

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA

**EFEITO DO CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NA DIETA SOBRE O  
DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE ÓSSEA E DA CASCA DE OVOS DE  
GALINHAS POEDEIRAS POR MEIO DE META-ANÁLISES**

DIEGO PEREIRA VAZ

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária da UFMG

2018

DIEGO PEREIRA VAZ

**Efeito do cálcio e fósforo disponível na dieta sobre o desempenho produtivo, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras por meio de meta-análises**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição e Alimentação Animal/Não ruminantes

Orientador: Prof./Dr. Leonardo José Camargos Lara

Coorientadores: Prof./Dr. Nelson Carneiro Baião

Dr.(a) Mariana André Pompeu

BELO HORIZONTE

2018

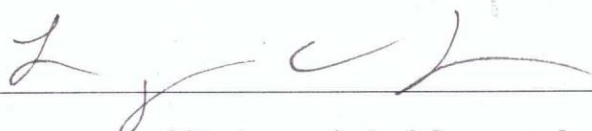
V393e Vaz, Diego Pereira, 1987-  
Efeito do cálcio e fósforo disponível na dieta sobre o desempenho produtivo,  
qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras por meio de meta-análises /  
Diego Pereira Vaz. – 2018.  
124 p. : il.

Orientador: Leonardo José Camargos Lara  
Coorientadores: Nelson Carneiro Baião, Mariana André Pompeu  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

1. Poedeira (Galinha) – Alimentação e rações – Teses. 2. Cálcio na nutrição animal –  
Teses. 3. Fósforo na nutrição animal – Teses. 4. Dieta em veterinária – Teses. 5. Nutrição  
animal – Teses. 6. Desempenho produtivo – Teses. I. Lara, Leonardo José Camargos.  
II. Baião, Nelson Carneiro. III. Pompeu, Mariana André. IV. Universidade Federal de  
Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.508 5

TESE defendida e aprovada em 28 de fevereiro de 2018 pela comissão examinadora composta pelos seguintes membros:



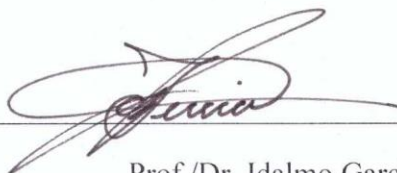
---

Prof./Dr. Leonardo José Camargos Lara  
(Orientador)



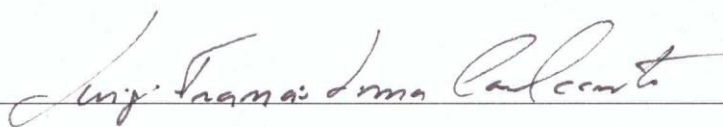
---

Prof./Dr.(a) Ângela Maria Quintão Lana



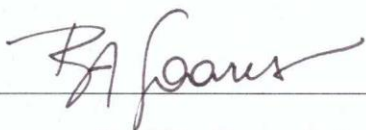
---

Prof./Dr. Idalmo Garcia Pereira



---

Dr. Luigi Francis Lima Cavalcanti



---

Prof./Dr. Bruno Antunes Soares

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha família.

*É da natureza da probabilidade que as coisas improváveis aconteçam.*

*(Aristóteles)*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus por ter me dado todas condições para chegar até aqui.

Aos meus pais e irmãos por todo apoio, conforto e segurança familiar que me deram em todos os caminhos que decidi percorrer na vida.

À minha namorada Taisa, que foi imprescindível para realização do meu doutorado, me dando força, atenção e auxílio nos momentos importantes.

Agradeço muito aos professores Leonardo Lara e Nelson Baião pela oportunidade de trabalharmos juntos, por todo conhecimento que compartilharam comigo e pela fundamental participação na minha formação.

À professora Ângela, pela oportunidade de ser o monitor da disciplina Planejamento e análise de experimentos e, principalmente, pela convivência, onde pude adquirir muito conhecimento e lições.

Ao professor Fábio Toral, ao Luigi e a Mari Pompeu pela grande contribuição no desenvolvimento e condução do meu projeto de tese (a meta-análise) e, em especial, a Mari pela coorientação.

Aos colegas do GEAv: Anna Rosa, Bianca, Cátia, Cris, Cristiano, Érica, Fernanda, Flávia, Hítalo, Jennifer, Leonardo, Larissa, Lorena, Marcela, Mari Masseo, Pedro, Rafael, Renata, Thiago e Winnie por todos projetos, trabalhos e produções realizados juntos ao longo destes anos.

Aos professores e doutores: Idalmo Garcia, Ângela Lana, Leonardo Lara, Bruno Antunes, Luigi Cavalcanti, Carlo Henrique Vasconcelos e Ittalo Conrado Souza pela participação como membros da banca da minha defesa de tese e por toda contribuição no trabalho.

À CAPES, pela bolsa de doutorado concedida.

## SUMÁRIO

	RESUMO -----	13
	ABSTRACT -----	14
1.	INTRODUÇÃO -----	15
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	17
2.1.	Metabolismo do cálcio -----	17
2.2.	Metabolismo do fósforo -----	19
2.3.	Formação e qualidade da casca de ovos em galinhas poedeiras -----	21
2.4.	Fornecimento de cálcio e fósforo para galinhas poedeiras -----	24
2.5.	Cálcio e fósforo em dietas de galinhas poedeiras em fase de produção -	25
2.5.1.	Níveis de cálcio -----	27
2.5.2.	Níveis de fósforo disponível -----	29
2.6.	Mata-análise: finalidades, vantagens e desvantagens -----	31
2.7.	Procedimentos das Meta-análises -----	33
2.7.1.	Procedimentos que precedem a análise dos dados -----	34
2.7.2.	Procedimentos e metodologias para análises dos dados -----	35
2.7.3.	Procedimentos pós-análises dos dados -----	41
2.8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	43
3.	ARTIGO 1: EFEITO DO CÁLCIO DIETÉTICO NO DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE ÓSSEA E DA CASCA DE OVOS DE GALINHAS POEDEIRAS: UMA META-ANÁLISE -----	53
	RESUMO -----	53
	ABSTRACT -----	54
3.1.	INTRODUÇÃO -----	55
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS -----	56
3.2.1.	Pesquisa bibliográfica -----	56
3.2.2.	Descrição do banco de dados -----	57
3.2.3.	Descrição das variáveis repostas -----	58
3.2.4.	Descrição da análise estatística -----	59
3.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	60
3.3.1.	Desempenho produtivo -----	63
3.3.2.	Qualidade óssea e da casca de ovos -----	71
3.4.	CONCLUSÕES -----	78



3.5.	REFERÊNCIAS -----	79
4.	ARTIGO 2: EFEITO DO FÓSFORO DISPONÍVEL DIETÉTICO NO DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE ÓSSEA E DA CASCA DE OVOS DE GALINHAS POEDEIRAS: UMA META-ANÁLISE -----	89
	RESUMO -----	89
	ABSTRACT -----	90
4.1.	INTRODUÇÃO -----	91
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS -----	92
4.2.1.	Pesquisa bibliográfica -----	92
4.2.2.	Descrição do banco de dados -----	93
4.2.3.	Descrição das variáveis repostas -----	94
4.2.4.	Descrição da análise estatística -----	94
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	96
4.3.1.	Desempenho produtivo -----	98
4.3.2.	Qualidade óssea e da casca de ovos -----	107
4.4.	CONCLUSÕES -----	114
4.5.	REFERÊNCIAS -----	115

#### LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1.	Esquema do balanço diário de Ca em galinhas poedeiras -----	18
Figura 2.	Esquema do balanço diário de P em galinhas poedeiras -----	20
Figura 3.	Representação esquemática do processo meta-analítico -----	34

#### LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO 1

Figura 1.	Consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e) em função do nível de Ca na dieta de galinhas poedeiras -----	70
Figura 2.	Porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tíbia (i) em função do nível de Ca na dieta de galinhas poedeiras -----	77

## LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO 2

Figura 1.	Consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e) em função do nível de Pd na dieta de galinhas poedeiras -----	106
Figura 2.	Porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tíbia (i) em função do nível de Pd na dieta de galinhas poedeiras -----	113

