então o software constrói uma malha de dados com as estimativas dos resultados das equações para cada variável.

Os contornos são então apresentados em um gráfico, sobrepondo as linhas de resposta para cada equação. A partir do desdobramento da equação estimada para cada variável e obtenção do melhor ponto as respostas são definidas. Então, identifica-se nas linhas de contorno do gráfico, a área de intersecção das mesmas, que satisfaz simultaneamente todas as funções sobrepostas, e procede-se à estimativa dos valores a que correspondem nos eixos, representados pelos valores de cálcio e fósforo disponível.



### 3.3. Resultados e Discussão

#### 3.3.1. Índices de desempenho

Na fase de cria (1 a 14 dias de idade), o consumo de ração (CR) foi a única variável relacionada ao desempenho em que houve interação ( $P < 0,05$ ) entre cálcio (Ca) e fósforo disponível (Pd), e ambos minerais apresentaram efeito quadrático ( $P < 0,05$ ), estimando-se o menor consumo nos níveis de 0,99% de Ca e 0,39% de Pd (Tabela 3). De maneira independente, nesta fase, o peso médio (PM), ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA) também apresentaram efeito quadrático ( $P < 0,05$ ), sendo estimados os níveis de 0,90; 0,90 e 0,94% de Ca e 0,37; 0,37 e 0,38% de Pd respectivamente para otimizar estas variáveis. A viabilidade foi a única variável a não ser influenciada ( $P > 0,05$ ) pelos níveis dos minerais estudados.

Já na fase de recria (15 a 42 dias de idade), houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) para PM, GP, CR e CA com efeito quadrático para ambos minerais, sendo possível otimizar o desempenho das aves com a utilização de 0,93; 0,94; 0,94 e 0,94% de Ca e 0,39%; 0,40; 0,36% e 0,38% de Pd respectivamente (Tabela 4). Assim como na fase de cria, a viabilidade também não foi influenciada ( $P > 0,05$ ) durante a fase de recria pelos níveis de Ca e Pd testados.

As aves, em geral, têm a capacidade de regular o consumo de Ca de forma a atender suas necessidades nutricionais (Classen & Scott, 1982), o que pode explicar a diminuição do CR observado até certo ponto à medida que houve aumento dos níveis de Ca. O aumento conseguinte pode ser devido ao Ca reduzir a energia metabolizável da dieta por meio da combinação com gordura dietética formando sabão insolúvel (El-Katcha et al., 2014). O mesmo comportamento que foi encontrado para o Pd, provavelmente, está relacionado ao antagonismo criado pelo excesso de Ca, que dificulta a absorção de alguns minerais, dentre eles o fósforo (Smith & Kabaja, 1984), aumentando a necessidade de ingestão das aves na tentativa de suprir essa deficiência.

Tabela 3. Desempenho de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
PM (g)	40,02	41,68	42,33	39,30	41,62	43,58	43,66	40,35	43,23	43,48	43,14	43,40	39,80	38,25	40,49	39,47	0,294
GP (g)	33,67	35,29	36,07	32,79	35,25	37,07	37,39	33,90	36,78	37,14	36,70	37,25	33,47	31,85	34,09	33,13	0,296
CR (g/ave)	97,10	91,93	92,32	95,41	90,58	90,05	86,17	83,39	91,92	84,99	84,45	87,84	90,31	88,25	85,63	96,55	0,664
CA	2,88	2,61	2,56	2,91	2,57	2,43	2,31	2,46	2,50	2,29	2,30	2,36	2,70	2,77	2,51	2,92	0,033
Viabilidade(%)	96,87	97,36	94,14	95,99	93,69	97,33	98,23	95,04	96,38	95,58	93,24	95,52	95,13	96,44	95,99	94,58	0,367
	Equações de Regressão								R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa				
										Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd			
	PM = 18,7036 + 41,3840Ca - 22,9167Ca <sup>2</sup> + 35,5456Pd - 48,5537Pd <sup>2</sup>								0,54	< 0,0001 (Q)	0,0070 (Q)	0,6141	0,90	0,37			
	GP = 12,2942 + 41,3939Ca - 22,9022Ca <sup>2</sup> + 35,5119Pd - 48,3815Pd <sup>2</sup>								0,53	< 0,0001 (Q)	0,0083 (Q)	0,5646	0,90	0,37			
	CR = 158,5346 - 92,6784Ca + 41,3484Ca <sup>2</sup> - 146,0280Pd + 151,3430Pd <sup>2</sup> + 28,4192Ca * Pd								0,59	< 0,0001 (Q)	< 0,0001 (Q)	0,0421	0,99	0,39			
	CA = 5,9008 - 5,37036Ca + 2,8610Ca <sup>2</sup> - 5,9702Pd + 7,8340Pd <sup>2</sup>								0,73	< 0,0001 (Q)	< 0,0001 (Q)	0,6828	0,94	0,38			

Ca: cálcio; Pd: fósforo disponível; EP: erro padrão; PM: peso médio; GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; Q: efeito quadrático

Tabela 4. Desempenho de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
PM (g)	133,56	138,09	141,74	142,67	144,29	147,12	147,70	143,19	144,70	147,90	149,01	142,19	137,41	141,18	141,95	138,51	0,667
GP (g)	93,54	96,41	99,40	102,88	102,66	103,83	104,77	102,55	101,80	104,59	106,12	99,25	97,40	102,14	101,24	98,63	0,589
CR (g/ave)	507,47	464,00	482,63	495,90	482,97	432,60	439,39	434,79	458,22	445,29	464,69	472,56	458,80	468,67	493,29	507,49	3,463
CA	5,43	4,82	4,86	4,82	4,71	4,17	4,20	4,24	4,50	4,26	4,38	4,77	4,71	4,59	4,87	5,15	0,053
Viabilidade (%)	95,76	93,81	95,83	94,95	88,09	94,75	90,14	94,03	91,19	97,98	90,52	90,06	96,55	90,63	94,79	95,15	0,853
	Equações de Regressão								R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa				
										Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	P			
	PM = 66,0589+116,0046CA-55,3349Ca <sup>2</sup> +144,7863Pd-145,5406Pd <sup>2</sup> -31,9760Ca*Pd								0,72	< 0,0001 (Q)	< 0,0001 (Q)	0,0074	0,93	0,39			
	GP= 42,6981+ 83,4660Ca-36,8056Ca <sup>2</sup> + 115,2715Pd-102,2039Pd <sup>2</sup> -34,6111Ca*Pd								0,50	< 0,0001 (Q)	0,0073 (Q)	0,0127	0,94	0,40			
	CR=860,2602-609,4726Ca+268,8043Ca <sup>2</sup> -744,3943Pd+659,38361Pd <sup>2</sup> +288,0366Ca*Pd								0,71	< 0,0001 (Q)	0,0002 (Q)	< 0,0001	0,94	0,36			
	CA= 11,3535-10,0323Ca +4.3764Ca <sup>2</sup> -12,9602Pd+11,2603Pd <sup>2</sup> +4,6920Ca*Pd								0,82	< 0,0001 (Q)	< 0,0001 (Q)	< 0,0001	0,94	0,38			

Ca: cálcio; Pd: Fósforo disponível; EP: erro padrão; PM: peso médio; GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; Q: efeito quadrático

Neste estudo o PM e o GP apresentaram efeito inverso ao CR, em que embora o consumo tenha diminuído, ainda assim proporcionou maiores PM e GP. Essa explicação para aumento do PM e GP pode estar relacionada ao processo de absorção desses minerais, sendo mais eficiente quando presentes em quantidades adequadas. Segundo Maiorka & Macari (2002), um dos fatores que intervêm na absorção de Ca está relacionado ao seu nível de inclusão, onde o excesso deste mineral vai diminuir sua absorção, fator este provavelmente ocasionado pela saturação das proteínas transportadoras de cálcio. Essa saturação influencia diretamente na absorção de P, devido a uma das formas de absorção ocorrer pelo transporte ativo dependente do calcitriol (assim como a absorção de Ca) e de sódio (Pizzolante, 2000). Portanto, a absorção do P se dá principalmente em resposta ao equilíbrio da calcemia, em que a absorção de Ca é acompanhada da absorção do P (Bertechini, 2004).

O CR e o GP influenciaram diretamente a CA, e foram estimados níveis ideais de Ca e Pd semelhantes a das outras variáveis do desempenho para ambas as fases (cria e recria), confirmando a influência desses minerais durante o crescimento das codornas japonesas.

Utilizando-se do gráfico de contornos sobrepostos, foram estimados os níveis otimizados, que na fase de cria, a região que satisfaz os critérios de respostas desejados foi com 0,92% de Ca e 0,37% de Pd (figura 1) e, na fase de recria, 0,94% de Ca e 0,39% de Pd (figura 2). O ponto selecionado no gráfico indica os valores destas variáveis independentes que proporcionaram os melhores resultados e, dentro dessa área, não existe critério para considerar uma situação melhor do que a outra, entretanto, foram selecionados os valores das variáveis, visando à minimização dos custos (Oliveira-Bruxel, 2016).

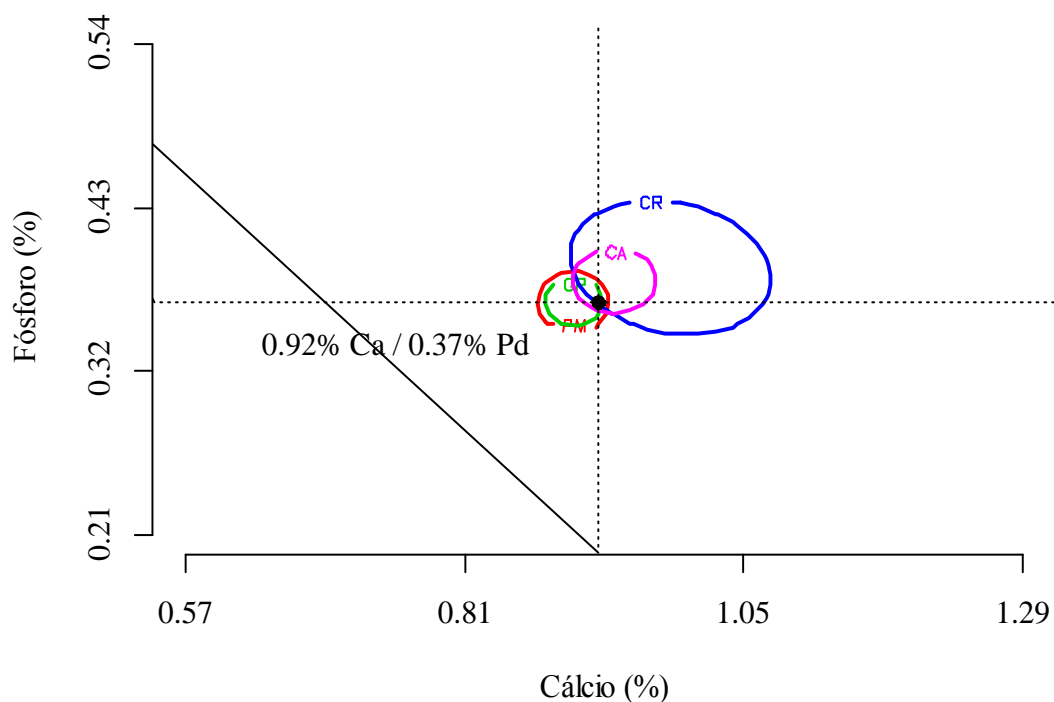


Figura 1. Contornos sobrepostos do Peso médio (PM), Ganho de peso (GP), Consumo de ração (CR) e Conversão alimentar (CA) indicando a estimativa para os níveis de Cálcio e Fósforo disponível de codornas japonesas de 1 a 14 dias de idade.

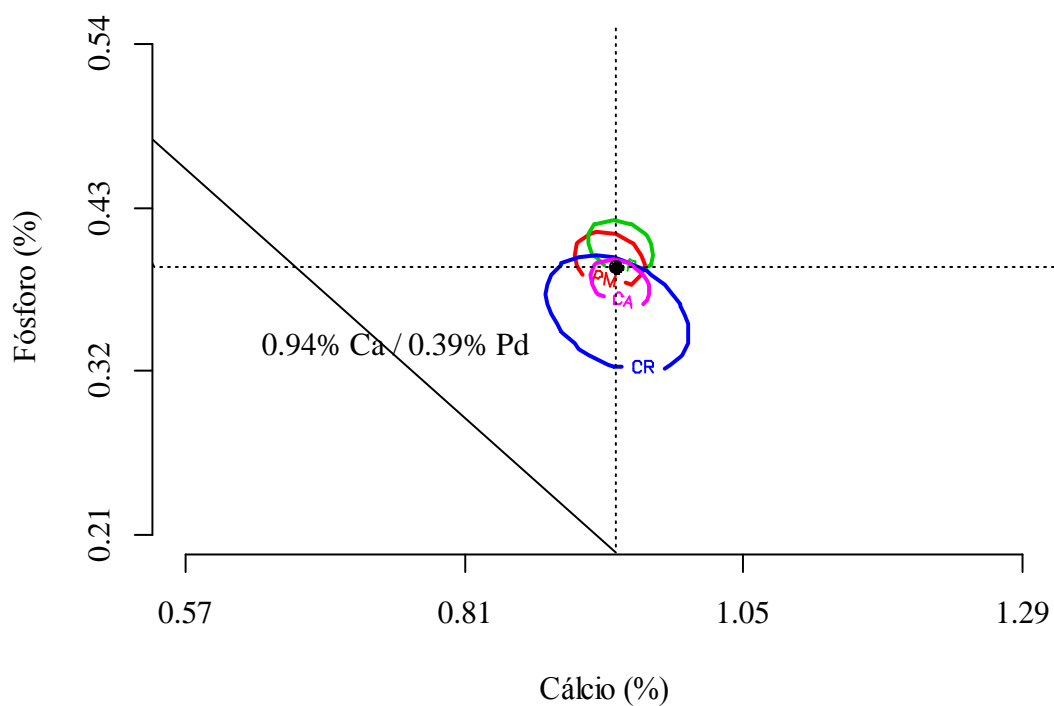


Figura 2. Contornos sobrepostos do Peso médio (PM), Ganho de peso (GP), Consumo de ração (CR) e Conversão alimentar (CA) indicando a estimativa para os níveis de Cálcio e Fósforo disponível de codornas japonesas de 15 a 42 dias de idade.