## LISTA DE TABELAS DO ARTIGO 1

Tabela 1.	Estatística descritiva das variáveis independentes e dependentes selecionadas dos estudos utilizados na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio no desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras -----	62
Tabela 2.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) para consumo de ração (CR), produção de ovos (ProdOvo), peso do ovo (PO), massa de ovo (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras -----	63
Tabela 3.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) e cálcio quadrático (Ca*Ca) para consumo de ração (CR), produção de ovos (ProdOvo), peso do ovo (PO), massa de ovo (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras-----	64
Tabela 4.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com cálcio (Ca) ou cálcio (Ca) mais cálcio quadrático (Ca*Ca) e covariáveis candidatas para consumo de ração (CR), produção de ovos (Prod. ovo), peso do ovo (PO), massa de ovo (MO) e conversão alimentar obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras -----	69
Tabela 5.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) para porcentagem da casca (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras -----	71

Tabela 6.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) e cálcio quadrático (Ca*Ca) para porcentagem da casca (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras -----	72
Tabela 7.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com cálcio (Ca) ou cálcio (Ca) mais cálcio quadrático (Ca*Ca) e covariáveis candidatas para porcentagem de casca do ovo (PC), espessura de casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras -----	76

---

**LISTA DE TABELAS DO ARTIGO 2**

---

Tabela 1.	Estatística descritiva das variáveis independentes e dependentes selecionadas de estudos utilizados na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível no desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras -----	97
Tabela 2.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) para consumo de ração (CR), produção de ovos (ProdOvo), peso do ovo (PO), massa de ovo (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras -----	99
Tabela 3.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) e fósforo disponível quadrático (Pd*Pd) para consumo de ração (CR), produção de ovos (Prod. ovo), peso do ovo (PO), massa de ovo (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras -----	100
Tabela 4.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com fósforo disponível (Pd) ou com fósforo disponível (Pd) mais fósforo quadrático (Pd*Pd) e covariáveis candidatas para consumo de ração (CR), produção de ovos (Prod. ovo), peso do ovo (PO), massa de ovo (MO) e conversão alimentar obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras -----	105
Tabela 5.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo -----	

	disponível (Pd) para porcentagem da casca (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras -----	107
Tabela 6.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) e fósforo disponível quadrático (Pd*Pd) para porcentagem de casca do ovo (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras -----	108
Tabela 7.	Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com fósforo disponível (Pd) e covariáveis candidatas para porcentagem de casca do ovo (PC), espessura de casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras -----	112

#### ANEXOS DO ARTIGO 1

Tabela anexo 1.	Resumo das referências utilizadas para a meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio para galinhas poedeiras -----	84
Figura anexo 1.	Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos -----	87
Figura anexo 2.	Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tíbia (i). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos -----	88

#### ANEXOS DO ARTIGO 2

Tabela anexo 1.	Resumo das referências utilizadas para a meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível para galinhas poedeiras -----	120
Figura	Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares	

anexo 1.	mistos finais para consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos -----	122
Figura anexo 2.	Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tibia (i). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos -----	123

### LISTA DE ABREVIATURAS

-2Logl	-2 log-verossimilhança
AIC	Critério de Informação de Akaike
B	Linhagens brancas
BIC	Critério de Informação Bayesiano de Schwarz
CA	Conversão alimentar
Ca	Cálcio
Ca*Ca	Cálcio quadrático
Ca:P	Relação entre cálcio e fósforo
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Hidroxiapatita
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Fosfato de cálcio
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de cálcio
CR	Consumo de ração
Ctb	Porcentagem de cinzas na tibia
DE	Duração do ensaio
DNA	Ácido desoxiribonucleico
DP	Desvio Padrão
EC	Espessura da casca
EM	Energia metabolizável
EP	Erro padrão
G	Gramas
g/ave/dia	Gramas por ave por dia
g/g	Gramas por grama
g/kg	Gramas por quilograma

GE	Gravidade específica
IF	Idade no final do ensaio
kcal/kg	Kilocaloria por kilograma
Lis	Lisina
LPL	Linear platô
LRT	Razão de verossimilhança
M	Linhagens marrons
MM	Modelo monomolecular
Met	Metionina
Met+cis	Metionina+Cistina
MO	Massa de ovos
P	Fósforo
PB	Nível de proteína bruta
PC	Porcentagem de casca do ovo
Pd	Fósforo disponível
PO	Peso do ovo
PO <sup>4</sup>	Ortofosfato
ProdOvo	Produção de ovos
PubMed	National Library of Medicine
QLP	Quadrático platô
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
RMSE	Raiz do erro quadrático médio
RNA	Ácido ribonucleico
SciELO	Scientific Electronic Library Online
1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	Metabólito ativo da vitamina D

# **EFEITO DO CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NA DIETA SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE ÓSSEA E DA CASCA DE OVOS DE GALINHAS POEDEIRAS POR MEIO DE META-ANÁLISES**

## **RESUMO**

Dois estudos foram conduzidos para avaliar os efeitos dos níveis de cálcio e fósforo disponível na dieta sobre o consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos, massa de ovos, conversão alimentar, porcentagem de casca do ovo, espessura da casca, gravidade específica e porcentagem de cinzas na tíbia de galinhas poedeiras usando a abordagem meta-analítica. Foram utilizados modelos mistos para avaliação dos efeitos lineares e quadráticos dos níveis de cálcio e fósforo disponível sobre as variáveis respostas. Na meta-análise que avaliou o efeito do cálcio o banco de dados foi composto por 37 ensaios, extraídos de uma tese e 22 artigos publicados de 1993 a 2015. O consumo de ração reduziu de forma linear e a porcentagem de cinzas na tíbia aumentou de forma linear em função do incremento dos níveis de cálcio na dieta, as estimativas dos coeficientes lineares do cálcio foram diferentes de zero com valores de  $P$  iguais a 0,0007 e 0,0215, respectivamente. A produção de ovos ( $P = 0,0266$ ), massa de ovos ( $P = 0,0143$ ), conversão alimentar ( $P = 0,0142$ ), porcentagem de casca do ovo ( $P \leq 0,0001$ ), espessura da casca ( $P = 0,0385$ ) e gravidade específica ( $P \leq 0,0001$ ) foram influenciadas de forma quadrática pelo incremento dos níveis de cálcio da dieta. Na meta-análise que avaliou o efeito de fósforo disponível o banco de dados foi composto por 30 ensaios, extraídos de uma dissertação e 17 artigos publicados de 1993 a 2017. As variáveis de desempenho foram influenciadas pelo incremento dos níveis de fósforo disponível na dieta de forma linear (i.e., peso dos ovos;  $P = 0,0308$ ) e quadrática (i.e., consumo de ração;  $P = 0,0040$ , produção de ovos;  $P = 0,0007$  e massa de ovos;  $P = 0,0004$ ), já que as estimativas dos coeficientes lineares e quadráticos do fósforo disponível foram diferentes de zero. No entanto, as variáveis de qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras não foram influenciadas pelos níveis de fósforo disponível. Dietas que contém níveis de cálcio compreendidos em 39,22 e 44,45 g/kg promovem a máxima resposta para desempenho e qualidade da casca dos ovos em galinhas poedeiras. Assim como, dietas que contém o nível de fósforo disponível de 3,82 g/kg promove a máxima resposta para desempenho sem comprometer a qualidade da casca de ovos em galinhas poedeiras.

Palavras chave: cálcio, fósforo; meta-análise; galinhas poedeiras; desempenho; qualidade da casca

# **EFFECT OF CALCIUM AND AVAILABLE PHOSPHORUS IN THE DIET ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE, BONE QUALITY AND EGGSHELL OF LAYING HENS THROUGH META-ANALYSIS**

## **ABSTRACT**

Two studies were conducted to evaluate the effects of calcium and available phosphorus levels in the diet on feed intake, egg production, egg weight, egg mass, conversion feed ratio, eggshell percentage, eggshell thickness, specific gravity and ash percentage of the tibia of laying hens using a meta-analytic approach. Mixed models were used to evaluate the linear and quadratic effects of calcium and available phosphorus levels on the response. In the meta-analysis that evaluated the effect of calcium the database consisted of 37 trials and 22 scientific articles published from 1993 to 2015. Feed intake decreased linearly and the percentage of ash in the tibia increased linearly as a function of the increase of calcium levels in the diet, estimates of linear calcium coefficients were different from zero with P values equal to 0.0007 and 0.0215, respectively. Egg production ( $P = 0.0266$ ), egg mass ( $P = 0.0143$ ), feed conversion ( $P = 0.0142$ ), egg shell percentage ( $P \leq 0.0001$ ), shell thickness  $P = .0385$ ) and specific gravity ( $P \leq 0.0001$ ) were influenced in a quadratic form by the increment of calcium levels of the diet. The meta-analysis evaluating the effect of phosphorus available the database consisted of 30 trials, extracted from a dissertation and 17 articles published from 1993 to 2017. The performance variables were influenced by the increase in dietary phosphorus levels in a linear (ie, egg weight,  $P = 0.0308$ ) and quadratic form (ie, feed intake,  $P = 0.0040$ , egg production;  $P = 0.0007$  and egg mass,  $P = 0.0004$ ), since the estimates of the linear and quadratic coefficients of the available phosphorus were different from zero. However, the bone quality and egg shell variables of laying hens were not influenced by the levels of available phosphorus. Diets containing calcium levels of 39.22 and 44.45 g/kg promote the maximum performance response and eggshell quality in laying hens, respectively. As well as, diets containing the Pd level of 3.82 g/kg promote maximum performance response without compromising eggshell quality in laying hens.

Keywords: calcium, eggshell quality, laying hen, meta-analysis, performance, phosphorus



## 1. INTRODUÇÃO

Os progressos genéticos das linhagens comerciais resultam em galinhas poedeiras cada vez mais produtivas, capazes de produzir de 413 a 468 ovos por ave alojada, em um ciclo produtivo com duração entre 90 e 100 semanas, variando de acordo com a linhagem (Hy-Line W36, 2015; Dekalb White, 2009; Lohmann LSL, 2014). No entanto, para que as aves expressem seu máximo desempenho é necessário que os níveis nutricionais recomendados acompanhem as mudanças nas exigências nutricionais. Consequentemente, as pesquisas com determinações dos requisitos nutricionais para galinhas poedeiras têm grande importância para o progresso da cadeia produtiva.

O cálcio (Ca) e fósforo (P) são considerados os principais minerais na nutrição das aves, pois além de suas participações nas funções vitais, são muito importantes para o desempenho produtivo e formação da casca dos ovos (Leeson e Summers, 2008). Deste modo, nos últimos anos grande parte dos estudos com nutrição de galinhas poedeiras concentraram-se na avaliação dos efeitos do Ca e P sobre o desempenho e qualidade óssea e da casca de ovos. No entanto, as recomendações dietéticas desses minerais para galinhas poedeiras presentes na literatura são diversas, principalmente, devido as variações dos fatores que modulam as exigências nutricionais entre os estudos, isto é, diferenças referentes a dieta basal, variáveis analisadas, metodologias dos trabalhos, condições ambientais e, principalmente, o estado fisiológico e idade das aves.

A baixa qualidade da casca de ovos influencia diretamente a ocorrência de ovos quebrados e representam grandes perdas econômicas para a avicultura de postura, seja devido à perda de produto, necessidade de processamento adicional ou queda da aceitabilidade (Mazzuco e Bertechini, 2014). A resistência e ausência de defeitos da casca são essenciais para a proteção contra a penetração de bactérias patogênicas em ovos. De acordo com Mabe et al. (2003) as cascas trincadas ou quebradas representam 80 a 90% dos ovos rotineiramente degradados. Deste modo, a qualidade da casca de ovos também é uma preocupação importante para os consumidores (Wolc et al., 2012; Swiatkiewicz et al., 2015a). Por estes motivos, grandes esforços têm sido aplicados para melhorar a qualidade da casca dos ovos nos campos da genética, ambiência e da nutrição, especialmente na nutrição mineral (Nys, 2001).

A comunidade científica tem por tradição confirmar resultados dos experimentos por meio de estudos adicionais, que objetivam verificar a generalidade e robustez das observações que foram feitas, bem como, desafiar a gama de aplicabilidade dos resultados observados. Essa prática faz com que ao longo do tempo, muitos estudos sejam publicados em assuntos

relativamente restritos (Lovatto et al., 2007). Existe grande interesse nos estudos que buscam uma maneira eficiente em fornecer Ca e P, considerando que melhorar os parâmetros de desempenho e a qualidade da casca dos ovos têm importância crucial para o setor avícola. No entanto, a determinação dos níveis de Ca e P para poedeiras comerciais ainda tem sido um desafio constante para os nutricionistas, visto que as exigências destes minerais dentre as fases de criação não estão bem definidas (Velasco, 2010).

A meta-análise refere-se a síntese estatística dos resultados de uma série de estudos (Borenstein, 2009), sendo considerada um processo relevante para avaliar fenômenos complexos e extrair evidências levando em conta pesquisas anteriores (St-Pierre, 2001). Estudos meta-analíticos são, por muitas vezes, capazes de aprimorar a análise estatística dos efeitos dos tratamentos, permitindo em casos, onde os resultados são aparentemente discordantes, obter uma visão geral e mais elucidativa da situação (D'Agostino e Weintraub, 1995).

Diante da infinidade de estudos sobre determinados temas e dos benefícios da meta-análise, essa abordagem é cada vez mais utilizada na ciência animal. No contexto da meta-análise, à medida que se aumenta a quantidade de estudos sobre determinado tema, surge a possibilidade de mensurar parâmetros, inferindo maior confiabilidade aos resultados (Andretta et al., 2011). Entretanto, para que os resultados de uma meta-análise sejam realmente aplicáveis é fundamental adequar os procedimentos, métodos e modelos ao conjunto de dados.

Uma análise crítica de síntese dos trabalhos científicos que avaliaram níveis de Ca e fósforo disponível (Pd) para galinhas poedeiras através de meta-análise pode levar a determinação de níveis desses minerais que proporcionem maior desempenho produtivo, qualidade da casca de ovos satisfatória e menor custo de produção, além de promover uma menor excreção desses minerais pelas aves, reduzindo assim, o impacto negativo da avicultura de postura sobre o ambiente. Deste modo, objetivou-se com este trabalho avaliar, através de uma abordagem meta-analítica, os efeitos dos níveis dietéticos de Ca e Pd sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos em galinhas poedeiras relatados nos estudos publicados nos últimos 25 anos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Metabolismo do cálcio

O Ca é o mineral mais abundante no organismo das aves, onde encontra-se em três diferentes formas: a principal delas é a hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ . Nos ossos na proporção Ca:P de 2:1 ; na matriz extracelular, como Ca ionizado e Ca ligado à proteína ou ligado a ânions; bem como Ca intracelular (Adedokun e Adeola, 2013). Além de fazer parte da composição da estrutura óssea e formação da casca do ovo, o Ca é um componente essencial das células vivas e fluidos extracelulares, exercendo funções variadas, como na ativação enzimática, transmissão de estímulos nervosos, contração muscular e coagulação sanguínea (Leeson e Summers, 2001; Bertechini, 2014).

O balanço de Ca nas galinhas poedeiras é regulado pelo estrogênio, paratormônio, calcitonina e  $1,25-(OH)_2D_3$ , por meio do controle efetivo da absorção intestinal, reabsorção óssea e eliminação renal (Figura 1). O trato gastrintestinal é a via primordial de absorção do Ca dietético. O rim é o órgão base da regulação plasmática de Ca e o osso é o principal reservatório dinâmico desse mineral no organismo. A presença de receptores de membrana Ca sensíveis nesses órgãos é fundamental para essa regulação e para o adequado desenvolvimento esquelético (Chang et al., 2008).

Quando ocorre redução nos níveis de Ca no sangue, o paratormônio é secretado, que por sua vez estimula a reabsorção óssea, aumentando a atividade osteoclástica, reduz a excreção renal e incrementa a absorção intestinal de Ca, ativando a vitamina  $D_3$  e, conseqüentemente a Calbindina. A calcitonina atua inversamente ao paratormônio em casos de hipercalcemia, que por sua vez estimula a sedimentação óssea de Ca, por meio da atividade osteoblástica, aumenta a eliminação de Ca pelos rins, e reduz a absorção intestinal por meio da desativação da vitamina  $D_3$  ativa (Leeson e Summers, 2008). Os estrógenos regulam os níveis sanguíneos de Ca, por meio da atividade osteoclástica, mediada pela ação do paratormônio. A elevação do estrogênio no sangue de frangas ocorre no início da postura e, é acompanhado pelo aumento do nível de sérico de Ca, preparando para grande demanda de Ca para a formação da casca do ovo (Bertechini, 2014).