Das tabelas utilizadas como referências, as Tabelas Brasileiras (Rostagno et al., 2017) sugerem valores maiores para fase de cria (1 a 14 dias) e próximos para a fase de recria (15 a 35 dias), quando comparados aos encontrados neste trabalho, sendo eles 1,092 e 0,911% de Ca e 0,513 e 0,428% de Pd para fase de cria e recria, respectivamente. Estes autores elucidam que a falta de padronização das linhagens comerciais são responsáveis pela variação dos resultados. Outra característica que pode estar contribuindo para diferença na exigência desses minerais corresponde a diferentes idades utilizadas para determinar as fases.

Talvez, pela desatualização da mesma, o NRC (1994) sugere valores mais baixos para ambas as fases, sendo eles 0,80% de Ca e 0,30% de Pd. Já Silva & Costa (2009) sugerem as especificações nutricionais para codornas japonesas de 0,60% de Ca e 0,30% de Pd na fase inicial (1 a 21 dias); 0,50 de Ca e 0,25% de Pd na fase de crescimento (22 a 42 dias) e, quando consideram o período total (1 a 42 dias), sugerem 0,55% de Ca e 0,26% de Pd, valores também muito abaixo do sugerido por este trabalho.

Costa et al. (2009), trabalhando com codornas de postura e sete níveis de cálcio encontraram, como neste trabalho, efeito quadrático sobre CA, CR e GP na fase inicial (1 a 21 dias) propondo a exigência de 1,26% de Ca nesta fase, valor superior ao encontrado neste estudo. Os mesmos autores, durante a fase de crescimento (22 a 35 dias) obtiveram diferenças apenas na CA sendo o melhor nível de 0,87% de Ca, valor abaixo ao estimado neste estudo, no entanto, as fases não são correspondentes a este trabalho. Brandão (2005) também concluiu em 1,26% como melhor de nível de cálcio para GP na fase inicial (1 a 21 dias) e na fase de crescimento (22 a 35 dias) recomendou o nível de 0,92% de Ca para CA. O mesmo autor, estudando níveis de Pd, obteve influencia na CA, com níveis de 0,43% e 0,40% de Pd na fase inicial e de crescimento respectivamente, valores estes mais altos que os sugeridos neste experimento.

Já Camelo (2011), trabalhando com exigência de Pd com cinco tratamentos, encontrou efeito quadrático nas variáveis de CR e CA, recomendando o melhor nível de 0,34% de Pd, para codorna de postura de 8 a 14 dias de idade. Para codornas de 15 a 29 dias de idade, o autor obteve efeito quadrático para CR e CA estimando os menores níveis em 0,32 e 0,33% de Pd. O melhor nível para máximo GP foi com 0,33% de Pd, valor este pouco menor ao encontrado neste trabalho. Este resultado pode ter ocorrido pois o autor avaliou apenas uma semana da fase de cria e duas semanas na fase de recria, portanto, diferindo da idade das aves trabalhadas neste estudo.

Sabe-se que para ocorrer absorção adequada do Ca e do Pd, existe uma relação entre eles onde não há interferência durante o processo de absorção de ambos. Essa interação entre o metabolismo e a excreção, faz com que haja uma relação em torno de 2:1 (Ca: P), havendo pouca variação nestes valores (Scott et al., 1982). O NRC (1994), também preconiza esta relação de 2:1 para a maioria de rações de aves, enquanto Rostagno et al.(2017) recomendam a relação de 2,13:1.

Neste experimento, as relações Ca:Pd mantiveram-se um pouco acima do recomendado pela literatura, e, ao utilizarmos o valor proposto pelo gráfico de contorno sobrepostos, teremos a relação para a fase de cria em 2,49:1; e para a fase de recria em 2,41:1.

Os tratamentos utilizados durante a recria influenciaram de maneira independente o PM, taxa de postura (TxP), o peso do ovo (PO) e a conversão alimentar por dúzia de ovos (CADZ) durante o período analisado na fase de postura (Tabela 5). Para o PM, observou-se efeito linear decrescente, à medida em que os níveis de Ca aumentaram. A TxP apresentou efeito quadrático para Ca, com seu ponto de máxima de 0,93%. Já os níveis de Ca e Pd estudados reduziram a CADZ e proporcionaram efeito quadrático no PO, com seu melhor ponto em 0,91% de Ca e 0,39% de Pd, respectivamente. A massa de ovos (MO) foi a única variável que apresentou interação entre Ca e Pd com efeito quadrático para ambos minerais, estimando em 0,91% e 0,38% de Ca e Pd, respectivamente. O CR, a conversão alimentar por massa de ovos, viabilidade e idade ao primeiro ovo não apresentaram diferenças significativas. Em relação à qualidade de ovos, houve interação entre os níveis de Ca e Pd para porcentagem de casca e peso da casca por superfície de área (PCSA) (Tabela 6), estimando níveis iguais de 0,87% de Ca e 0,40% de Pd.

Tabela 5. Desempenho de codornas japonesas em fase de postura, que foram submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível na durante a fase de recria

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
PM (g)	163,30	169,24	171,23	168,18	169,65	164,07	166,58	170,84	166,03	163,31	169,22	165,59	163,34	163,36	164,75	160,97	0,666
CRD (g)	28,32	26,72	28,72	26,83	26,39	29,87	26,59	28,92	28,81	32,00	29,92	25,37	25,56	30,84	25,92	26,10	0,316
TxP (%)	83,72	85,42	82,10	88,16	87,97	92,23	83,58	88,21	87,95	89,17	88,61	87,61	86,49	85,84	82,91	83,21	0,504
PO (g)	10,16	10,88	10,82	10,79	10,46	10,90	12,07	10,75	10,69	11,46	11,21	10,63	10,12	10,78	11,35	9,93	0,084
MO	8,50	9,30	8,88	9,51	9,20	10,05	10,09	9,47	9,41	10,23	9,93	9,31	8,75	9,26	9,41	8,26	0,094
CAMO	3,33	2,88	3,23	2,82	2,87	2,97	2,64	3,06	3,07	3,14	3,02	2,73	2,92	3,34	2,76	3,16	0,035
CADZ	0,58	0,58	0,48	0,48	0,51	0,43	0,42	0,47	0,50	0,50	0,51	0,36	0,37	0,50	0,39	0,40	0,010
VIA (%)	83,33	88,89	91,67	77,78	80,56	86,11	97,22	83,33	86,11	88,89	77,78	94,45	88,89	88,89	100,00	91,67	1,700
IPO(dias)	56,67	56,67	55,33	56,33	57,33	56,33	56,67	56,00	56,00	55,33	55,67	56,00	57,33	52,00	55,33	54,33	0,363
Equações de Regressão									R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa				
										Ca	P	Ca x P	Ca	P			
PM = 172,5840 - 6,8330Ca									0,16	0,0046 (L)	0,3504	0,2757	-	-			
TxP = 62,9480 + 55,3125Ca - 29,8213Ca <sup>2</sup>									0,25	0,0003 (Q)	0,5697	0,1022	0,93	-			
PO = 3,9527 + 6,5608Ca - 3,6169Ca <sup>2</sup> + 23,8160Pd - 30,71625Pd <sup>2</sup>									0,58	0,0007 (Q)	<0,0001 (Q)	0,0827	0,91	0,39			
MO = -0,4650 + 13,4598Ca - 6,31149 Ca <sup>2</sup> + 23,3788Pd - 24,5007P <sup>2</sup> - 4,9962Ca*Pd									0,60	<0,0001 (Q)	<0,0001 (Q)	0,0018	0,91	0,38			
CADZ = 0,6810 - 0,1389Ca - 0,2227Pd									0,43	<0,0001 (L)	0,0011 (L)	0,2070	-	-			

Ca: cálcio; Pd: fósforo disponível; EP: erro padrão; PM: peso médio; TxP: taxa de postura; PO: peso do ovo; MO: massa do ovo; CAMO: conversão alimentar por massa de ovos; CADZ: conversão alimentar por dúzia de ovos; VIA: viabilidade; IPO: idade do primeiro ovo



Tabela 6. Qualidade de ovos de codornas japonesas em fase de postura, que foram submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível na durante a fase de recria

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
GE (g/mL)	1,08	1,07	1,07	1,07	1,07	1,08	1,07	1,06	1,07	1,07	1,08	1,07	1,07	1,08	1,06	1,07	0,001
UH	93,03	93,99	90,31	94,30	93,52	92,95	92,67	92,99	89,87	93,50	85,89	92,96	93,71	92,81	92,11	93,43	0,558
IG	0,47	0,48	0,47	0,46	0,48	0,48	0,47	0,48	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,48	0,45	0,002
% Gema	30,43	30,18	31,31	30,49	30,74	30,41	30,77	29,99	30,06	30,31	31,05	31,40	30,21	30,84	30,74	31,56	0,095
% Albúmen	62,37	62,46	61,38	61,93	61,94	62,37	61,91	62,82	62,72	62,50	61,75	61,21	62,60	61,74	61,97	61,33	0,101
% Casca	6,80	7,37	7,31	7,58	7,32	7,22	8,16	7,19	7,22	7,19	8,04	7,39	7,18	7,42	7,45	6,43	0,062
PCSA	3,38	3,74	3,70	3,84	3,67	3,67	4,27	3,63	3,65	3,71	4,11	3,73	3,57	3,76	3,83	3,18	0,037
Equações de Regressão									R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa				
										Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd			
% Casca = 1,8046+ 6,0367Ca -2,3763Ca <sup>2</sup> + 16,6835Pd-15,6853Pd <sup>2</sup> - 4,8068Ca*Pd									0,47	< 0,0001 (Q)	0,0002 (Q)	0,0017	0,87	0,40			
PCSA = 0,1259+3,8107Ca-1,5625Ca <sup>2</sup> +11,1435Pd -11,0882Pd <sup>2</sup> - 2,7045Ca*Pd									0,56	< 0,0001 (Q)	< 0,0001 (Q)	0,0016	0,87	0,40			

Ca: cálcio; Pd: Fósforo disponível; EP: erro padrão; GE: gravidade específica; UH: unidade Haugh; IG: índice de gema; PCSA: peso de casca por superfície de área

Ainda que o PM tenha diminuído em função do Ca, e com coeficiente de determinação baixo ( $R^2=0,16$ ), estes pesos encontram-se dentro dos padrões de codornas japonesas dessa linhagem, conforme observado por Finco et al. (2016) que, ao estudarem o crescimento corporal destas codornas utilizando curvas de crescimento, demonstraram valores de pesos estimados de 158,18 a 164,00 gramas de acordo com a equação utilizada. Os autores também ressaltaram que as aves atingem seu máximo desenvolvimento no pico de postura, ou seja, aos 119 dias de idade quando foram avaliadas. Portanto, os valores encontrados neste trabalho estão dentro do esperado para a linhagem estudada.

Com potencial para a melhoria do desempenho das codornas, a MO é uma característica que afeta custo de produção (Piccinin, 2006), enquanto que o PO está positivamente correlacionado com o peso da casca, do albúmen e da gema, e com a altura da gema, o diâmetro e o índice de gema (El- Tarabany, 2016). Neste experimento, as variáveis MO e PO apresentaram o mesmo comportamento, demonstrando serem importantes características de desempenho.

O desempenho das aves em postura é influenciado pelas condições nutricionais estabelecidas durante a fase de crescimento (Lima et al., 2016). Neste trabalho, as melhores estimativas de desempenho apresentadas na fase de postura estão muito próximas às sugeridas durante a fase de cria e recria, reforçando serem os melhores níveis para crescimento das aves sem prejuízo durante a postura.

### *3.3.2. Perfil bioquímico sérico*

Aos 14 dias de idade, as variáveis proteína total, albumina, fosfatase alcalina e o cálcio iônico não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pelos níveis estudados (Tabela 7). A concentração de cálcio total apresentou efeito linear ( $P<0,05$ ) crescente apenas para os níveis de Ca estudados e a concentração de fósforo sanguíneo obteve interação significativa, sendo seu efeito quadrático apenas para os níveis de Ca.

Aos 42 dias de idade, os teores de proteína total, albumina e cálcio iônico não foram afetados pelos níveis de Ca e Pd da dieta (Tabela 8). A fosfatase alcalina apresentou interação significativa, sendo seu efeito linear crescente para Ca e quadrático para Pd. A concentração de Ca total, embora sem interação, mostrou efeito linear crescente para ambos minerais estudados e, a concentração de fósforo sanguíneo teve efeito linear crescente para Ca.

Tabela 7. Perfil bioquímico sérico de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd(%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
PT (mg/dL)	3,75	3,08	3,23	3,30	3,05	3,15	3,38	3,12	3,97	3,10	4,27	3,37	3,10	3,08	3,68	4,45	0,095
AL (mg/dL)	1,00	1,20	1,20	1,20	1,80	1,30	1,10	1,10	1,70	1,40	1,40	1,20	1,20	2,60	1,10	2,50	0,069
FA (U/L)	1817	2761	2397	2466	1923	2117	2143	2248	2066	2019	1844	1970	2930	2446	2082	2164	59,274
Ca iônico (mg/dL)	1,94	2,36	1,75	2,09	2,29	1,53	1,61	2,04	2,05	2,28	1,03	1,33	2,99	1,71	2,63	1,49	0,084
Ca total (mg/dL)	3,60	5,55	4,48	5,21	5,61	4,75	5,17	5,03	5,59	5,78	5,54	5,49	6,23	5,83	6,75	6,02	0,121
Fósforo (mg/dL)	7,30	6,93	7,54	7,15	6,28	10,51	11,34	7,62	8,00	7,22	12,91	16,87	4,89	13,42	8,65	14,31	0,497
Equações de Regressão					R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa								
						Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd							
Ca total= 3,6052 + 1,9701Ca					0,44	0,0121 (L)		0,2098	0,2680		-	-					
Fósforo = -9,1798 + 29,6328Ca - 16,9565Ca <sup>2</sup> + 18,9956Ca*Pd					0,60	0,0243 (Q)		0,3666	< 0,0001 (L)		0,87	-					

Ca: cálcio; Pd: Fósforo disponível; EP: erro padrão; PT: proteína total; AL: albumina; FA: fosfatase alcalina; L: efeito linear; Q: efeito quadrático