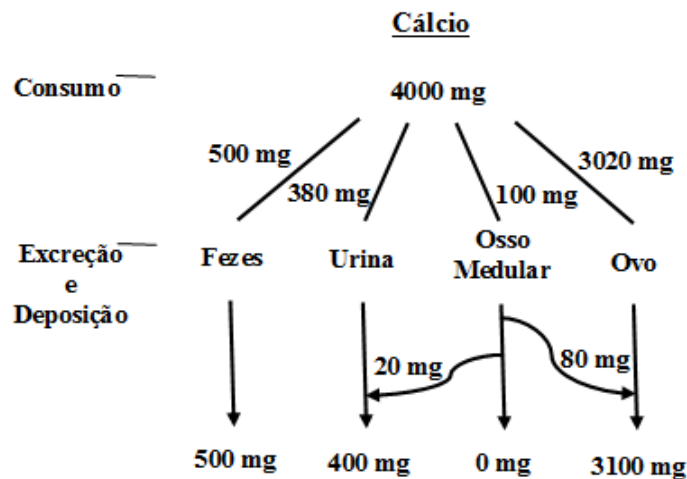


Figura 1. Esquema do balanço diário de Ca em galinhas poedeiras.  
Fonte: Adaptado de (LEESON e SUMMERS, 2008)

A absorção de Ca é influenciada por seu metabolismo, que por sua vez é regulado endocrinamente e dependente da idade e estágio fisiológico das aves, da fonte de Ca utilizada, nível de Ca e suplementação de vitamina D na dieta. Provavelmente, porque o transporte intestinal de Ca é dependente das proteínas ligadoras de Ca, dos transportadores e da bomba de Ca, que por sua vez são moduladas pela idade das aves, vitamina D<sub>3</sub> e quantidade de Ca da ração (Brown et al., 2005). O metabólito ativo da vitamina D<sub>3</sub>, o 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> regula e promove a absorção intestinal de Ca por meio de dois processos distintos, o primeiro por meio de ligação do metabólito com receptores específicos, localizados nos órgãos alvos e posterior biossíntese de proteínas específicas como, por exemplo, a calbindina que atua facilitando a difusão de Ca nas células. O segundo processo é por meio do mecanismo denominado transcaltaquia, no qual ocorre o imediato transporte de Ca pela célula intestinal (Nemere e Norman, 1990).

A excreção de Ca ocorre por dois processos, o primeiro refere-se ao Ca que não foi absorvido, e o segundo é por via urinária, onde ocorre o controle hormonal na excreção renal. Este controle da excreção é altamente correlacionado com a quantidade de Ca e de P no plasma, que por sua vez, reflete o estado fisiológico do animal em determinado momento. Assim, a excreção é influenciada de forma direta pela absorção e utilização desses minerais pelo animal. Em casos de baixos níveis de Ca, o paratormônio atua por meio dos receptores sensíveis ao Ca, reduzindo de forma direta a excreção de Ca via urina e, indiretamente (ação da vitamina D) via absorção intestinal e fezes. Já em casos de níveis altos de Ca, a calcitonina atua inversamente ao paratormônio nos processos de excreção (Leeson e Summers, 2001).

A deficiência de Ca em galinhas poedeiras pode resultar em redução no consumo de ração, aumento do metabolismo basal, atividade reduzida, retardo no crescimento, raquitismo, andar e postura anormais, ovos de casca fina, maior volume de urina, tetania, osteoporose e vida útil reduzida. Galinhas poedeiras em produção com deficiência de Ca, inicialmente, irão apresentar uma perda de integridade das cascas dos ovos, e em alguns casos, uma subsequente perda da estrutura óssea. Se o déficit de Ca for alto, normalmente a ovulação cessa e não ocorre nenhuma reabsorção óssea excessiva. Com deficiências marginais de Ca, a ovulação muitas vezes continua e, então a ave depende mais fortemente da reabsorção óssea. Como as reservas de Ca dos ossos medulares são limitadas, as galinhas que recebem dietas marginalmente deficientes em cálcio podem ter os ossos degradados, com prejuízo à locomoção. Em galinhas alimentadas com uma dieta deficiente em Ca, o retorno à produção de ovos e a casca do ovo normal, acontece entre 6 a 8 dias depois que as galinhas retornam a uma dieta adequada em Ca e, após três semanas, os ossos das pernas estão completamente recalcificados (Leeson e Summers, 2001).

## **2.2. Metabolismo do fósforo**

Depois do Ca, o P é o mineral mais abundante no organismo das aves. O principal componente dos ossos, mais de 80% do P do organismo está associado ao Ca na formação óssea (proporção de 1:2 com o Ca na hidroxiapatita). Uma quantidade significativa de P é encontrada na forma inorgânica ou ligada a compostos orgânicos. Está envolvido em quase todos os processos metabólicos: desempenha papel importante no metabolismo energético, dos carboidratos, aminoácidos, gordura, no metabolismo dos tecidos nervosos, na coordenação muscular, crescimento esquelético, transporte de ácidos graxos e outros lipídeos, além de ser uma parte importante dos ácidos nucléicos, ATP, DNA e RNA. Sua função durante a formação da casca do ovo é em parte a redução da acidose sanguínea e recomposição dos ossos medulares. No sangue, o P está, na forma orgânica e inorgânica, na concentração que varia de 35 a 45 mg/100mL (Leeson e Summers, 2001). Níveis de P celulares e extracelulares são mantidos dentro de uma faixa estreita, flutuações significativas em suas concentrações podem afetar negativamente muitos dos processos bioquímicos importantes (Adedokun e Adeola, 2013).

O metabolismo do P está associado ao do Ca, principalmente no controle dos níveis séricos, já que o controle da calcemia depende da absorção intestinal, reabsorção óssea e eliminação renal do Ca, juntamente com o P. Deste modo, o balanço de P nas poedeiras é, em

parte, regulado pelos mecanismos envolvidos no metabolismo do Ca (Figura 2). Quando há redução nos níveis de Ca no sangue, o paratormônio é secretado, que por sua vez estimula a reabsorção óssea aumentando a atividade osteoclástica e os níveis de Ca e P no sangue. Entretanto, diferentemente do que ocorre para o Ca, a absorção de P diminui e aumenta sua excreção renal, visando diminuir e adequar o excesso dos níveis de P no sangue. A calcitonina atua inversamente ao paratormônio em casos de hipercalcemia, estimulando a sedimentação óssea de Ca e P. A atividade osteoblástica aumenta a eliminação de Ca pelos rins, reduzindo a absorção intestinal com a desativação da vitamina D<sub>3</sub> ativa (Leeson e Summers, 2008). Os estrógenos também regulam os níveis sanguíneos de P, por meio da atividade osteoclástica, mediada pela ação do paratormônio. Assim, a elevação do estrogênio no sangue de frangas, no início da postura é acompanhada pelo aumento não só do nível de sérico de Ca, mas também do P. Assim, há preparação para grande demanda de Ca na formação da casca do ovo, neste caso, o excesso de P no sangue será eliminado com o aumento da excreção renal (Bertechini, 2014).

Ao contrário do Ca, os mecanismos que regulam o nível de P no plasma sanguíneo não são tão eficientes, fazendo com que o nível sérico oscile mais de acordo com o nível de P oferecido na dieta (Figura 2).

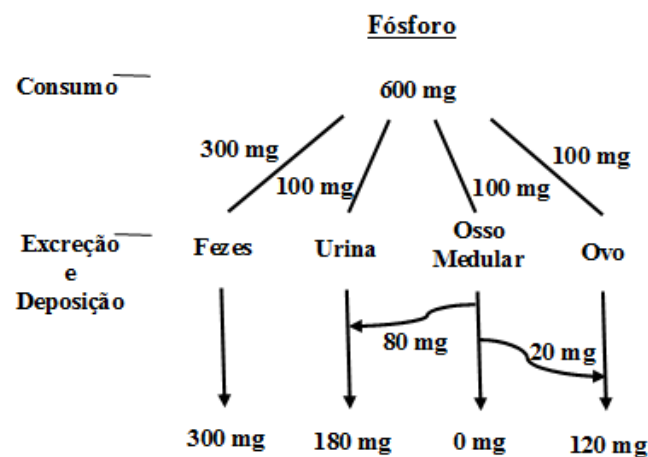


Figura 2. Esquema do balanço diário de P em galinhas poedeiras. Fonte: Adaptado de (LEESON e SUMMERS, 2008)

O P é absorvido no intestino delgado das aves na forma de ortofosfato (PO<sub>4</sub>) por difusão simples seguindo o gradiente de concentração ou por transporte ativo dependente da vitamina D e do sódio. No entanto, muito outros fatores podem afetar a absorção de P no intestino delgado, como pH, viscosidade intestinal, disponibilidade de P na fonte, relação

Ca:P, presença de minerais como o manganês, magnésio, ferro e alumínio nas dietas e a idade das aves (Pizzolante, 2000).

Os mecanismos pelos quais a vitamina D<sub>3</sub> atua na absorção de P ainda não estão bem entendidos. Entretanto, pesquisas têm revelado o envolvimento dessa vitamina, além do Ca e do paratormônio, na assimilação do P intestinal (Bertechini, 2012). O Ca dietético também desempenha importante função na absorção do P no intestino delgado das aves (Al-Masri, 1995), juntamente com o P dietético eles provocam efeitos relevantes na expressão da calbindina no duodeno (Li et al., 2012). Estes resultados sugerem que expressão para NAP-IIb, calbindina D28k e para o receptor da vitamina D possam estar envolvidos na regulação e absorção tanto do Ca, quanto do P (Nie et al., 2013). O P absorvido entra na corrente sanguínea e seu mecanismo de transporte é regulado pelos sistemas hormonais (Leeson e Summers, 2001).

A excreção de P ocorre por dois processos, o primeiro está relacionado ao P que não foi absorvido e o segundo por via urinária, onde há controle hormonal na excreção renal. Este controle da excreção é altamente correlacionado com a quantidade de Ca e P no plasma. Deste modo, a excreção é influenciada de forma direta pela absorção e utilização desses minerais pelo animal. Em situações de baixo nível de Ca e alto nível de P, o paratormônio exerce sua ação sobre os ossos, liberando íons fosfato na circulação, aumentando a excreção de P e reduzindo a de Ca. Por sua vez, com altos níveis de Ca e P, a calcitonina estimula a sedimentação óssea e excreção do excesso destes minerais (Leeson e Summers, 2001).

A deficiência de P ou um grande desequilíbrio na relação Ca:P da dieta, pode reduzir os níveis sanguíneos desses minerais, isso porque qualquer um destes elementos em excesso, reduz o aproveitamento do outro no intestino. Animais com deficiência severa de P podem apresentar redução do consumo de ração, fragilidade óssea e aumento da mortalidade. A deficiência menos severa causa raquitismo, crescimento retardado nas aves jovens, baixa fertilidade, osteomalácia e deformação na casca dos ovos nas aves adultas (Bertechini, 2012).

### **2.3. Formação e qualidade da casca de ovos em galinhas poedeiras**

Os primeiros passos para a mineralização da casca são iniciados ainda no istmo, onde uma matriz de agregados orgânicos é depositada sobre a membrana exterior. Sabe-se que diferentes tipos de proteínas desta matriz orgânica regulam a mineralização da casca, mas os mecanismos desta interação ainda são mal compreendidos. O ovo então entra no útero

(glândula da casca), quando parte desta matriz se torna os sítios de nucleação de cristal e, posteriormente, os botões mamilares, que atraem os sais de Ca, para iniciar a formação da camada mamilar. Quando completa, além das membranas interna, externa e matriz orgânica, a casca do ovo tem uma estruturação na parte inorgânica que é descrita de dentro para superfície externa, da seguinte forma: (i) camada mamilar, (ii) camada paliçada, que compreende a camada mais grossa da casca e (iii) camada de cristal vertical (Nys et al., 2004).

O fenômeno de calcificação da casca é o resultado da precipitação controlada de carbonato de Ca ( $\text{CaCO}_3$ ), sobre as fibras de membrana externa (Hincke et al., 2012; Mazzuco e Bertechini, 2014). Durante a mineralização, a casca é banhada pelo fluido uterino contendo cerca de 6 a 10 mM de Ca ionizado e 70 mM de íons bicarbonato. Assim, neste meio supersaturado o carbonato de Ca precipita-se espontaneamente na forma de calcita (Nys, 2001). A casca mineralizada consiste de aproximadamente 95% de carbonato de Ca, sob a forma de calcita, seu polimorfo mais estável. E ainda, dos componentes restantes com aproximadamente 3,5%, onde incluem uma parte orgânica, composta das membranas da casca, matriz orgânica da casca, núcleos mamilares e cutícula, assim como, magnésio, fósforo e uma variedade de oligoelementos (Nys et al., 2004).

A quantidade de Ca depositada na casca do ovo é próxima de 10% do estoque total de Ca no corpo da ave. Deste modo, o Ca é fundamental para manutenção e produção dos ovos (Elaroussi et al., 1994; Baião e Lúcio, 2005). Apesar do P não participar diretamente da formação da casca, é essencial para períodos de calcificação óssea ativa e de reabastecimento de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  nos ossos medulares. Durante a mobilização do Ca do osso medular há liberação concomitante de P. A maioria deste P será excretado na urina, desde que não haja necessidade metabólica imediata para este pico de P. Este mecanismo contribui para controlar a acidose durante a fase de maior calcificação da casca, por meio do carregamento de  $\text{H}^+$  durante sua excreção (Leeson e Summers, 2008). Assim, a exigência de P das poedeiras está associada à exigência de Ca, bem como à dinâmica da medula óssea. Além disso, o P é detectado nas camadas mais externas da casca do ovo (Dennis et al., 1996; Cusack et al., 2003). É possível que os íons de fosfato possam inibir a precipitação do carbonato de Ca, juntamente com as proteínas uterinas, tendo uma contribuição relativa na conclusão do processo de calcificação da casca. No entanto, sua participação no processo de formação da casca ainda precisa ser determinada, uma vez que essa contribuição é pouco conhecida (Lin e Singer, 2005).

A casca do ovo serve para proteger o conteúdo do ovo, sendo a primeira barreira contra a penetração bacteriana. Por isso, deve ser livre de defeitos e resistente, a fim de resistir



a todos os impactos que um ovo é submetido durante a cadeia de produção, otimizando a segurança do conteúdo para o consumo humano (Mabe et al., 2003). Para os produtores, cascas de ovos trincadas e quebradas são consideradas as principais fontes de perdas econômicas, devido à redução dos ovos vendáveis de primeira qualidade e o aumento de risco de contaminação bacteriana, criando problemas com a qualidade e segurança alimentar dos ovos (Kemps et al., 2006; Mertens et al., 2006). Com isso, a qualidade da casca dos ovos se tornou uma preocupação também para consumidores, uma vez que ovos contaminados e seus produtos estão fortemente associados à intoxicação alimentar causada por *Salmonella spp* (Howard et al., 2012).

Atualmente a baixa qualidade da casca dos ovos continua a ser um fator importante para a indústria. Estima-se que aproximadamente 10 a 15% dos ovos produzidos por poedeiras comerciais sejam perdidos pela má qualidade da casca (Leeson e Summers, 2001). Existem vários fatores que afetam a mineralização da casca do ovo, incluindo genótipo da galinha, fatores ambientais e nutricionais, estado de saúde, bem como a idade das aves (Swiatkiewicz et al., 2015a). A diminuição da qualidade da casca do ovo com o avanço da idade das galinhas é das principais preocupações atuais, uma vez que a incidência de ovos quebrados aumenta no final do período de postura (Nys, 2001; Wolc et al., 2012).