Tabela 8. Perfil bioquímico sérico de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
PT (mg/dL)	3,15	3,53	3,30	3,23	3,43	3,20	3,43	3,45	3,28	3,70	3,30	4,03	3,23	3,57	3,68	3,93	0,045
AL (mg/dL)	1,12	1,23	1,12	1,20	1,15	1,25	1,32	1,18	1,23	1,40	1,47	1,40	1,42	1,40	1,30	1,52	0,020
FA (U/L)	1602	1927	2125	2450	2168	2004	2164	2637	2904	2003	1684	2099	2926	2485	2095	2844	62,488
Ca iônico (mg/dL)	2,54	2,63	2,72	2,97	3,17	2,20	2,90	3,43	3,48	3,02	3,40	3,57	3,60	3,52	3,71	3,49	0,090
Ca total (mg/dL)	4,40	4,78	4,91	5,49	5,29	6,69	5,53	6,60	6,86	6,25	6,94	7,40	7,30	6,79	7,79	7,50	0,160
Fósforo (mg/dL)	2,90	3,25	3,33	3,52	3,00	4,54	3,72	3,98	4,20	4,57	4,38	4,64	4,37	3,80	4,91	4,96	0,101
Equações de Regressão	R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa												
		Ca	P	Ca x P	Ca	P											
FA=1238,621 +3145,993Ca-6258,047Pd +17946,049Pd <sup>2</sup> -7128,529Ca*Pd	0,26	0,0077 (L)	0,0316 (Q)	0,0165 (L)	-	0,44											
Ca total= 2,1369 + 3,3269Ca + 2,6145Pd	0,82	< 0,0001 (L)	0,0300 (L)	0,3216	-	-											
Fósforo = 2,3297 + 1,7449Ca	0,65	0,0330 (L)	0,3908	0,8146	-	-											

Ca: cálcio; Pd: Fósforo disponível; EP: erro padrão; PT: proteína total; AL: albumina; FA: fosfatase alcalina; L: efeito linear; Q: efeito quadrático

Os valores de referências sobre o perfil bioquímico do sangue de codornas ainda são escassos na literatura, e embora os níveis de Ca estudados tenham influenciado o aumento de Ca total sanguíneo em ambas as fases, os mesmos parecem estar dentro da normalidade, visto que o cálcio total é um reflexo do cálcio livre que, quando alterado, reflete sinal de anormalidade. Portanto, o cálcio necessita ser mantido em quantidades adequadas na sua forma ionizada, sendo isso fundamental para o funcionamento normal de todas as células do organismo, onde o estado de nutrição do cálcio é determinado com exatidão pela dosagem de cálcio livre (Rodriguez & Scherer, 2011).

O Ca pode ser encontrado ligado a proteínas (albumina, globulina), a outros compostos orgânicos e também a fosfatos e a outros ânions, sendo que metade de sua forma biodisponível se encontra dissociada (Vieites et al., 2004). Por isso, quando se avalia Ca total, é necessário avaliar proteínas totais, pois suas alterações podem indicar a presença de algum problema (Lumeij, 1997), o que não foi encontrado neste trabalho.

Com interação entre os minerais, aos 14 dias de idade, os níveis de Ca influenciaram a concentração de fósforo até o ponto máximo de 0,87% de Ca. Esse resultado também corrobora que os níveis de Ca, influenciam o metabolismo do fósforo, resultado que de forma isolada se estendeu aos 42 dias. onde o aumento de Ca estimula a secreção de calcitonina e inibição sincronizada da secreção de PTH (Schoenmakers et al., 1999), com isso, há diminuição da excreção de P pelos rins, justificando este aumento encontrando. Por não estar havendo reabsorção do Ca pelo controle renal, pequenas quedas dos níveis circulantes de cálcio, aproximadamente 10%, são suficientes para aumentar a secreção de PTH em 200% a 300% (Paula et al., 2001; Lanna et al., 2001), com limites estreitos liberando Ca para circulação.

Como as aves estavam em jejum e na mesma condição fisiológica, em crescimento e depois formando o osso medular, durante a maturidade sexual, devido ao aumento dos níveis de estrógeno, resultou em desvio na formação do osso estrutural para formação do osso medular (Whitehead & Fleming, 2000). As dietas com maiores níveis de Ca foram capazes de mobilizar mais Ca de origem óssea para circulação.

Ainda sobre os efeitos do metabolismo do Ca relacionados com a absorção e reabsorção óssea, podem refletir nas concentrações de fósforo no sangue devido à natureza estática da relação Ca:P encontrada nos ossos (Challa, 1989). Em humanos, os níveis de fosfato normalmente são mais altos em crianças do que em adultos, porque os ossos se encontram em fase de crescimento ativo (Hruska, 2012). Essa atuação

provavelmente também é encontrada em aves, visto que a remodelação óssea é igualmente conhecida, sendo que neste trabalho tivemos valores mais altos para concentração de fósforo na fase de cria.

Associado com o metabolismo do Ca e P acredita-se que a fosfatase alcalina funcione como um ponto chave de regulação do crescimento das aves, participando das atividades condrogênicas e osteoblásticas (Rajmanet al., 2006). No experimento da recria, os níveis estudados de Pd diminuíram a concentração desta enzima até o ponto de 0,44%.

A fosfatase alcalina aumenta durante a formação óssea, no entanto, o valor da fosfatase alcalina total inclui fosfatases produzidas nos rins, fígado, intestino e ossos; portanto, a dosagem da fosfatase alcalina óssea é mais segura (Gali, 2001). Neste experimento, não foi realizado essa medição, o que pode explicar não ter sido encontradas diferenças significativas aos 14 dias de idade. Além disso, o coeficiente de determinação aos 42 dias de idade foi baixo ( $R^2 = 0,26$ ) o que fragiliza a interferência a respeito desse efeito, comprometendo seu valor como parâmetro de avaliação.

### 3.3.3. Variáveis ósseas

Não houve interação dos níveis de Ca e Pd aos 14 dias de idade sobre as variáveis ósseas (Tabelas 9 e 10). Esses minerais agiram de maneira independente, e o índice de Seedor (IS), matéria mineral (MM) e a concentração de cálcio no osso (CCO) apresentaram efeito quadrático no fêmur e tibiotarso de acordo com os níveis de Ca estudados, estimando-se níveis de 0,95; 0,98; 0,93; 0,93; 0,82; 0,92 e 0,90% respectivamente, para otimizar estas variáveis. A CCO do tibiotarso mostrou efeito quadrático para Pd, estimando seu maior ponto com 0,39%.

Ainda nesta fase, a densidade óssea (DO), resistência óssea (RO) e a concentração de fósforo no osso (CPO) do fêmur comportaram-se de forma quadrática para Ca com ponto ótimo de 0,93; 0,97 e 1,12% respectivamente. A DO também obteve influência quadrática de acordo com os níveis de Pd estimando 0,32%. A CPO do tibiotarso apresentou efeito linear crescente para os níveis de Pd.

Tabela 9. Variáveis ósseas no fêmur de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
FÊMUR																	
IS (mg/mm)	6,08	6,72	6,38	6,22	6,97	7,78	7,79	6,97	8,27	7,85	7,28	7,29	6,35	8,08	6,63	7,20	0,138
DO (mm Eq/Al)	1,83	1,95	1,91	1,92	2,16	2,22	2,26	2,06	2,09	2,21	2,21	2,03	2,02	1,84	1,90	1,87	0,023
RO (Kgf)	12,95	15,02	13,47	17,11	16,36	21,18	21,87	16,41	23,63	18,05	18,72	20,18	18,03	15,29	17,53	12,47	0,469
MM (%MS)	27,32	32,69	36,19	32,36	40,14	38,33	35,69	38,88	39,97	38,38	38,86	39,26	35,59	32,77	29,69	28,06	0,671
CCO (%MS)	14,11	13,66	15,75	15,69	16,53	20,39	19,09	20,44	16,78	18,16	15,53	18,13	14,74	14,99	15,16	13,61	0,344
CPO (%MS)	5,58	5,86	5,94	6,63	5,95	7,26	7,33	7,71	6,69	6,73	7,11	8,31	6,59	7,08	6,95	8,44	0,123
Equações de Regressão									R <sup>2</sup>		Valor de P			Estimativa			
											Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd		
IS fêmur= -0,5212 + 17,2451Ca -9,0508Ca <sup>2</sup>									0,33		0,0007 (Q)	0,8885	0,7993	0,95	-		
DO fêmur = 0,0769 + 4,0751Ca -2,1922Ca <sup>2</sup> + 1,6236Pd -2,5017Pd <sup>2</sup>									0,74		< 0,0001 (Q)	0,0476 (Q)	0,5881	0,93	0,32		
ROfêmur = -9,1932 + 59,3298Ca -30,4265Ca <sup>2</sup>									0,43		0,0001 (Q)	0,0993	0,1238	0,97	-		
MM fêmur = -12,3094 + 111,7930Ca - 60,2224Ca <sup>2</sup>									0,54		< 0,0001 (Q)	0,0733	0,0639	0,93	-		
CCO fêmur = -6,7014 + 55,6664Ca - 30,2710Ca <sup>2</sup>									0,55		< 0,0001 (Q)	0,1603	0,3849	0,92	-		
CPO fêmur = 0,2541 +9,7663Ca- 4,3692Ca <sup>2</sup> +4,3758Pd									0,77		< 0,0001 (Q)	0,307	0,176	1,12	-		

Ca: cálcio; Pd: fósforo disponível; EP: erro padrão; IS: índice de Seedor; DO: densidade óssea; RO: resistência óssea; MM: matéria mineral; CCO: concentração de cálcio no osso; CPO: concentração de fósforo no osso; Q: efeito quadrático

Tabela 10. Variáveis ósseas no tibiotarso de codornas japonesas na fase de cria (1 a 14 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
TIBIOTARSO																	
IS (mg/mm)	5,88	6,09	6,53	5,89	8,09	8,97	9,04	8,19	8,25	9,10	8,86	8,86	5,87	6,73	6,25	5,71	0,200
DO (mm Eq/Al)	1,75	1,86	1,84	1,89	2,22	2,09	2,22	2,19	2,13	2,20	2,23	2,06	1,85	1,84	1,89	1,78	0,028
RO (Kgf)	13,93	16,15	17,08	18,99	18,10	16,48	19,26	20,70	17,73	18,84	22,44	21,49	13,94	16,75	15,80	17,73	0,367
MM (%MS)	42,40	46,11	39,58	43,09	52,49	41,49	43,95	41,30	42,61	45,14	44,76	41,95	40,03	35,91	41,27	32,09	0,676
CCO (%MS)	13,35	13,53	14,70	16,08	20,21	19,82	18,91	15,09	13,96	18,68	18,80	17,35	12,21	14,86	15,83	12,01	0,396
CPO (%MS)	7,45	7,95	8,79	7,76	5,96	6,65	7,23	8,36	5,48	6,13	7,92	8,14	5,07	6,89	7,29	8,44	0,167
Equações de Regressão									R <sup>2</sup>		Valor de P			Estimativa			
											Ca	Pd	Ca x P	Ca	Pd		
IS tibiotarso = -7,8808 + 34,6091Ca -17,6741Ca <sup>2</sup>									0,34		0,0012 (Q)	0,5767	0,6056	0,98	-		
MM tibiotarso= 22,5772+53,7163Ca-32,5798Ca <sup>2</sup>									0,31		0,0026 (Q)	0,6639	0,6142	0,82	-		
CCO tibiotarso = -19,6837+ 62,3454Ca -34,5879Ca <sup>2</sup> + 56,1963Pd -72,4304Pd <sup>2</sup>									0,56		< 0,0001 (Q)	0,0288 (Q)	0,8027	0,90	0,39		
CPO tibiotarso = 4,3598+ 6,7106Pd									0,65		0,1402	< 0,0001 (L)	0,0713	-	-		

Ca: cálcio; Pd: fósforo disponível; EP: erro padrão; IS: índice de Seedor; DO: densidade óssea; RO: resistência óssea; MM: matéria mineral; CCO: concentração de cálcio no osso; CPO: concentração de fósforo no osso; Q: efeito quadrático; L: efeito linear



Aos 42 dias de idade, a DO, RO, MM do fêmur e a MM e CPO do tibiotarso apresentaram interação significativa entre Ca e Pd (Tabelas 11 e 12), em que a DO do fêmur teve efeito quadrático para Ca, estimando-se o melhor nível com 1,08%. Para MM do fêmur, foi estimado níveis de Ca de 1,09% e evidenciou efeito linear crescente para os níveis de Pd e a MM e CPO do tibiotarso e obteve efeito linear crescente para os dois minerais.

De maneira independente, o IS e a CCO do fêmur apresentaram efeito quadrático para Ca, estimando os melhores níveis com 0,91% para ambos os fatores. O IS e RO do tibiotarso estimaram para ambos minerais 0,93 e 0,88% de Ca e 0,35 e 0,33% de Pd. A CCO do tibiotarso e CPO do fêmur estimaram para o Ca os melhores níveis em 0,95 e 1,03%, com aumento linear crescente para Pd.

Fica claro neste experimento, que os minerais de forma isolada ou em conjunto atuaram melhorando as variáveis ósseas estudadas. Essas propriedades químicas, físicas, biomecânicas são utilizadas como parâmetros para avaliação da qualidade óssea (Barbosa et al., 2010). A matriz mineral ou inorgânica é formada predominantemente por Ca e P, na forma de cristais de hidroxiapatita,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , constituindo aproximadamente 60 a 70% do peso do osso e sendo responsável pelas propriedades de rigidez e resistência à compressão (Rath et al., 2000)

Na primeira fase, o Ca parece exercer maior influência na qualidade óssea, visto que poucos fatores foram influenciados pelos níveis de Pd. No entanto, em ambas as fases nota-se que o efeito deste mineral é benéfico até certo ponto, no qual acima deste limite, nenhuma melhoria nas variáveis ósseas são alcançadas. Este resultado foi reforçado por Perine (2013), trabalhando com níveis de Ca e Vitamina D para codornas de corte, obteve diferenças significativas apenas para os níveis de Ca aos 14 dias, com efeito quadrático no IS, RO, MM, CCO e CPO.

Para determinar a quantidade de minerais nos ossos das aves, a utilização de radiografias tem sido um parâmetro biofísico de grande importância (Louzada et al., 1998). Almeida Paz et al. (2009) ainda citam a que a densidade mineral óssea pode ser medida através de técnicas como composição mineral óssea, resistência óssea à quebra e índice Seedor. Neste experimento, todas estas variáveis tiveram diferenças significativas, reforçando o efeito do Ca e Pd sobre a mineralização dos ossos analisados.