O declínio na qualidade da casca com o aumento da idade das galinhas pode ser atribuído a um distúrbio do metabolismo da vitamina D<sub>3</sub>, provavelmente, ligado à uma deficiência na biossíntese de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e uma hipertrofia renal (Elaroussi et al., 1994; Adams e Bell, 1998; Bar et al., 1999). Aves jovens possuem retenção de Ca de aproximadamente 60%, enquanto, nas mais velhas, somente 40% do Ca é absorvido (Keshavarz e Nakajima, 1993). Mais recentemente, a redução na resistência da casca associada à galinhas mais velhas foi relacionada à mudança na proporção relativa de proteínas da matriz da casca (Panheleux et al., 2000). Além disso, ao longo do ciclo de produção ocorre aumento do peso do ovo em até 20%, sem um aumento proporcional no peso da casca, reduzindo assim a porcentagem, espessura e resistência desta (Solomon, 2010; Bertechini, 2012).

As recomendações para contornar os problemas pela perda de qualidade da casca dos ovos em aves mais velhas envolvem um aumento gradual dos níveis de Ca e da granulometria da fonte ao longo do ciclo de postura, visando aumentar a quantidade de Ca retido e amenizar a perda de qualidade da casca. Manipulações dietéticas que diminuem o tamanho do ovo também podem melhorar a qualidade da casca em galinhas mais velhas (Keshavarz, 2003b). Embora existam muitos conhecimentos a respeito da calcificação da casca do ovo, ainda não é

possível impedir o declínio (dependente da idade) na qualidade da casca, sendo possível apenas minimizar esse efeito.

A frequência de ovos com defeitos já foi reduzida substancialmente como resultado da seleção genética das linhagens comerciais, adequações no programa de luz e melhora na nutrição (Wolc et al., 2012). No entanto, devido a composição química específica das cascas dos ovos e a dinâmica do processo de calcificação da casca, o fornecimento ideal de Ca e P para o organismo da galinha ainda é o fator nutricional crítico que afeta a qualidade da casca dos ovos (Swiatkiewicz et al., 2015a). Por este motivo, grande parte das atenções ainda se concentram na determinação da maneira mais eficiente de suplementar Ca e P para avicultura industrial.

#### **2.4. Fornecimento de cálcio e fósforo para galinhas poedeiras**

Ca e P são macrominerais essenciais para o adequado crescimento e produção das galinhas poedeiras. Pois, além de sua participação nas funções vitais, como componente principal das estruturas ósseas, equilíbrio ácido-básico e sistemas enzimáticos, são os mais importantes na formação e qualidade da casca dos ovos. Por este motivo, são os principais minerais estudados na avicultura de postura (Leeson e Summers, 2008).

Por serem nutrientes com alta exigência dietética para poedeiras e os ingredientes de origem vegetal das rações não atenderem as exigências dessas aves, fontes inorgânicas de cálcio e fósforo são usualmente adicionadas às dietas (Bertechini, 2012). O Ca tem sido fornecido às poedeiras predominantemente pelos calcários, em alguns países como no Brasil, pelas farinhas de origem animal, (principalmente farinha de carne e ossos) e em parte pelo fosfato bicálcico, podendo também ser fornecido através de outras fontes menos comuns, tais como, farinha de ostras e farinha de casca de ovos.

As poedeiras absorvem ativamente o Ca da dieta ao longo de todo trato gastrintestinal para a formação da casca do ovo. Quando essa absorção de Ca não sustenta sua taxa de utilização pela glândula da casca, os teores de cálcio no sangue diminuem estimulando a mobilização óssea, fato que ocorre principalmente durante a noite, enquanto o intestino está vazio. Como a formação final da casca acontece principalmente neste período, quando a ave não está ingerindo Ca, o uso de fontes com granulometrias maiores, permitem que a ave mobilize gradativamente o Ca que ainda se encontra na moela, beneficiando a qualidade da casca e dos ossos (Bertechini, 2012). Deste modo, o uso de fontes de Ca com granulometrias maiores têm sido prática rotineira na alimentação de poedeiras.

O P das rações de poedeiras é derivado de fontes inorgânicas, principalmente dos fosfatos. Em regiões onde é permitido o uso das farinhas de origem animal, estas são fontes de P relevantes, especialmente, a farinha de carne e ossos. Devido à importância fisiológica do P e por compor boa parte do custo da ração, esse mineral requer atenção especial na formulação das rações para as aves. Os fosfatos são considerados as principais fontes de P quando se refere ao mercado mundial, no entanto, essas fontes são finitas e não renováveis. Em países que utilizam as farinhas de origem animal nas rações dos animais, caso do Brasil, o fornecimento de P é menos limitante. Contudo, devido a problemas como a crise da dioxina na Bélgica (1999) e Alemanha (2000/2001) e diversos casos de Encefalopatia Espongiforme Bovina em diversos países europeus, Canadá, Estados Unidos e Japão, existe uma tendência do mercado internacional de impor regras cada vez mais rigorosas para a importação de produtos brasileiros, sendo uma delas a restrição da utilização de farinhas de origem animal nas dietas das aves e suínos. Muitos importadores da carne de frango brasileira, como a União Européia e o Oriente Médio, exigem que as aves não recebam alimentação com ingredientes de origem animal (Bellaver et al., 2005). Este cenário levou à necessidade de redução a inclusão de P na ração e excreção pelas aves. Assim, as exigências dietéticas mínimas desse mineral são definidas para cada fase de desenvolvimento das poedeiras, visando reduzir os custos e seu desperdício. (Bertechini, 2014).

## **2.5. Cálcio e fósforo em dietas de galinhas poedeiras em fase de produção**

Na produção de ovos, o Ca e o P estão diretamente relacionados com o desempenho das aves e qualidade dos ovos, influenciando dentre outras variáveis a taxa de postura, o peso dos ovos, a conversão alimentar, gravidade específica, espessura e resistência da casca (Vieira et al., 2012). O melhoramento genético nos últimos anos tem modificado as exigências nutricionais das aves de postura. Desta forma, as poedeiras em fase de produção estão mais sensíveis às variações dos níveis nutricionais da dieta, tendo em vista a maior demanda na eficiência produtiva. Este cenário aumenta a importância da pesquisa sobre os efeitos dos níveis dietéticos de Ca e P fornecidos às aves.

Os resultados de alguns estudos sugerem que quanto maior a concentração de Ca na dieta, melhor a espessura e qualidade da casca, embora o excesso de Ca possa trazer problemas com a palatabilidade da ração. Assim, ocorre redução significativa do consumo, além de queda na produção e no peso dos ovos (Roland et al., 1996). Além disso, altos níveis de Ca em rações de postura podem interferir na disponibilidade de outros minerais, como

fósforo, magnésio, manganês e zinco, afetando a homeostasia desses minerais, e aumentando a necessidade de inclusão dos mesmos. Neste contexto, algumas pesquisas verificaram que não existe a necessidade de se aumentar o nível de Ca dietético acima de 3,8% para se conseguir uma adequada qualidade da casca (Rodrigues, 1995; Bertechini, 2012). No entanto, deve-se ter cuidado, pois o consumo reduzido de Ca pode provocar redução no tamanho e na produção dos ovos, má qualidade da casca com altos índices de quebra, anormalidades esqueléticas e aumento da mortalidade (Rodrigues et al., 2005).

O benefício da ração com baixos níveis de P é a redução do P plasmático e, conseqüentemente, aumento da concentração do paratormônio, ativando o rim e aumentando a atividade do 1,25-dihidroxicolecalciferol. Esse induz uma série de efeitos positivos, como a absorção intestinal de Ca e sua reabsorção óssea, promovendo o aumento da concentração de Ca no útero para a formação da casca (Ligeiro, 2007). Neste sentido, uma série de trabalhos realizados indicam a necessidade de reduzir os níveis de fósforo disponível (Pd) da dieta no fim do ciclo de produção, para melhorar a qualidade externa e interna dos ovos (Bertechini, 2014). Por outro lado, é necessário considerar que dietas deficientes em P levam a alterações no metabolismo energético dos carboidratos, aminoácidos e gorduras, resultando em problema no crescimento do esqueleto e produção dos ovos, além de induzir a osteoporose em casos extremos (Scheideler e Al-Batshan, 1994).