Tabela 11. Variáveis ósseas no fêmur de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
FÊMUR																	
IS (mg/mm)	10,84	11,14	12,07	9,82	12,52	13,36	11,87	11,62	11,66	12,76	11,81	11,60	11,85	10,65	9,77	10,82	0,144
DO (mm Eq/Al)	2,17	2,20	2,21	2,19	2,26	2,30	2,25	2,22	2,26	2,21	2,29	2,25	2,29	2,21	2,26	2,12	0,010
RO (Kgf)	30,71	25,07	28,99	30,73	30,05	34,58	39,72	35,99	38,98	39,95	44,01	33,57	34,63	42,65	34,02	26,70	0,798
MM (%MS)	38,21	44,34	44,08	44,69	44,69	45,02	48,66	48,89	47,65	50,08	46,65	49,38	43,63	44,53	42,40	40,45	0,501
CCO (%MS)	16,25	17,01	19,13	15,86	19,58	19,17	22,46	19,66	18,63	20,06	19,62	20,76	16,29	15,79	16,19	16,67	0,310
CPO (%MS)	7,03	7,00	7,88	7,26	7,12	8,14	8,46	8,92	7,96	8,58	8,60	8,63	7,48	7,99	7,94	8,88	0,097
Equações de Regressão								R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa					
									Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd				
IS fêmur= 4,2127+19,9130Ca-10,9310Ca <sup>2</sup> -2,6368Pd								0,43	<0,0001 (Q)	0,229	0,735	0,91	-				
DO fêmur = 1,8852+0,8412Ca-0,4037Ca <sup>2</sup> -0,1622Ca*Pd								0,21	0,0175 (Q)	0,0682	0,0439	1,08	-				
ROfêmur =-46,4828+116,7141Ca-47,0378Ca <sup>2</sup> +153,8756Pd-142,7169Pd <sup>2</sup> -54,6831Ca*Pd								0,64	<0,0001 (Q)	0,0013 (Q)	0,0008	1,04	0,34				
MM fêmur = -4,8025+93,7358Ca-42,1247Ca <sup>2</sup> +42,6188Pd-39,0304Ca*Pd								0,67	<0,0001 (Q)	<0,0001 (L)	<0,0001	1,09	-				
CCO fêmur = -4,8573+55,2984Ca-30,2409Ca <sup>2</sup>								0,75	<0,0001 (Q)	0,2154	0,4859	0,91	-				
CPO fêmur = 1,6315+11,0664Ca-5,3811Ca <sup>2</sup> +2,9283Pd								0,68	<0,0001 (Q)	<0,0001 (L)	0,4238	1,03	-				

Ca: cálcio; Pd: fósforo disponível; EP: erro padrão; IS: índice de Seedor; DO: densidade óssea; RO: resistência óssea; MM: matéria mineral; CCA: concentração de cálcio; CP: concentração de fósforo; Q: efeito quadrático; L: efeito linear

Tabela 12. Variáveis ósseas no tibiotarso de codornas japonesas na fase de recria (15 a 42 dias) submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
Pd (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
<b>TIBIOTARSO</b>																	
IS (mg/mm)	10,52	10,45	10,25	9,73	10,67	11,98	12,32	10,97	11,65	10,58	11,37	10,94	10,16	10,53	10,44	10,07	0,108
DO (mm Eq/Al)	2,26	2,24	2,27	2,20	2,28	2,36	2,27	2,41	2,33	2,25	2,24	2,30	2,38	2,27	2,32	2,28	0,011
RO (Kgf)	19,15	24,03	19,98	16,27	26,56	26,13	27,91	15,84	21,32	26,82	25,05	18,81	17,77	16,92	17,99	15,24	0,630
MM (%MS)	40,77	45,02	47,33	51,85	47,19	48,32	49,65	50,42	50,15	53,41	49,10	47,07	51,80	53,84	52,36	57,94	0,582
CCA (%MS)	16,68	15,70	19,50	19,77	16,51	19,65	22,14	20,47	20,21	20,37	23,18	19,72	15,39	20,19	15,24	21,97	0,362
CP (%MS)	7,36	7,56	8,39	9,06	7,65	8,47	8,73	8,89	7,94	8,69	8,97	8,94	8,64	8,34	8,44	9,30	0,087
Equações de Regressão								R <sup>2</sup>	Valor de P			Estimativa					
									Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd				
IS tibiotarso = 1,8537+16,7498Ca-9,04225Ca <sup>2</sup> +11,7863Pd-16,6322Pd <sup>2</sup>								0,58	<0,0001 (Q)	0,0081 (Q)	0,4869	0,93	0,35				
RO tibiotarso = -28,6370+77,5673Ca-43,8484Ca <sup>2</sup> +126,3586Pd-185,2910Pd <sup>2</sup>								0,81	<0,0001 (Q)	<0,0001 (Q)	0,1100	0,88	0,34				
MM tibiotarso = 23,1272+24,4192Ca+46,9514Pd-38,8869Ca*Pd								0,68	<0,0001 (L)	<0,0001 (L)	0,0017	-	-				
CCA tibiotarso = -0,3639+36,4267Ca-19,1883Ca <sup>2</sup> +9,4257Pd								0,42	0,0008 (Q)	0,0004 (L)	0,5894	0,95	-				
CP tibiotarso = 5,1517+2,2568Ca+6,8072Pd-3,8942Ca*Pd								0,69	0,0008 (L)	<0,0001 (L)	0,0206	-	-				

Ca: cálcio; Pd: fósforo disponível; EP: erro padrão; IS: índice de Seedor; DO: densidade óssea; RO: resistência óssea; MM: matéria mineral; CCO: concentração de cálcio no osso; CPO: concentração de fósforo no osso; Q: efeito quadrático, L: efeito linear

O aumento na deposição de Ca nos ossos ocorre até certo ponto, e após esse limite, age de maneira contrária diminuindo esse efeito. Essa deposição de Ca no esqueleto é mais intensa na fase de crescimento, em que o conteúdo de Ca no organismo dos pintos aumenta de maneira rápida na fase inicial, chegando ao final do primeiro mês de vida a 80% do total de cálcio da ave adulta (Edwards, 2000). Apenas o tibiotarso apresentou influência na deposição de Ca de acordo com os níveis de Pd estudados, talvez por ser menos utilizado nos casos de deficiência mineral. Segundo Almeida Paz (2006), o fêmur sofre mais alterações na DO em frangos de corte, sugerindo que este osso é capaz de fornecer Ca mais fácil, no entanto, quando aumenta a necessidade deste mineral, o tibiotarso torna-se o osso principal. Neste experimento, foi observado variação apenas na DO do fêmur, visto que o tibiotarso em nenhuma das fases apresentou diferença significativa, reforçando o encontrado pelo autor.

A deposição de P nos ossos foi igualmente influenciada pelos níveis de Ca na ração, ressaltando a influência do metabolismo e da relação Ca:P. Os níveis de Pd na ração influenciaram a deposição crescente de P no osso, o que corrobora com os resultados obtidos por Camelo (2011).

Os resultados referentes à histologia óssea estão apresentados na tabela 13, sendo que aos 14 dias nenhum parâmetro foi significativo. No entanto, aos 42 dias a espessura da cortical e o diâmetro total tiveram interação significativa, com efeito quadrático para Ca e linear para Pd, e quadrático para ambos minerais, respectivamente. De maneira isolada, o diâmetro medular teve influência significativa com efeito quadrático para Ca estimando o ponto de máxima com 0,95% e efeito linear crescente para Pd. Os melhores níveis para espessura da cortical e diâmetro total foram com 0,96 e 0,92% de Ca, respectivamente e 0,36% de Pd para diâmetro total.

Tabela 13. Parâmetros histológicos do tibiotarso de codornas aos 14 e 42 dias submetidas a níveis de cálcio e fósforo disponível

Ca (%)	0,57				0,81				1,05				1,29				EP
P (%)	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	0,21	0,32	0,43	0,54	
14 dias																	
Disco Epif. (µm)	290	346	350	307	288	323	437	408	359	359	321	426	314	310	314	299	7,124
Esp. Cortical (µm)	190	199	204	279	227	269	281	276	288	264	278	280	298	295	289	303	5,361
Diam. Med. (µm)	700	772	961	783	858	788	738	855	745	723	824	813	963	793	912	751	14,074
Diam. Total (µm)	1079	1170	1370	1341	1335	1327	1299	1407	1321	1252	1380	1374	1559	1382	1490	1351	18,176
42 dias																	
Esp. Cortical (µm)	231	259	298	297	399	399	370	422	347	362	379	356	394	338	368	280	7,903
Diam. Med. (µm)	878	1287	990	1310	957	1287	1351	1380	1238	1157	1311	1187	1045	1125	1200	1256	21,420
Diam. Total (µm)	1339	1806	1587	1904	1755	2086	2092	2225	1933	1880	2068	1900	1836	1801	1936	1815	29,782
Equações de Regressão (42 dias)									R <sup>2</sup>		Valor de P			Estimativa			
											Ca	Pd	Ca x Pd	Ca	Pd		
Esp. Cort.= -414,0877+1368,8496Ca-560,7832Ca <sup>2</sup> +622,6080Pd-649,8230Ca*Pd									0,75		<0,0001 (Q)	<0,0001 (L)	<0,0001	0,96	-		
Diam. Med.= 226,4483+1596,2285Ca-836,1484Ca <sup>2</sup> +683,3715Pd									0,42		0,0091 (Q)	<0,0001 (L)	0,1035	0,95	-		
Diam. total= -1207,667+4438,586Ca-1853,702Ca <sup>2</sup> +5252,528P-3420,384P <sup>2</sup> -2145,875Ca*P									0,75		<0,0001 (Q)	0,0175 (Q)	0,0001	0,92	0,36		

Ca: cálcio; Pd: Fósforo disponível; EP: erro padrão; Disco Epif.: disco epifisário; Esp. Cortical (µm): espessura da cortical; Diam. Med.: diâmetro medular; Diam. Total.: diâmetro total; L: efeito linear; Q: efeito quadrático

Aos 42 dias, não foi possível realizar a mensuração do disco epifisário, fato esse explicado por Almeida et al. (2002), ao citarem que a cartilagem tem função de crescimento longitudinal e radial dos ossos longos, sendo modelo para o crescimento, mas desaparece na puberdade, que em codornas (*Coturnix* sp.) é atingida em média aos 35 dias de vida, cessando o crescimento longitudinal dos ossos.

As variáveis avaliadas que tiveram influência foram mensurados na região da diáfise, região essa responsável pela sustentação do osso, e onde foram realizadas as outras análises ósseas (IS, DO e RO), reforçando mais uma vez a importância desses minerais na qualidade óssea. Essas alterações apenas aos 42 dias também podem estar associadas à formação do osso medular, que ocorre paralelamente a maturação do folículo ovariano (Santos, 1975).

Contudo, percebe-se que os níveis de Ca e Pd estudados agiram em conjunto ou de forma isolada, beneficiando o crescimento e o desempenho à medida que beneficiavam também a qualidade óssea.

### 3.4. Conclusão

As exigências de Ca e Pd e a relação entre esses minerais para obtenção do melhor desempenho zootécnico de codornas de postura japonesa, de acordo com os gráficos de contorno sobrepostos, foram de 0,92% de Ca e 0,37% de Pd para fase de cria (1 a 14 dias de idade) com relação de 2,49:1 e de 0,94% de Ca e 0,39% de Pd para fase de recria (15 a 42 dias de idade) com relação de 2,41:1.

### 3.5. Referências

ALMEIDA, M.I.M.; OLIVEIRA, E.G.; RAMOS, P.R.; VEIGA, N.; DIAS, K. Growth performance of male quails (*Coturnix* sp.) of two lines under two nutritional environments. **Archive of veterinary science**, v.7, n.2, p.103-108, 2002.

ALMEIDA PAZ, I.C.L. **Acompanhamento do desenvolvimento do tecido ósseo de matrizes pesadas por meio da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas, qualidade óssea e produção de ovos**. 2006. 100p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ALMEIDA PAZ, I.C.L.; MENDES, A.A.; BALOG, A.; KOMIYAMA, C.M.; TAKAHASHI, S.E.; ALMEIDA, I.C.L.; GARCIA, E.A.; VULCANO, L.C.;

BALLARIN, A.W.; SILVA, M.C.; CARDOSO, K.F.G. Efeito do cálcio na qualidade óssea e de ovos de poedeiras. **Archivos de Zootecnia**, v.58, n.222, p.173-183, 2009.

ANDERSON, K.; HARVENSTEIN, G.B.; BRAKE, J. Effects of strain and rearing dietary regimens on brown-egg pullet growth and strain, rearing dietary regimens, density, and feed space effects on subsequent laying performance. **Poultry Science**, v.74, p.1079-1092, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. Official methods of analysis. 18 ed. Washington, DC, 2005.

BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; TORRES, R.A.; REIS, D.T.C.; RODRIGUES, C.S.; MÜLLER, E.S. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.772-778, 2010.

BERTECHINI, A.G. Exigências de minerais para aves. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2014. 678p.

BERTECHINI, A.G. Absorção e metabolismo de minerais em aves. In: CURSO DE FISIOLOGIA DA DIGESTÃO E METABOLISMO DOS NUTRIENTES EM AVES, 2004, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2004.

BRANDÃO, P.A. **Exigências de cálcio e fósforo para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) machos e fêmeas nas fases de reposição e postura**. 2005. 147p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB.

CAMELO, L.C.L. **Requerimentos nutricionais de fósforo disponível para codornas japonesas**. 2011. 58p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL.

CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D.; DHANOA, M.S. Phosphorus homeostasis in growing calves. **Journal Agricultural Science**, v.112, n.3, p.217-226, 1989.

CLASSEN, H.L.; SCOTT, T.A. Self selection of calcium during the rearing and early laying periods of White Leghorn pullets. **Poultry Science**, v.61, p.2065-2074, 1982.

COSTA, F.G.P.; BRANDÃO, P.A.; SILVA, J.H.V.; LIMA, R.C.; GOULART, C.C.; PEREIRA, W.E. Exigências de cálcio para codornas japonesas fêmeas de um a 35 dias de idade. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, n.1, p.7-12, 2009.

EDWARDS, H.M.Jr. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1018-1023, 2000.

FINCO, E.M.; MARCATO, S.M.; FURLAN, A.C.; ROSSI, R.M.; GRIESER, D.O.; ZANCANELA, V.; OLIVEIRA, T.M.M.; STANQUEVIS, C.E. Adjustment of four growth models through Bayesian inference on weight and body nutrient depositions in laying quail. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.45, p.737-744, 2016

EL-KATCHA, M.I.; SOLTAN, M.A.; SHEAITA, S.; NAGGAR, EL; KARIMA, M.; EL-SHOBOLSHY, S.S. Growth Performance, Blood Biochemical Changes, Carcass Traits and Nutrient Digestibility of Growing Japanese Quail Fed on Various Dietary Protein and Calcium Levels. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v.44, p.38-53, 2014.

EL-TARABANY, M. S. Effect of thermal stress on fertility and egg quality of Japanese quail. **Journal of Thermal Biology**, v.61, p.38-43, 2016.

GALI, J.C. Osteoporose/Osteoporosis. **Acta Ortopédica Brasileira**, v.9, n.2, abr/jun, 2001.

HARRIS, D. J. Testes clínicos. In: TULLY JR, T.N.; DORRESTEIN, G.M.; JONES, A.K. **Clínica de aves**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.70.

HAMILTON, R.M.G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v.61, p.2022-2039, 1982.

HAUGH, R.R. The Haugh unit for measuring egg quality. **United States Egg Poultry Magazine**, v.43, p.552-555, 1937.

HRUSKA, K.A. Distúrbios do balanço do fosfato: hipofosfatemia e hiperfosfatemia. In: LERMA, E.V.; BERNS, J.S.; NISSENSON, A.R **Current diagnóstico e tratamento nefrologia e hipertensão**. Porto Alegre: AMGH Editora, 2012. p.69-78.

KLASING, K.C. **Comparative avian nutrition**. New York: Cab. International, 1998. 350p.

LANNA, C. M.; PAULA, F. J.; MONTENEGRO JR, R. M.; MOREIRA, A. C., FOSS, M. C. Parathyroid hormone secretion in chronic human endogenous hypercortisolism. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, p.229-236, 2002.

LIMA, H.J.D.; BARRETO, S.L.T.; DONZELE, J.L.; SOUZA, G.S.; ALMEIDA, R.L.; TINOCO, I.F.F.; ALBINO, L.F.T. Digestible lysine requirement for growing Japanese quails. **Journal of Applied Poultry Research**, v.25, p. 483-491, 2016.

LOUZADA, M.J.Q.; PELÁ, C.A.; BELANGERO, W.D.; SANTOS-PINTO, R. Avaliações de densidade óssea em imagens radiográficas: estudo em peças ósseas de cães. **Caderno de Engenharia Biomédica**, v.14, n.1, p.47-64, jan/jun, 1998.

LUMEIJ, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 1997. p. 857-879.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária: aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal:FUNEP/UNESP, 2002. p.167-173.



MARIZ, C.B.L.; SILVA, J.H.V.; FILHO, J.J.; LIMA, M.R.; COSTA, F.G.P. P and Ca requirements for Japanese quail. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, n.2, p.389-400.

MURAKAMI, A.E.; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**. Jaboticabal: Funep/Unesp, 1998. 79p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Poultry. Washington: University Press, 1994. 155p.

OLIVEIRA-BRUXEL, T.M. de. Exigência de energia metabolizável e lisina digestível para codornas japonesas. (*Coturnix coturnix japônica*. 2016. 96p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

PAULA, F. J.; LANNA, C. M.; SHUHAMA, T.; FOSS, M. C. Effect of metabolic control on parathyroid hormone secretion in diabetic patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.34, p.1139-1145, 2001.

PERINE, T.P. Determinação da exigência nutricional de cálcio e níveis de suplementação de vitamina D para codornas de corte em crescimento. 2013. 56p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

PICCININ, A. **Análise da capacidade de combinação de características de interesse econômico e de qualidade dos ovos de codornas usando a técnica de cruzamentos dialélicos**. 2006. 96f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

PIZZOLANTE, C.C. Estabilidade da fitase e sua utilização em frangos de corte. 2000. 121p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

R CORE TEAM.. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013.

RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOSOVA, D.; MACAJOVA, M.; SEDLACKOVA, M.; KOSTAL, L.; JEZOVA, D.; VYBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, n.145, p.363-371, 2006.

RATH, N.C.; HUFF, G.R.; BALOG, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1024-1032, 2000.

RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G.; OLIVEIRA, B. C.; TEIXEIRA, A. S.; OLIVEIRA, A. I. G. Fatores nutricionais que influenciam a qualidade do ovo no segundo ciclo de produção. I. Níveis de aminoácidos sulfurosos totais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, p.248-260. 1996.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C. O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2017. 488p.

RODRIGUEZ, D.L.; SCHERER, B.S. Cálcio. In: OLIVEIRA, J. R. de. **Alterações clínicas e laboratoriais do metabolismo iônico**. Porto Alegre: EdiPUCRS, 2011. 222p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. GOMES, P.C; OLIVEIRA, R.F; LOPES, D.C; FERREIRA; A.S; BARRETO, S.L.T; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. 252p.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2016. 262p.

SANTOS, J. A. **Patologia Especial dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas- OEA, 1975. 661p.

SCHOENMAKERS, I.; NAP, R.C.; MOL, J.A; HAZEWINKEL, H.A.W. Calcium metabolism: an overview of its hormonal regulation and interrelation with skeletal integrity. **The Veterinary Quarterly**, v. 21, p.47-53. 1999.

SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YOUNG, R.J. **Nutrition of the chicken**. Ithaca : Editores: Scott, M. L., 1982. 433p.

SEEDOR, T.; WATANABE, E.; KADOWAKI, W. Effect of dietary and arginine levels on bone development in broiler chicks. **Animal Science and Technology**, v.67, n.1, p.7-13, 1996.

SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. **Tabela para codornas japonesas e européias**. Jaboticabal: FUNEP, 2009. 110p.

SMITH, O.B.; KABAJA, E. Effect of high dietary calcium and wide calcium/phosphorus rations in broiler diets. **Poultry Science**, v.64, p.1713-1720, 1984.

VARGAS JUNIOR, J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CUPERTINO, E.S.; CARVALHO, D.C.O.; SILVA, M.A.; PINTO, R. Níveis nutricionais de Ca e de P disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.936-946, 2004.

VIEITES, F.M; MORAES, G.H.K; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H. S.; DONZELE, J. L.; VARGAS JR, J. G. de; ATENCIO, A.. Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre o desempenho de pintos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, supl. 2, p.2076-2085, 2004.

WHITEHEAD, C. C.; FLEMING, R. H. Osteoporosis in Cage Layers. **Poultry Science**, v.79, p.1033-1041, 2000.

#### **IV – Calcium and available phosphorus requirements of Japanese quails in initial egg-laying stage**

**SUMMARY** - An experiment was conducted to estimate the nutritional requirements of calcium (Ca) and available phosphorus (aP) for Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) in the egg-laying stage (64 to 168 days). The experiment was an entirely randomized design, in a factorial scheme (Ca= 1.70, 2.40, 3.10, and 3.80%, and aP= 0.15, 0.30, 0.45, and 0.60%), with three replicates and ten quails per experimental unit. No interactions were found for quail body weight (BW) and daily feed intake (DFI) ( $P>0.05$ ). However, BW decreased linearly ( $P<0.05$ ) as the levels of Ca increased. Whereas DFI exhibited a quadratic effect ( $P<0.05$ ) for both Ca and aP. The lowest values of DFI were estimated in 2.79% and 0.36% for Ca and aP, respectively. Egg production, egg mass, feed conversion ratio per egg dozen presented significant interaction, in which all of them had a quadratic effect ( $P<0.05$ ), with estimations for maximum yield in feed containing 2.74, 2.71, 2.75, and 2.74% Ca and 0.40, 0.39, 0.39, and 0.40% aP, respectively. In addition, the variables assessed to verify egg and bone quality presented positive responses as a function of the studied levels of Ca and aP. As conclusion, when considering the estimations obtained through overlapped contour plots, the best responses to the effects of Ca and aP on productive characteristics were estimated at 2.68 % Ca and 0.38% aP to produce feed for egg-laying Japanese quails.

**Key Words:** bone resistance, egg production, nutrition, shell quality

#### **4.1. Introduction**

There is a concern with a nutrition of the Japanese bird, because little is known about this farming activity under Brazilian conditions, new information is required, especially regarding genetic material and rearing systems.

Minerals are among the most important ingredients for animal nutrition, composing 5% animal body. Among all minerals, calcium and phosphorus stand out as they contribute to making up a large portion of animal skeleton (80 to 85%), and also participate in the formation of egg shells and muscle structure, thus being essential for the proper functioning of animal body (McDowell, 1992).

The Brazilian Tables of Poultry and Swine (Rostagno et al., 2017) recommends that these requirements be adapted to productivity and feed intake, which is on average 3.16% calcium and 0.33% phosphorus. Nevertheless, new research should be conducted to verify the requirements of commercial egg-laying Japanese quail lineages.

The quality of the egg is related to the nutrition of the birds, in which calcium and phosphorus have great impact. Approximately 35-38% of the eggshells are composed by calcium, making it essential for the quality of eggshells (Stadelman and Cotterill, 1995). Sohail and Roland (2002) have stated that phosphorus is also a required mineral for metabolism and in eggshell formation. Furthermore, Bertechini (2004) reports that excess of calcium in the quail diet can negatively influence their use of phosphorus, but providing the animals with insufficient calcium may cause even more harm. This occurs because phosphorus is responsible for the blood acidosis during the formation of the egg (Bertechini, 2014).

This binomial is directly associated to the quality of the eggs, since low-quality eggs, caused by poor eggshell formation, soft and cracked shells can cause great economic loss (Kira et al., 1996). Consequently, the adequate levels of minerals, in association with correct management, tend to decrease loss and increase production.

Thus, the present study aimed to estimate the optimum levels of calcium and phosphorus in animal feed to obtain maximum yield from egg-laying quails, from the beginning of production (64 days) up to 168 days of age. Furthermore, during this period, the impact of these minerals on the quality of the eggs and the bones of the quails were assessed.

## 4.2. Materials and methods

The experiment was conducted in the Quail Farming sector of the Iguatemi Experimental Farm of Maringá State University, Maringá – PR (Brazil). All the procedures used were accordance with the norms of the Animal Experimentation Ethics Committee of Maringá State University (Protocol number 5250070515 /2015).

### Animals, experimental design, and diets

Four hundred and eighty female egg-laying quails, 43 days old, were acquired from a commercial breeder at one day of age (commercial lineage – Vicami) and raised from the first to the 42<sup>nd</sup> day with conventional corn and soybean meal feed, according to the nutritional recommendations of Rostagno et al. (2011).

The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) and 4 x 4 factorial scheme (calcium levels of 1.70, 2.40, 3.10, 3.80% x available phosphorus levels of 0.15, 0.30, 0.45, 0.60%), totaling 16 treatments with three replicates and 10 quails per experimental unit. The initial average weight of the quails was 120.57g and the birds were kept in a conventional building, containing galvanized-wire cages, with nipple drinkers and trough type feeders. During the entire experiment (from day 43 to day 168) feed and water were supplied at will (*ad libitum*). The temperature and air humidity levels were collected at 8 a.m. using a thermo-hygrometer, which registered minimum and maximum temperatures and air humidity levels and averages of 24°C - 16°C and 87 - 57%, respectively.

The lighting program began at 43 days of age, supplying 14 hours of light. Every week, 30 minutes of light was added until it reached 17 total hours of natural + artificial light. An automatic timer controlled the lighting program with a light intensity of 21 lux.

Experimental diets were formulated in a corn and soybean meal base, considering the recommendations and chemical composition values of feed proposed by Rostagno et al. (2011). Furthermore, the feeds differed from each other only in their levels of calcium and phosphorus (Table 1 and 2).

### Performance

Starting on day 64, during five productive cycles (21 days), the quails were evaluated, and the eggs were collected daily (8 a.m.) with the intent of calculating the egg-laying rate (%) and the production of egg mass (g eggs/bird/day). The quails and the feed were weighed at the end of each cycle to determine their respective body weight (g), feed intake (g), and feed conversion (g feed/ g of eggs and egg dozen). The dead birds were counted daily to correct the feed consumption and to determine the viability of each experimental unit.

Table 1. Percentage composition of experimental diets for Japanese quail in laying phase with levels of calcium and available phosphorus

Calcium (%)	1.70				2.40				3.10				3.80				
	available Phosphorus (%)	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60
Corn	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503	54.503
Soybean meal 45%	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124	30.124
Soy oil	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779	2.779
Inert <sup>†</sup>	6.682	6.312	5.941	5.571	4.826	4.455	4.084	3.714	2.969	2.599	2.228	1.857	1.114	0.742	0.371	0.000	
Monocalcium phosphate	0.269	1.058	1.848	2.637	0.269	1.058	1.848	2.637	0.269	1.058	1.848	2.637	0.269	1.058	1.848	2.637	
Limestone	4.132	3.713	3.294	2.875	5.988	5.570	5.151	4.732	7.845	7.426	7.007	6.589	9.700	9.283	8.864	8.446	
Vit/Min Supplement <sup>‡</sup>	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400
Salt	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325	0.325
L- Lysine HCl	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267	0.267
DL- Methionine	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403	0.403
L- Tryptophan	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038
L-Threonine	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068
BHT <sup>§</sup>	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Total (kg)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

<sup>†</sup>Soft sand; <sup>‡</sup>Vitamin/Mineral supplementation (garante levels per kg of product); Vit. A – 3,125 IU/g; Vit. D3 – 625,000IU/g; Vit. K3 – 975 mg; Vit. B1 – 1,225mg; Vit. B2 – 2,200 mg; Vit. B6 – 2,062.500 mg; Vit. B12 – 6,250 mcg; Vit. E – 15,645IU; Calcium Pantothenate – 14,843.750 mg; Niacin – 15,312.500 mg; Folic acid – 416.667 mg; Biotin – 62.500mg; Choline – 81,375.00mg C; Antioxidant – 1,250 mg e <sup>§</sup>BHT (Butyl Hydroxy Toluene)

Tabela 2. Nutritional calculate composition of experimental diets for Japanese quail in laying phase with levels of calcium and available phosphorus

Calcium (%)	1.70				2.40				3.10				3.80			
available Phosphorus (%)	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60
EM (Kcal/kg)	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900
Crude Protein (%)	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80	18.80
Calcium (%)	1.700	1.700	1.700	1.700	2.400	2.400	2.400	2.400	3.100	3.100	3.100	3.100	3.800	3.800	3.800	3.800
available Phosphorus(%)	0.150	0.300	0.450	0.600	0.150	0.300	0.450	0.600	0.150	0.300	0.450	0.600	0.150	0.300	0.450	0.600
Lysine digestible (%)	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120	1.120
Met.+cyst. digestible (%)	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900
Threonine digestible (%)	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658	0.658
Tryptophan digestible(%)	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230
Sodium (%)	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146	0.146
Chlorine (%)	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286
Potassium (%)	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710	0.710
EB <sup>†</sup> mEq/kg	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164	164

<sup>†</sup>Electrolytic balance



### Internal and external quality of the eggs

Assessments regarding the internal and external quality of the eggs were conducted in the last three days of each cycle, along with average weight measurements of all viable eggs. Specific gravity was performed on all eggs according to the methodology described by Hamilton (1982).