Muitos pesquisadores têm reportado a essencialidade em conjunto do Ca e P em processos metabólicos. As associações entre Ca e P se evidenciam estritamente durante a absorção intestinal, controle de níveis séricos, formação óssea e da casca dos ovos (Costa et al., 2007; Pelicia, 2008; Murata et al., 2009). A relação entre os níveis de Ca e P podem interferir na absorção de Ca do intestino e na mobilização do Ca ósseo para a formação da casca do ovo, resultando em qualidade da casca reduzida (Boorman e Gunaratne, 2001). O alto consumo de Ca pode alterar a utilização de fósforo, devido à redução na absorção do P dietético (Anderson et al., 1995). Todavia, altos níveis de P também podem causar deficiência de Ca, por prejudicar a liberação do Ca ósseo e a adequada mineralização da casca, resultando em má qualidade dos ovos (Vargas Júnior et al., 2003; Vellasco et al., 2016).

Segundo Silva (2014), da mesma maneira que o excesso, a deficiência de Ca e P na dieta limita o valor nutritivo de ambos e a produtividade das aves. Portanto, é importante conhecer os valores não só das exigências em Ca e P, como também da relação Ca: P em dietas para aves, evitando efeitos negativos tanto na produção, quanto na qualidade dos ovos (Leeson e Summers, 2001). Deste modo, uma melhor compreensão da relação entre os níveis de Ca e P, e uma nova abordagem nas formulações das rações são primordiais para melhorar a

eficiência da suplementação desses minerais, que satisfaça intimamente suas necessidades, com redução na excreção para o meio ambiente (Adedokun e Adeola, 2013).

Durante a fase de produção, com o objetivo de otimizar o desempenho e a qualidade da casca, as recomendações nutricionais sugerem o aumento gradual dos níveis de Ca ao longo de todo ciclo de postura, geralmente acompanhado da redução concomitante na concentração de P da dieta. No entanto, a determinação dos níveis de Ca e P para poedeiras comerciais ainda tem sido um desafio para os nutricionistas, visto que as exigências destes minerais dentre as fases de criação não estão bem definidas (Velasco, 2010).

### **2.5.1. Níveis de cálcio**

Atualmente, as recomendações nutricionais de Ca dietético para galinhas poedeiras disponíveis são diversas. O nível de Ca recomendado pelo NRC (1994) para dietas de poedeiras brancas e marrons consumindo aproximadamente 100 e 110g de ração, respectivamente, é de 3,25%. De acordo com as recomendações de Leeson e Summers (2001), os níveis de Ca dietéticos para galinhas poedeiras em fase de produção devem estar entre 3,75 e 4,15%. Segundo Rostagno et al. (2017), os níveis de Ca na dieta para galinhas poedeiras de desempenho superior devem estar entre 4,45 e 4,56 %, no caso das brancas e 3,89 a 3,98% para as marrons, correspondendo ao consumo médio de 4,40 e 4,50 g/ave/dia, respectivamente.

Os níveis dietéticos de Ca recomendados pelas empresas de genética são, em geral, mais elevados. No caso das poedeiras brancas Hy-Line W36 em fase de produção, os níveis de Ca dietéticos recomendados estão entre 4,40 e 5,00%, correspondendo ao consumo de aproximadamente 4,15 a 4,65 g/ave/dia, respectivamente (Hy-Line W36, 2015). Para as poedeiras Hy-Line Brown em fase de produção, as recomendações de Ca dietético estão entre 3,91 e 4,40% correspondendo ao consumo de 4,20 a 4,80 g/ave/dia, respectivamente (Hy-Line Brown, 2014). As recomendações nutricionais para poedeiras Lohmann LSL preconizam o nível dietético de Ca entre 3,80 a 4,50% (Lohmann LSL, 2014). As recomendações dos níveis de Ca em dietas para poedeiras Dekalb White estão entre 3,90 e 4,60% e para poedeiras Dekalb Brown entre 3,80 e 4,10%, consumindo 105 e 112 g/ave/dia de ração, respectivamente (Dekalb White, 2009; Dekalb Brown, 2009). Normalmente, os níveis dietéticos de Ca mais altos, recomendados em alguns manuais de empresas de genética e tabelas nutricionais, podem ser interpretados como uma garantia nutricional frente às variações dos fatores que influenciam as exigências das aves.

Os resultados de alguns trabalhos demonstraram que níveis de Ca próximos aos recomendados pelas principais tabelas nutricionais (NRC, 1994; Rostagno et al., 2011) podem ser adequados para produção de ovos e a formação da casca com qualidade em poedeiras. Entretanto, o fornecimento de níveis de Ca superiores aos recomendados nas tabelas não melhoram a qualidade das cascas dos ovos (Rao et al., 2003), outros trabalhos sugerem que altos níveis de Ca podem até prejudicar a qualidade das cascas dos ovos (Jiang et al., 2013).

Narváez-Solarte et al. (2006) estimaram as exigências de Ca para poedeiras leves (Lohmann White) de 46 a 62 semanas de idade. Os autores verificaram que o melhor nível de Ca na ração varia em função da característica que se pretende avaliar, indicando o nível de 3,56% de Ca (4,0g/ave/dia). Murata et al. (2009) determinaram que o melhor nível de Ca foi de 4,05%, pois nesse nível observaram melhor desempenho e qualidade da casca dos ovos de poedeiras leves Hy-Line White com 57 a 65 semanas de idade. Pelicia et al. (2011), em um estudo com três níveis de Ca (3,0; 3,75 e 4,5%), concluíram em dietas para poedeiras ISA Brown de 23 a 35 semanas de idade, o nível de 3,75% de Ca foi suficiente para manter a produção de ovos e níveis de Ca no sangue adequados. Jiang et al. (2013) relataram que poedeiras semipesadas (Hy-Line Brown) de 19 a 27 semanas de idade, alimentadas com dietas com altas concentrações de Ca (4,4%), tiveram redução na qualidade da casca dos ovos (espessura da casca) em comparação com um grupo controle (3,7% Ca). Em trabalho mais recente, Maciel et al. (2015) sugeriram o nível de 4,19% para poedeiras Dekalb White, de 50 a 57 semanas de idade, para melhor qualidade de casca.

Muitos trabalhos indicaram níveis de Ca superiores aos níveis recomendados pelas tabelas nutricionais para uma melhor produção e qualidade da casca dos ovos, ficando mais próximos dos níveis recomendados nos manuais das linhagens edições mais recentes de algumas tabelas nutricionais (Dekalb White, 2009; Dekalb Brown, 2009; Hy-Line Brown, 2014; Lohmann LSL, 2014; Hy-Line W36, 2015; Rostagno et al., 2017). Roland et al., (1996) sugeriram níveis de Ca de 4,25 a 4,5% para poedeiras leves Hy-Line W36 de 20 a 32 semanas de idade. Castillo et al. (2004) determinaram para dietas de poedeiras Hy-Line W98, de 23 a 55 semanas de idade, o nível ótimo de Ca para produção máxima de ovos de 4,38%, para gravidade específica máxima de 4,64% e para o nível econômico ótimo de 4,35%. Celebi e Bolukbasi (2006) indicaram a utilização do nível de Ca de 4,74% para melhorar a qualidade dos ovos das poedeiras Lohmann LSL, de 70 a 78 semanas de idade. Mais recentemente, Vellasco et al. (2016) obtiveram como resultado mais adequado para poedeiras leves (Hy-Line W36) de 24 a 40 semanas de idade, o nível de 4,5% de Ca (3,71g/ave dia).

Muitos estudos têm relatado o efeito benéfico da variação do tamanho da partícula da fonte de Ca na dieta de poedeiras. O maior tamanho de partícula aumenta o tempo de retenção na moela e, assim, fornecendo Ca ao organismo da galinha de forma gradativa, contribuindo com a manutenção da concentração adequada de Ca no sangue durante a noite (Guinotte e Nys, 1991; Koreleski e Swiatkiewicz, 2004; Lichovnikova, 2007). Segundo Bertechini (2012), aumentar os níveis de Ca acima dos níveis recomendados, pode ser menos eficiente em melhorar a qualidade da casca do ovo do que a adequação da granulometria e da solubilidade do calcário para uma maior absorção e retenção do Ca.

Os níveis de Ca recomendados pelos trabalhos científicos nos últimos anos estão entre 32,0 e 47,4 g/kg para galinhas poedeiras em diferentes idades e condições experimentais. Essa diferença entre os níveis ótimos de Ca recomendados ocorre em função da variável avaliada e das características experimentais, como o manejo, condições ambientais, ingredientes da dieta, fase de produção, linhagem, entre outras.