For all other quality assessments, three eggs within the average weight were chosen and evaluated. They were all cut and their internal content was placed on a plate of dark glass to measure the height (mm) and diameter (mm) of the egg yolk and albumen, which was conducted using a digital caliper. The height of the yolk was determined at its highest point and the height of the albumen at the region closest to the yolk. Furthermore, the diameter was obtained by calculating the averages of two traversing measurements of the yolk. Using these data, we were able to assess the internal quality of the eggs by determining the yolk index and the Haugh unit, 1937.

Afterward, yolk and albumen were separated to conduct weight assessments on a precision scale. Additionally, the shells were washed and, after they dried, they too were weighed. Finally, the albumen weight was calculated by subtracting yolk and shell weight from the total weight of the egg. These data enabled us to quantify the percentages of yolk, albumen, and shell in relation to the weight of the egg.

Thickness measurements (mm) were also taken from the shells, which was determined at four different points in the equatorial region using a thickness gauge. Furthermore, the shell weight per unit of surface area (SWUSA) was determined by using the formula adapted from Rodrigues et al. (1996). Finally, were used to determine dry matter and concentration of mineral and calcium matter, according to the methodologies described by AOAC (2005).

### Serum biochemical profile

To quantify the serum levels of total calcium, phosphorus, albumin, total protein, and alkaline phosphatase, blood was collected from two birds at the end of the experiment (week 24). The quails selected were within the average replicate weight ( $\pm 5\%$ ). Before collection, they were submitted to a 6-hour fasting solid.

Blood was collected through the ulnar vein and centrifuged (3,000 rpm for 15 minutes). The serum obtained was stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until spectrophotometer analysis (Bioplus 2000 model) using commercial kits (Gold Analisa Diagnóstica Ltda): *Ionic*

*Calcium (mg/dL) = (6\*C-(((0.19\*TP) +A) /3)) /((0.19\*TP) +A+6); in which: C = Serum calcium; TP = Total serum protein and A= Serum albumin.*

#### Bone variables

The same birds used for blood sampling were sacrificed and had their left tibiotarsus and femurs collected and frozen (-20°C) until analyses. These procedures were run under the approval of the ethics committee.

To determine the Seedor index (Seedor et al., 1996), the adjacent tissues were removed and the bones were weighed on a precision scale and their length was measured using a digital caliper. Then the bones were immersed in petroleum ether for 24 hours for degreasing and later dried in a forced ventilation oven at 55°C for 72 hours for future assessments.

Radiographic optical density measurements were with the bones placed under periapical film (Kodak Intraoral E-Speed Film) containing an aluminum scale, and were then x-rayed (dental x-rays DabiAtlante<sup>®</sup>, model Spectro 70X electronic (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil)). The processing of radiographic films was conducted by automatic processor manufactured by Revel Indústria e Comércio de Equipamentos Ltda, with a work period of about 150 seconds, operating with Kodak RP X-Omat solutions. Then they were scanned and saved as a progressive JPEG file. The readings of the x-rays for determining the density of the bones were performed using the “Adobe Photoshop CS6” software and its “Histogram” tool, which is based on a grey scale. The optical radiographic density was obtained by comparing the area of three central bone points (10 pixels x 10 pixels) with one point of the third step of the aluminum scale.

The resistance analyses were conducted in the Mechanic Laboratory of Soils of the Civil Engineering using a press for assays of simple compressive strength. The bones were positioned leaning on the epiphysis region, in the anteroposterior position. Force was applied in the central region using a probe with the speed of 5 mm/s and a 500 N (Newton) load, in which the applied force was measured before the rupture of the bone.

After determining bone resistance, dry matter and mineral, calcium and phosphorus matter concentration were measured, following the methodologies described by AOAC (2005).

### Statistical analysis

The statistical analysis of data was conducted in R studio (R Core Team, 2013) statistics program. The effects were tested, and then normality of residuals was checked. When factor effect was significant ( $P < 0.05$ ), the polynomial regression analyses were conducted with the intent of estimating the best data adjustment model, in which the nutritional requirement was determined according to the quadratic model, as proposed by Sakomura and Rostagno (2016).

An overlapping contour graph was drawn using yield variables with a quadratic effect by R software, as proposed by Oliveira-Bruxel (2016). The region where the responses of the equations are within their limits are shown, and the graph contour lines show the intersection to estimate the corresponding values on the axes that represent calcium (Ca) and available phosphorus (aP).

### 4.3. Results and discussion

#### Performance

According to the levels of the studied minerals (Table 3), no significant interaction nor effects were observed for viability and age at first egg. Body weight (BW) of the quails and daily feed intake (DFI) undergo no significant interaction. However, BW did have decreasing linear effect according to the levels of calcium (Ca). DFI exhibited a quadratic effect for Ca and for available phosphorus (aP), in which the lowest estimated levels were 2.79% and 0.37%, respectively.

Egg production (EP), egg mass (EM), feed conversion ratio per egg mass (FCEM), and feed conversion ratio per egg dozen (FCDZ) exhibited significant interaction, in which all of them had quadratic effect concerning the levels of Ca and aP.

Table 3. Performance of Japanese quail in laying phase (64 to 168 days of age) with levels of calcium and available phosphorus

Ca (%)	1.70				2.40				3.10				3.80				SE
	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	
aP (%)	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	
BW (g)	174.09	177.86	177.84	181.33	174.19	181.05	172.16	170.73	172.54	168.26	173.76	173.56	171.20	171.98	171.36	164.88	0.787
DFI (g/bird/day)	32.50	29.55	30.11	31.61	29.37	25.56	25.30	29.97	28.70	24.54	24.99	29.10	30.63	30.37	29.46	31.52	0.385
EP (%)	82.80	86.79	86.62	88.38	84.17	96.55	96.82	93.95	88.37	96.96	96.81	87.34	85.00	88.49	89.33	83.69	0.770
EM (g eggs/bird/day)	7.79	8.86	9.05	8.75	8.85	10.87	10.92	9.97	9.49	10.53	10.76	8.99	8.06	8.93	8.93	8.04	0.153
FCEM	4.19	3.33	3.33	3.61	3.34	2.35	2.32	3.01	3.02	2.33	2.32	3.24	3.81	3.40	3.30	3.92	0.087
FCDZ	0.63	0.49	0.52	0.54	0.63	0.39	0.40	0.44	0.49	0.38	0.38	0.53	0.57	0.51	0.49	0.62	0.012
Viability (%)	96.67	90.00	100.00	96.67	80.00	96.67	100.00	83.33	90.00	93.33	96.67	90.00	96.67	100.00	96.67	90.00	1.412
Age at first egg (days)	48.00	49.67	48.00	50.00	50.00	50.00	46.67	47.67	50.33	49.00	51.33	48.67	53.33	49.00	50.33	51.67	0.580
Regression Equation									R <sup>2</sup>	p value			Estimate				
										Ca	aP	Ca x aP	Ca	aP			
BW = 183.8740 -3.7544Ca									0.30	<0.0001 (L)	0.1047 (NS)	0.0745	-	-			
DFI = 61.9427 - 20.0890Ca + 3.5990Ca <sup>2</sup> - 48.4681aP + 65.2500aP <sup>2</sup>									0.76	<0.0001 (Q)	<0.0001 (Q)	0.7139	2.79	0.37			
ER=19.4562+38.4014Ca-6.3618Ca <sup>2</sup> +123.74541aP-124.0833aP <sup>2</sup> -28.7406Ca*aP									0.72	<0.0001 (Q)	<0.0001 (Q)	0.0107	2.74	0.40			
EM= -5.5681 +8.81452Ca -1.5259Ca <sup>2</sup> + 23.08904aP - 24.7130P <sup>2</sup> -1.3432Ca*aP									0.85	<0.0001 (Q)	<0.0001 (Q)	0.0081	2.71	0.39			
FCEM= 11.9447 -5.1687Ca +0.8890Ca <sup>2</sup> -13.6504Pd +15.1204P <sup>2</sup> +0.7235Ca*aP									0.90	<0.0001 (Q)	<0.0001 (Q)	0.0024	2.75	0.39			
FCDZ= 1.6380 - 0.5819Ca + 0.0948Ca <sup>2</sup> -2.3777aP+ 2.4537aP <sup>2</sup> + 0.1597Ca*aP									0.82	<0.0001 (Q)	<0.0001 (Q)	0.0004	2.74	0.40			

Ca: calcium; aP: available phosphorus; SE: standard error; BW: body weight; DFI: daily feed intake; EP: egg production; EM: egg mass; FCEM: feed conversion ratio per egg mass; FCDZ: feed conversion ratio per dozen egg; L: linear effect; Q: quadratic effect; NS: non-significant.

The consumption of Ca is related to the ingestion of feed because birds generally have the capacity of regulating the consumption of Ca to meet their requirements (Classen and Scott, 1982). Therefore, high levels of Ca tend to reduce the consumption of feed. Similarly, birds can also regulate consumption according to the levels of energy and protein in the diet (Costa et al., 2010). Excess of Ca in feed also impairs the use of P, which occurs because of formation of insoluble complexes, containing Ca, in the digestive tract (Leeson, 1999).

In the present experiment, DFI was minimized to 2.79% for Ca and 0.37% for aP. After reaching these levels, we observed an imbalance in consumption, which occurred without impaired yield since the other variables were not impaired.

Amoha et al. (2012), also studying the levels of Ca and aP, found lower feed consumption when Ca was increased, however this was not to response reported when aP was increased. Garcia et al. (2000), studying egg-laying quails, found similar results, these authors observed lower feed consumption for the higher levels of Ca and quadratic effect for aP, in which the highest consumption occurred at 0.36%, distinctly from the present study.

Other authors found no significant differences in feed intake in regard to the levels of Ca and aP studied (Costa et al., 2007, Barreto et al., 2007, Brandão et al., 2007 and Ribeiro et al., 2016), which proves the need for further studies to clarify the true effect of these mineral on DFI.

Ca influences the absorption of phosphate; therefore, it is necessary to establish an adequate proportion so that optimal use of these minerals occurs. In the present study, the behavior of DFI was influenced in a similar way according to the Ca and aP levels, i.e. consumption was reduced, which was influenced by the capacity to regulate consumption until reaching the optimal point. After, the high levels of Ca and aP promoted an increase in consumption, associated to the formation of insoluble salts, in which the excess of Ca produces imbalance with other minerals, especially P, increasing its demand (Schoulten et al., 2002) justifying this consequential increase.

The estimations for EP and EM were obtained when using feed containing 2.74 Ca and 0,40% aP and 2.71% Ca and 0.39% aP, respectively. EP considers the production of eggs and the number of quails producing and is extremely important to evaluate the productivity index. We observed that this variable was not negatively influenced even as DFI was reduced, which supports the hypothesis that birds regulate their consumption to meet their needs and maintain this level of consumption so egg-

laying yield is not impaired (Scott et al., 1982). This behavior is extended to EM as well. The best results for FCEM and FCDZ were obtained by using 2.75 and 2.74% Ca and 0.39 and 0.40% aP.

In the present study, yield performance variables showed similar responses when Ca and aP levels were raised, reaching values very close to the maximum yield of quails in the egg-laying stage. However, using the overlapped contour plot, the viable estimations were 2.68% Ca and 0.38% aP (Figure 1). This region fulfills the desired response criteria for the equations, which allows, by simple data observation, the identification of values on graph axes, for both Ca and aP levels. This point on the graph indicates these independent variables showing the best results. Although no criterion was able to choose one situation over another in this area, the values of variables were selected based on cost savings (Oliveira-Bruxel, 2016).

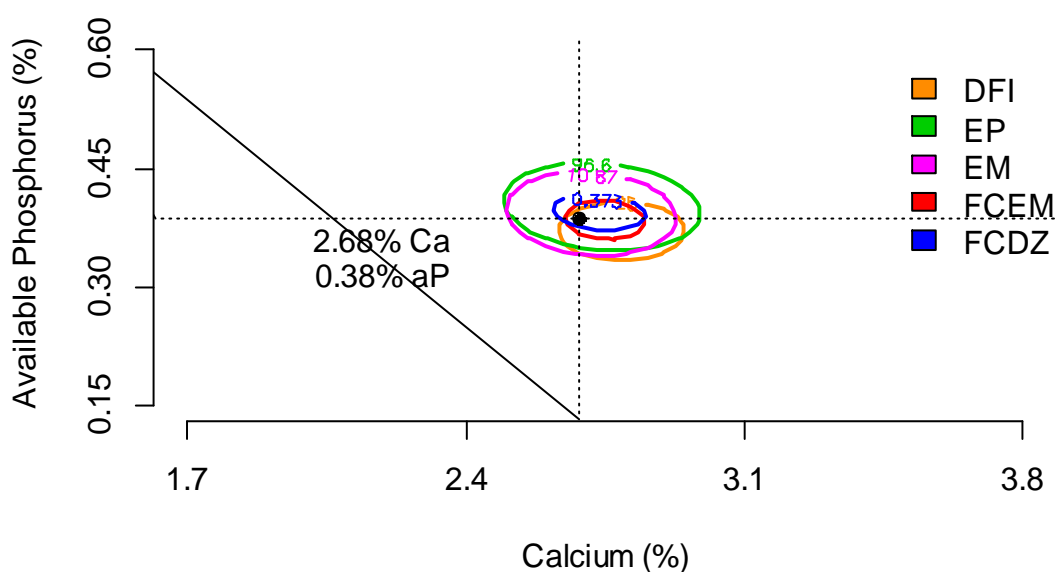


Figure 1. Overlapping contour graph of daily feed intake (DFI), egg production (EP), egg mass (EM), feed conversion ratio per egg mass (FCEM) and feed conversion ratio per dozen egg (FCDZ) indicating the estimated levels of available calcium and phosphorus of Japanese laying quails.

Although the NRC (1994) reference was elaborated a while ago, it recommends a nutritional requirement of 2.5% Ca and 0.35% aP. In the Brazilian Tables of Poultry and Swine (Rostagno et al., 2017), on the other hand, the recommended requirement is 3.16% Ca and 0.33% aP, which, in comparison to this study, are higher for Ca and lower for aP. Even when considering the lighter birds (190 grams), the recommended requirements by the authors are 2.990% Ca and 0.309% aP, which are also different from the present study.

The genetic material used can explain this difference. In our experiments, the BW and EM are inferior to those used in the Brazilian Tables, which considers these parameters to determine the needs of the birds. It is important to emphasize that, although this study has lower levels of these variables, this caused no harm to egg yield, which reached optimum results. This evidence supports that the differences of needs among studies must be associated to the genetic material in use, since the birds were in a state of comfort during the experiment, even though they were exposed to ambient temperature.

In their study, Silva and Costa (2009) recommend dividing the egg-laying stage into two phases. The first phase would reach the yield peak, using 2.95% Ca and 0.35% aP, which also estimates superior Ca levels, but similar levels of aP.

The use efficiency of these minerals depends on quantity and the interaction that occurs between the two. The NRC (1994) establishes 7:1 Ca: aP ratio, while Rostagno et al. (2017) recommend 9.6:1, and Silva and Costa (2009) suggest 8:1. In this study, we found an optimum ratio of 7.05:1, which supports the above mentioned explanation regarding the body weight of the birds.

#### Internal and external quality of the eggs

Egg's weight (EW) had no significant interaction with none of the studied minerals, which exhibited a quadratic effect for both minerals. The optimal point was estimated at 2.69% Ca and 0.38% aP (Table 4).

This result may be associated with the egg-laying rate, which presented the same positive response to the increase, up to a certain limit, of mineral levels. Thus, an excess of calcium only causes a positive impact on the yield of the birds in some situations (Masukawa et al., 2001).

Table 4. Egg quality of Japanese quail in laying phase (64 to 168 days of age) with levels of calcium and available phosphorus

Ca (%)	1.70				2.40				3.10				3.80				SE
	aP (%)	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	
SG (g/mL)	1.072	1.066	1.077	1.070	1.071	1.072	1.074	1.071	1.073	1.070	1.064	1.072	1.069	1.074	1.077	1.077	0.001
Haugh units	91.39	93.82	94.33	90.75	93.94	95.72	95.44	94.06	93.45	95.94	96.47	93.77	91.48	93.60	93.89	92.02	0.275
Yolk Index	0.46	0.44	0.46	0.46	0.47	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.47	0.46	0.45	0.46	0.46	0.47	0.002
EW (g)	9.40	10.21	10.45	9.90	10.50	11.26	11.28	10.61	10.74	10.86	11.12	10.30	9.48	10.10	9.99	9.62	0.093
% Yolk	30.70	31.36	31.25	30.82	30.49	31.31	30.69	30.61	30.26	31.24	30.85	30.70	30.43	30.40	30.63	30.53	0.080
% Albumen	62.13	62.13	61.72	61.97	62.19	61.22	61.90	61.92	62.28	61.54	61.60	61.71	62.15	61.90	61.58	61.83	0.103
% Shell	6.68	7.05	6.96	6.71	7.33	7.92	7.88	7.46	7.47	7.88	7.72	7.55	7.13	7.70	7.68	7.30	0.060
SWUSA	3.15	3.63	3.62	3.21	3.73	3.96	3.90	3.81	3.83	3.97	3.90	3.81	3.18	3.94	3.91	3.52	0.041
ST (mm)	0.187	0.209	0.207	0.187	0.220	0.224	0.220	0.220	0.219	0.232	0.206	0.218	0.201	0.206	0.224	0.211	0.002
MM (%DM)	67.63	77.55	83.46	69.87	83.03	87.22	86.73	76.24	78.66	83.37	82.40	85.00	69.77	79.74	76.51	71.35	1.024
Ca shell (%DM)	31.56	36.40	37.85	31.50	34.32	38.14	37.07	38.11	35.52	37.40	39.53	37.03	36.61	37.54	38.15	41.34	0.451
Regression Equation									R <sup>2</sup>	p value			Estimate				
										Ca	aP	Ca x aP	Ca	aP			
EW = 2.4236 + 5.1720Ca - 0.9596Ca <sup>2</sup> + 10.0686aP - 13.1204aP <sup>2</sup>									0.78	<0.0001 (Q)	<0.0001 (Q)	0.4445	2.69	0.38			
% Yolk= 30.3117- 0.2317Ca + 6.9039aP - 8.8704aP <sup>2</sup>									0.25	0.0150 (L)	0.0078 (Q)	0.7416	-	0.38			
% Shell = 2.0943 + 3.0669Ca - 0.5106Ca <sup>2</sup> + 6.7558aP - 8.8056aP <sup>2</sup>									0.85	< 0.0001 (Q)	< 0.0001 (Q)	0.7684	3.00	0.38			
WSSA = 0.0758 + 2.0316Ca - 0.3503Ca <sup>2</sup> + 5.6383aP - 7.2407aP <sup>2</sup>									0.80	< 0.0001 (Q)	< 0.0001 (Q)	0.5057	2.90	0.39			
ST = 0.0342 + 0.1128Ca - 0.0196Ca <sup>2</sup> + 0.1861aP - 0.2407aP <sup>2</sup>									0.71	< 0.0001 (Q)	< 0.0001 (Q)	0.5618	2.88	0.39			
Ca shell = 24.6708 + 1.8158Ca + 39.0158aP - 44.6944aP <sup>2</sup>									0.41	0.0003 (L)	0.0076 (Q)	0.2352	-	0.44			

Ca: calcium; aP: available phosphorus; SE: standard error; SG: specific gravity; EW: egg's weight; SWUSA: shell weight per unit of surface area; ST: shell thickness; MM: mineral matter; L: linear effect; Q: quadratic effect.



The assessed variables representing the internal and external qualities of the eggs exhibited no significant interaction between the levels of Ca and aP. However, the percentage of shell, shell weight per unit of surface area (SWUSA) and shell thickness (ST) exhibited independent quadratic responses for each mineral. The percentage of the shell enabled us to estimate the levels of Ca and aP, 3.0% and 0.38%, respectively. SWUSA had its peak with 2.90% Ca and 0.39% aP, while in ST, it was with 2.88% Ca and also 0.39% aP.

Increase in shell percentage was associated to increase of EW. This result is controversial in the literature that discusses commercial egg-laying hens. Rutz et al. (2007) reported that from the beginning to the end of the productive cycle, egg weight increases as laying hens grow older, however, no proportional increase was observed in shells. This difference in result simultaneously can be associated with the fact that shows quails exhibit different behavior in the production of eggs and better shell resistance.

Among the variables regarding the external quality of eggs and more specifically quality of the shells, different levels of minerals had no effect only on specific gravity (SG). However, although it is commonly used, SG considered an indirect method, and ST, the percentage of shell in relation to the weight of the egg, and SWUSA are all considered direct methods to evaluate the quality of the shell (Baião and Cançado, 1997).

In poultry farming, the direct economic loss is associated with shell quality and cracking rates of eggs. Consequently, quality of the shell is the main concern of egg-laying industries, because of the economic loss caused by the prevalence of poor quality (Macari and Mendes, 2005).

This study shows the influence Ca and aP have on the improvement of shell quality of eggs produced by quails in the interval from 64 to 168 days of age. Souza et al. (2016), who worked with quails at the end of production, found the same result. These authors stated that Ca level of 3.85% increased ST, which was higher than what we observed in the present study. This difference is probably because the foregoing authors studied quails at the end of their production cycles. Still, they highlight the importance of these minerals during the entire productive stage.

To avoid loss of shell quality, farmers must avoid high levels of an inorganic phosphorus, because the excess prevents the release of Ca from the bone and correct shell mineralization (Bertechini, 2014; Gonzales, 1999). In the present study, aP had a

quadratic effect on the concentration of calcium in the eggshell, its maximum point being 0.44% aP. The level of this mineral increased linearly according to the levels of Ca studied.

The percentage of the yolk reduced linearly according to the levels of Ca studied, while aP had a quadratic effect and its optimum levels were found to be 0.38%. During the formation process of the egg, the higher proportion of aP is directed to the yolk in the form of phospholipids and phosphoproteins (Cavalheiro et al., 1983).

The Haugh unit, yolk index, and percentage of albumen are variables related to the internal quality of eggs and exhibited no interactions nor significant differences for the levels of Ca and aP used in the present study. The same was found for mineral matter results. These results indicate that the minerals studied exert no negative influence on internal quality.

The egg begins to lose its internal quality soon after the laying, if appropriate measures are not taken for its conservation (Barbosa et al., 2008). Characteristics of internal quality are lost when they are stored for long periods, especially those related to albumen and yolk (Stadelman and Cotterill, 1995). Although no studies have investigated the relationship between different levels of minerals and storage time, we assumed that the levels of minerals able to cause a positive impact on shells are the same for the internal quality of eggs with storage life. Souza et al. (2015), while using five levels of Ca (2.95%, 3.25%, 3.55%, 3.85%, and 4.15%) and a 14-day storage period, observed the same result. In their experiment, the authors obtained better internal quality indexes as the levels of Ca increased.

#### Serum biochemical profile

Considering the serum biochemistry, only the levels of total calcium exhibited a linear increase in parallel to the levels of Ca used in diet (Table 5).

Total calcium is a good indicator of ionized calcium since 50 to 60% of Ca present in the blood is linked to plasmatic proteins or to citrate and phosphate. However, the remaining ionized calcium is responsible for controlling physiological actions (Becker, 2008).

Table 5. Serum biochemical profile of Japanese quail in laying phase (64 to 168 days of age) with levels of calcium and available phosphorus

Ca (%)	1.70				2.40				3.10				3.80				SE
aP (%)	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	
TP (g/dL)	4.15	3.98	4.28	4.43	4.17	4.57	4.30	4.12	4.62	4.25	3.79	4.36	4.48	4.48	4.22	4.38	0.049
Albumin (g/dL)	1.35	1.50	1.28	1.32	1.18	1.33	1.27	1.15	1.27	1.15	1.08	1.25	1.30	1.56	1.32	1.30	0.019
AP (U/L)	607.5	783.3	576.7	365.7	475.2	705.3	625.5	533.3	374.8	690.5	613.4	579.7	494.2	897.8	548.5	273.5	23.896
ionic Ca(mg/dL)	7.45	9.46	9.34	8.86	8.73	8.72	8.41	8.17	9.68	9.00	7.75	8.68	7.86	11.00	9.05	8.56	0.141
total Ca (mg/dL)	14.63	16.78	17.63	17.76	16.90	15.98	16.62	15.80	18.57	18.33	16.33	16.38	15.78	20.61	20.96	17.05	0.289
Phosphorus(mg/dL)	7.72	7.93	9.98	9.42	10.12	11.98	8.03	6.83	12.02	11.12	11.80	10.62	10.39	8.59	8.07	9.43	0.257
Regression Equation					R <sup>2</sup>	p value				Estimate							
						Ca	aP	Ca x aP	Ca	aP							
total Ca = 8.5293 + 2.4489Ca					0.17	0.0077 (L)	0.1344	0.1851	-	-							

Ca: calcium; aP: available phosphorus; SE: standard error; TP: total protein; AP: alkaline phosphatase; L: linear effect.

Although of low relevance ( $R^2=0,17$ ) this linear increase in total calcium may be associated with the physiological conditions the birds were kept since they were submitted to a six-hour dietary fast. During fasting (a.m.), the quails had eggs in their uterus; therefore, they needed higher quantities of available Ca, maintaining constant the total calcium level in circulation. Consequently, the complex form of Ca works as a supply in serum, highly available for ionization (Pizzolante, 2000), and then used in shell formation and for bone absorption, which is also a mineral source for shell formation. Therefore, birds receiving diets with higher levels of calcium mobilized larger amounts of calcium. These results are in agreement with Pelicia et al. (2009), who also reported that the increase of the Ca level in feed promoted an increase in the level of blood Ca.

This increase in calcium found in serum can also be associated to the need for a higher deposition of the mineral in the egg, as observed in this experiment, where the higher the levels of Ca the higher the deposition of this mineral in the shell.

Non-significance for ionic calcium and variables used for measurement (total protein and albumin), as well as phosphorus concentration, can also be associated to the efficient homeostasis of these minerals, in which PTH and vitamin D<sub>3</sub> regulate the absorption of calcium in case of deficiency, and calcitonin does the opposite, acting when there is an increase in Ca concentration. This emphasizes that the metabolism of P is associated with the metabolism of Ca.

#### Bone variables

The data obtained regarding the bone variables in the egg-laying stage show that the levels of Ca and aP had no significant effect on the Seedor index, mineral matter and on the concentration of phosphorus in either of the bones analyzed. They had no effect on the concentration of calcium in the femur or on the bone density of the tibiotarsus either (Table 6).

Nonetheless, they did exhibit linear interaction for Ca and aP in bone density (BD) and bone resistance (BR) of the femur. BD of the femur was also influenced, with a quadratic effect, by the levels of Ca and aP, while BR exhibited a quadratic effect for Ca and a linear increase for aP.

Bone densitometry can precisely detect the gain and loss variations of bone mass and can indicate bone mineralization (Barreiro et al., 2009). In the present experiment, a

quadratic effect on BD of the femur for both of the minerals studied was estimated at having optimum levels at 2.84% and 0.50% for Ca and aP, respectively.

Almeida Paz (2006) monitored the bone development broiler breeders by bone densitometry and observed that bone density values of the tibiotarsus oscillate less than the femur, indicating that the former absorbs more minerals, as well as provides them more easily when needed. The results of the foregoing authors are in agreement with the result of the present study, in which only the femur was affected by the different levels of minerals studied.

Mineral bone density can be measured using techniques, such as the mineral composition of the bone, bone resistance, and Seedor index (Almeida Paz and Bruno, 2006). For BR of the femur, the best result was found when the level of Ca was at 3.27%. Nonetheless, BR of the tibiotarsus increased linearly as the levels of Ca increased, obtaining the same responses for calcium concentration in the bone. These responses may be associated with the level of total Ca in the blood, which increases the concentration of this mineral in the shell and promotes an increase in bone absorption.

The bone is a complex tissue composed by organic and inorganic matrices, which offer mechanical support and resistance, therefore, bone resistance is conditioned by levels of minerals, but also by the organic structure of the bone (Rath et al. 2000). Garcia et al. (2000) also obtained an increasing linear effect in bone resistance as the levels of calcium in the tibiotarsus also increased, but no significant differences were found for calcium concentrations in the ashes of that bone.

The results indicate that adequate levels of Ca in feed support bone quality, demonstrating better mineralization. According to Whitehead and Fleming (2000), when there is no bone structure loss, these bones, especially the tibiotarsus, become less fragile and less susceptible to fracture.

Ca and aP requirements for obtaining better growth yield in egg-laying Japanese quails were 2.68% Ca and 0.38% aP, a ratio of 7:1 between those minerals for the initial phase of laying (64 to 168 days of age).

Table 6. Bone variables of japanese quail in laying phase (64 to 168 days of age) with levels of calcium and available phosphorus

Ca (%)	1.70				2.40				3.10				3.80				SE
aP (%)	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	0.15	0.30	0.45	0.60	
FEMUR																	
SI (mg/mm)	12.50	13.13	14.40	12.41	13.67	14.74	14.71	12.89	14.85	15.67	15.45	14.41	12.76	13.25	13.1	13.11	0.170
BD (mm Eq/Al)	1.85	1.82	1.95	1.82	1.96	2.04	2.04	1.95	1.98	2.01	2.02	2.09	1.73	1.81	1.92	1.93	0.020
BR (kgf)	26.47	38.03	35.67	36.00	37.7	32.48	42.97	39.44	38.75	45.79	43.11	43.73	41.37	35.36	34.85	35.27	0.790
MM (%DM)	49.76	56.73	58.33	52.48	60.67	63.56	60.75	57.55	59.83	60.02	61.11	58.85	54.71	55.22	55.99	52.64	0.590
CCa (%DM)	19.32	22.43	19.64	23.32	23.92	22.8	21.84	23.75	22.19	22.86	23.76	24.60	21.00	21.11	22.91	23.3	0.260
CP (%DM)	10.55	10.64	10.23	10.32	10.36	10.47	10.52	10.64	10.2	10.72	11.17	10.30	9.55	9.57	9.91	9.71	0.070
TIBIOTARSUS																	
SI (mg/mm)	10.87	11.32	13.16	11.92	11.43	13.36	12.61	12.87	12.18	12.93	13.49	12.3	11.37	11.52	11.69	10.77	0.14
BD (mm Eq/Al)	1.87	1.83	2.05	1.82	1.88	1.93	1.92	1.98	1.94	2.02	1.94	2.10	1.92	1.84	2.03	1.98	0.01
BR (kgf)	31.32	34.18	33.01	32.62	46.38	36.91	41.87	35.68	42.99	44.17	41.18	43.72	36.24	44.84	46.31	34.91	0.80
MM (%DM)	55.30	60.33	59.97	58.07	60.36	56.95	60.7	56.71	54.42	55.09	56.8	57.64	54.93	55.69	55.01	58.5	0.40
CCa (%DM)	22.79	16.91	12.85	21.61	26.85	22.72	19.6	26.11	25.19	21.97	23.88	22.16	22.88	24.82	23.72	23.9	0.49
CP (%DM)	10.07	10.40	10.28	10.20	10.47	10.77	10.66	10.67	10.44	10.45	11.10	10.53	9.30	9.40	10.13	9.74	0.08
Regression Equation								R <sup>2</sup>	p value				Estimate				
									Ca	aP	Ca x aP	Ca	aP				
BD femur = 0,8709+ 0,8257Ca -0,1659Ca <sup>2</sup> +0,1004aP -0,7455aP <sup>2</sup> + 0,2290Ca*aP								0.78	< 0.0001 (Q)	0.0507 (Q)	0.0005	2.84	0.50				
BR femur = -24,2559 + 38,4325Ca - 5,6735Ca <sup>2</sup> + 44,9438aP - 13,7442Ca*aP								0.46	0.0002 (Q)	0.0029 (L)	0.0075	3.27					
BR tibiotalarsus = 28,2055 + 3,6009Ca								0.14	0.0148 (L)	0.4292 (NS)	0.6088	-	-				
CCa tibiotalarsus = 12.71709 + 2.80180451Ca								0.13	0.0183 (L)	0.4354 (NS)	0.6888	-	-				

Ca: calcium; aP: available phosphorus; SE: standard error; SI: Sedor index; BD: bone density; BR: bone resistance; MM: mineral matter; CCA: concentration of calcium; CP: concentration of phosphorus; L: linear effect; Q: quadratic effect; NS: non-significant.

#### 4.4. References

- Almeida Paz, I.C.L.; Bruno, L.D.G., 2006: Bone mineral density: review. *Brazilian Journal of Poultry Science* **8**, 69 – 73.
- Almeida Paz, I.C.L. 2006: Acompanhamento do desenvolvimento do tecido ósseo de matrizes pesadas por meio da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas, qualidade óssea e produção de ovos. PhD Tesis, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brazil.
- Amoah, J.K.; Martin, E.A; Barroga, A.J.; Garillo, E.P.; Domingo, I., 2012: Calcium and phosphorus requirements of Japanese quail layers. *Journal of Applied Biosciences* **54**,3892– 3900.
- AOAC, 2005: *Official Methods of Analysis*. 18<sup>th</sup> edn. Washington, DC, United States.
- Baião, N.C.; Cançado, S.U., 1997: Fatores que afetam a qualidade da casca do ovo. *Caderno Técnico de Veterinária* **21**, 43-59.
- Barbosa, N.A.A.; Sakomura, N.K.; Mendonça, M.O.; Freitas, E.R.; Fernandes, J.B.K., 2008: Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. *ARS Veterinária* **24**,127- 133.
- Barreiro, F.R.; Sagula, A.L.; Junqueira, O.M.; Pereira, G.T.; Baraldi-Artoni, S.M., 2009: Densitometric and biochemical values of broiler tibias at different ages. *Poultry Science* **88**, 2644-2648.
- Barreto, S.L,T.; Pereira, C.A.; Umigi, R.T.; Rocha, T. C. da; Araujo, M.S. de; Silva, C. S.; Torres Filho, R.A., 2007: Determinação da exigência nutricional de cálcio de codornas japonesas na fase inicial do ciclo de produção. *Revista Brasileira de Zootecnia* **36**, 68-78.
- Becker, C., 2008: Diseases of calcium metabolism and metabolic bone disease. *American College of Physicians Medicine*, 1-18.
- Bertechini, A.G., 2004. Absorção e metabolismo de minerais em aves. In: Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Jaboticabal, Brazil. CD-ROM.
- Bertechini, A.G., 2014: Exigências de minerais para aves. In: Sakomura, N.K.; Silva, J.H.V.; Costa, F.G.P.; Fernandes, J.B.K.; Hauschild, L. Nutrição de não ruminantes. 1<sup>a</sup> ed. FUNEP, Jaboticabal,SP, Brazil.
- Brandão, P.A.; Costa, F.G.P.; Silva, J.H.V.; Brandão, J.S.; Nobre, J.G.S.; Goulart, C.C., 2007: Exigência de cálcio para codornas japonesas (*coturnix coturnix japonica*) em postura. *Acta Scientiarum Animal Sciences* **29**, 17-21.
- Cavalheiro, A.C.L.; Trindade, D.S.; Oliveira, S.C., 1983: Níveis de fósforo em rações para poedeiras. *Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas "Francisco Osório"* **10**, 7-16.
- Classen, H.L.; Scott, T.A., 1982: Self selection of calcium during the rearing and early laying periods of White Leghorn pullets. *Poultry Science* **61**, 2065-2074.
- Costa, C. H.R.; Barreto, S. L. T.; Moura, W. C. O.; Reis, R.S.; Leite, C. D. S.; Maia, G. V. C., 2007: Níveis de fósforo e cálcio em dietas para codornas japonesas em postura. *Revista Brasileira de Zootecnia* **36**, 2037-2046.
- Costa, C. H.R.; Barreto, S.L.T.; Umigi, R.T.; Lima, H.J.D.; Araujo, M.S. de; Medina, P., 2010: Balanço de cálcio e fósforo e estudo dos níveis desses minerais em dietas para codornas japonesas (45 a 57 semanas de idade). *Revista Brasileira de Zootecnia* **39**, 1748-1755.

- Garcia, J.; Murakami, A.E.; Martins, E.N.; Furlan, A.C., 2000: Exigências nutricionais de cálcio e fósforo para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura. *Acta Scientiarum Animal Science* **22**, 733-739.
- Gonzales, E. A., 1999: A qualidade da casca do ovo. *Revista Alimentação Animal* **16**.
- Hamilton, R.M.G., 1982: Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. *Poultry Science* **61**, 2022-2039.
- Haugh, R.R., 1937: The Haugh unit for measuring egg quality. *United States Egg Poultry Magazine* **43**, 552-555.
- Kira, K.C., Murakami, A.E., Furlan, A.C., 1996. Utilização de diferentes fontes de cálcio para poedeiras comerciais. In: Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas- FACTA, Curitiba, Brazil. p. 26.
- Leeson, S., 1999. Enzimas para aves. In: Simpósio internacional sobre nutrição de aves- FACTA, Campinas, Brazil, p.173-185.
- Macari, M.; Mendes, A.A., 2005: Manejo de matrizes de corte. 2ª ed. FACTA, Campinas, SP, Brazil.
- Masukawa, Y.; Moraes, V.M.B.; Arika, J.; Bruno, L.D.G., 2001: Níveis de cálcio da dieta sobre o desempenho e a qualidade da casca de ovos de codornas japonesas. *Ars Veterinária* **17**, 144-148.
- McDowell, L.R., 1992: *Calcium and Phosphorus – Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academy Press Inc. San Diego, California, United States.
- National Research Council –NRC, 1994: Nutrient Requirements of Poultry. 9<sup>th</sup> edn., Washington: University Press, SEA, United States.
- Oliveira- Bruxel, T. M. 2016: Exigência de energia metabolizável e lisina digestível para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). PhD Tesis, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brazil.
- Pelicia, K.; Garcia, E.A.; Faitarone, A.B.G.; Silva, A.P.; Berto, D.A.; Molino, A.B.; Vercese, F., 2009: Calcium and Available Phosphorus Levels for Laying Hens in Second Production Cycle. *Brazilian Journal of Poultry Science* **11**, 39 – 49.
- Pizzolante, C. C. 2000: Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte. PhD Tesis, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brazil.
- Rath, N. C., 2000: Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science* **79**, 1024-1032.
- R Core Team., 2013: *R- A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ribeiro, C.L.N.; Barreto, S.L.T.; Reis, R.S.; Muniz, J.C.L.; Viana, G.S.; Ribeiro Junior, V.; Mendonça, M.O.; Ferreira, R.C.; Degroot, A.A., 2016: The effect of calcium and available phosphorus levels on performance, egg quality and bone characteristics of japanese quails at end of the egg-production phase. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* **18**, 33-40.
- Rodrigues, P.B.; BertechinI, A.G.; Oliveira, B.C.; Teixeira, A.S.; Oliveira, A.I.G., 1996: Fatores nutricionais que influenciam a qualidade do ovo no segundo ciclo de produção. I. Níveis de aminoácidos sulfurosos totais. *Revista Brasileira de Zootecnia* **25**, 248-260.
- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; Oliveira, R.F.; Lopes, D.C.; Ferreira, A.S.; Barreto, S.L.T.; Euclides, R.F., 2011. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3ª ed. Viçosa: UFV, Viçosa, Brazil.



- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Hannas, M.I.; Donzele, J.L.; Sakomura, N. K.; Perazzo, F. G.; Saraiva, A.; Teixeira, M.L.; Rodrigues, P.B.; Oliveira, R.F.; Barreto, S.L.T.; Brito, C.O., 2017 *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 4<sup>a</sup>.ed. Viçosa: UFV, Viçosa, Brazil.
- Rutz, F.; Anciuti, M.A.; Xavier, E.G.; Roll, V.F.B.; Rossi, P., 2007: Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* **31**, 307-317.
- Sakomura, N.K.; Rostagno, H.S., 2016: *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*. 2ed. FUNEP: Jaboticabal. Brazil.
- Scott, M.L.; Nesheim, M.C.; Young, R.J., 1982: *Nutrition of the chickens*. 3.ed. New York: Ithaca, United States..
- Schoulten, N.A.; Teixeira, A.S.; BertechinI, A.G.; Freitas de, R.T.F.; Conte, A.J.; Silva, U.H., 2002: Efeito dos níveis de cálcio sobre a absorção de minerais em dietas iniciais para frangos de corte suplementadas com fitase. *Ciência e Agrotecnologia* **26**, 1313-1321.
- Seedor, T.; Watanabe, E.; Kadowaki, W., 1996: Effect of dietary and arginine levels on bone development in broiler chicks. *Animal Science and Technology* **67**, 7-13.
- Silva, J.H.V.; Costa, F.G.P., 2009: *Tabela para codornas japonesas e européias*. 2.ed. FUNEP, Jaboticabal, Brazil.
- Sohail, S.S., Roland, D.A., 2002: Influence of dietary phosphorus on performance of HyLine W36 hens. *Poultry Science* **81**, 75-83.
- Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 1995: *Egg science and technology*. New York/London: Food Products Press, New York, United States.
- Souza, D.S.; Calixto, L.F.L.; Lemos, M.J.; Silva Filho, C. A.; Pinho, T.P.; Machado, C.A.; Melo, I.A. ; Togashi, C.K., 2016: Quail performance and egg quality at the end of production fed with varying levels of calcium. *Semina: Ciências Agrárias* **37**,2395-2406.
- Souza, D.S.; Silva Filho, C. A.; Pinho, T.P.; Azevedo, V.M.; Oliveira, S.M.; Calixto, L.F.L., 2015: *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal* **16**, 139-148.
- Whitehead, C.C.; Fleming, R.H., 2000: Osteoporosis in cage layers. *Poultry Science* **7**, 1033-1041.

## V- CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com este estudo, foi possível estimar as exigências nutricionais de cálcio (Ca) e fósforo disponível (Pd), e a relação entre esses minerais, para codornas japonesas da linhagem comercial Vicami. Na fase de cria (1 a 14 dias), as estimativas foram de 0,92% de Ca e 0,37% de Pd com relação de 2,49: 1. Na fase de recria (15 a 42 dias), de 0,94% de Ca e 0,39% de Pd com relação de 2,41:1. Na fase de postura (64 a 168 dias), de 2,68 % de Ca e 0,38% de Pd com relação de 7:1.

As estimativas foram obtidas através da utilização de gráficos de contornos sobrepostos, onde o ponto selecionado no gráfico indicou os melhores níveis ao combinar as múltiplas respostas das variáveis de desempenho.

Sendo assim, esse trabalho ajudará a estabelecer suporte para nutrição de codornas japonesas em crescimento e em postura, demonstrando seus benefícios e vantagens, assim como apresentando a inter-relação de metabolismo do Ca e Pd em codornas japonesas.