### **2.5.2. Níveis de fósforo disponível**

O nível de Pd recomendado pelo NRC (1994) para poedeiras brancas e marrons para fase de produção, alimentadas com 100 e 110 g de dieta é de 0,25%. De acordo com Leeson e Summers (2001), a exigência de Pd na dieta está em torno de 0,25 a 0,30%. No entanto, segundo Rostagno et al. (2017), os níveis de Pd na dieta para galinhas poedeiras de desempenho superior devem estar entre 0,372 e 0,382% no caso das brancas e 0,318 a 0,325% para as marrons, correspondendo ao consumo médio de 368 mg/ave/dia.

Assim como para o Ca, os níveis de Pd recomendados pelas empresas de genética são geralmente mais elevados, sendo uma garantia nutricional frente às variações dos fatores que influenciam as exigências das aves (Snow et al., 2004). As recomendações mínimas dietéticas de Pd para poedeiras leves Hy-Line W36 estão entre 0,58 e 0,41%, correspondendo ao consumo de 485 a 380 mg/ave/dia, respectivamente (Hy-Line W36, 2015). Para galinhas poedeiras Hy-Line Brown as recomendações estão entre 0,45 e 0,33% de Pd, correspondendo a um consumo de 460 a 360 mg/ave/dia, respectivamente (Hy-Line Brown, 2014). As recomendações nutricionais para rações de poedeiras brancas Lohmann LSL, consumindo 100 g/ave/dia, devem conter entre 0,45 e 0,41% de Pd (Lohmann LSL, 2014). As recomendações dos níveis de Pd em dietas para poedeiras Dekalb White estão entre 0,44 a 0,38% e para poedeiras Dekalb Brown entre 0,48 a 0,42%, consumindo 105 e 112 g/ave/dia de ração, respectivamente (Dekalb White, 2009; Dekalb Brown, 2009).

Em pesquisa utilizando poedeiras Hy-Line W36 com idade de 31 a 63 semanas, Sakomura et al. (1995) recomendaram o nível de 0,32% de Pd. Entretanto, os autores relataram que o nível recomendado de Pd varia de acordo com o consumo de ração, idade e principalmente temperatura ambiente. Sohail et al. (2001) verificaram para poedeiras Hy-Line W36 entre 46 e 51 semanas de idade um aumento linear na produção e peso dos ovos quando alimentadas até o nível de 0,35% de Pd. Mais recentemente, Skrivan et al. (2010) avaliaram níveis de P para galinhas poedeiras ISA Brown em duas fases, 49 a 61 e 47 a 59 semanas de idade, e recomendaram o nível de 0,30% de Pd como adequado para o desempenho e qualidade dos ovos. Araújo et al. (2010) concluíram que dietas com 0,28% de Pd atendem as exigências de poedeiras Hy-Line Brown de 24 a 58 semanas de idade para desempenho e qualidade dos ovos. Deste modo, diversos estudos sustentam os benefícios de utilizar níveis de Pd próximos aos recomendados pelas tabelas nutricionais (0,35 – 0,25% Pd).

Os resultados de alguns estudos sugerem que uma redução dos níveis de Pd para 0,15-0,20% da dieta não resultam em efeito negativo nos parâmetros de qualidade dos ovos e desempenho das aves (Keshavarz, 2000; Keshavarz, 2003a). Em um trabalho com galinhas brancas Hy-Line no período de 21 a 38 semanas de idade, Gordon e Roland (1997) demonstraram que o nível de 0,20% de Pd (162 mg/ave/dia) foi suficiente para o bom desempenho das poedeiras na fase inicial de postura. Snow et al. (2004) avaliaram níveis de Pd para poedeiras Dekalb White, e verificaram que o nível de 0,15% de Pd pode ser fornecido para poedeiras com 40 a 56 semanas de idade sem comprometimento dos índices produtivos. No estudo realizado por Machado (2010), os níveis entre 0,25 a 0,15% de Pd foram suficientes para garantir o bom desempenho para poedeiras Dekalb White no período de 18 a 50 semanas de idade, sem comprometer o desempenho, quantidade e qualidade dos componentes dos ovos. Contudo, a utilização de níveis dietéticos baixos em Pd podem afetar negativamente a produtividade das aves (Faria et al., 2000; Usayran et al., 2001). Considerando que a deficiência de P provoca alterações no metabolismo, resultando em problemas ósseos e na produção dos ovos, além de induzir a osteoporose em casos extremos (Scheideler e Al-Batshan, 1994). Neste sentido, Summers (1995) ao estudar os níveis de Pd 0,2 e 0,4% observou redução na produção de ovos de poedeiras leves após 32 semanas de idade para dietas com 0,2% de Pd, recomendando assim, a inclusão de 0,45% de Pd. Resultados semelhantes foram encontrados por Snow et al. (2005), ao comparar o nível de 0,45% com níveis inferiores a 0,15% de Pd para poedeiras Hy-Line, com 20 a 50 e 95 a 112 semanas de idade. Os autores verificaram melhor produção, maior peso e massa de ovo, e melhor eficiência alimentar quando as aves foram alimentadas com o nível de 0,45% de Pd.



Em síntese, as recomendações de níveis de Pd encontradas na literatura científica para poedeiras no período de postura, estão entre 0,15 e 0,45%, variando entre os estudos de acordo com as variáveis analisadas, níveis de cálcio da dieta, idade da ave, fonte de fósforo, temperatura ambiente e suplementação de aditivos na dieta (Sohail e Roland, 2002; Snow et al., 2004). O nível muito alto de Pd, acima de 0,40-0,45%, pode interferir na absorção intestinal de Ca, resultando em redução na qualidade da casca dos ovos (Hossain e Bertechini, 1998; Usayran et al., 2001; Waldroup et al., 2005). Níveis dietéticos muito baixos, inferiores a 0,15%, podem afetar negativamente o consumo e, prejudicar os parâmetros produtivos, como a produção de ovos e, em alguns casos, a qualidade interna e externa dos ovos. Deste modo, os resultados dos estudos que indicam níveis intermediários de Pd, entre 0,25 e 0,35% parecem estar mais apropriados para uma melhor produção e qualidade da casca.

## **2.6. Meta-análise: finalidades, vantagens e desvantagens**

A meta-análise é utilizada com as finalidades de sumarizar resultados contraditórios, aumentar a precisão analítica integrando uma maior quantidade de informação e comparações, bem como, evidenciar o efeito de um tratamento que avaliado em um único experimento não permitiria estabelecer diferenças significativas. A meta-análise também objetiva melhorar a representatividade dos resultados para a população reagrupando tratamentos com diferentes fatores de variação e condições experimentais. Além disso, os resultados das meta-análises possibilitam uma visão diferente das anteriores e o reconhecimento de novas hipóteses (Lovatto et al., 2007).

Um dos principais benefícios da meta-análise é a superação das limitações das abordagens convencionais. Primeiramente, a incapacidade de se conduzir pesquisas com grandes amostras que representem uma população ampla (Çoğaltay e Karadağ, 2015). Além disso, um único experimento mede os efeitos de um ou poucos fatores, mantendo todos os outros mais uniformes possíveis, sendo assim as condições sob as quais as observações são feitas são muito específicas para o estudo em questão, e representando as condições nas quais foram realizadas. De tal modo, os resultados de um único experimento são ideais para demonstrar causa e efeito, testar hipóteses específicas sobre mecanismos e modos de ação. Entretanto, não podem ser conclusivos para um processo de inferência e generalização global (Sauvant et al., 2005).

A meta-análise quando comparada a outros métodos de compilação dos conhecimentos científicos, como a revisão narrativa e revisão sistemática, tem a grande

vantagem de ser um método analítico menos influenciado pela opinião pessoal do pesquisador, fornecendo conclusões imparciais. Assim, esse procedimento quando bem concebido e realizado com boas práticas estatísticas, é um recurso poderoso à disposição dos pesquisadores (Leandro, 2005). Além disso, outra vantagem da meta-análise é a relação custo/benefício em relação aos experimentos primários, uma vez que esta abordagem utiliza dados disponíveis na literatura, melhorando assim a aplicação dos escassos recursos financeiros destinados às pesquisas (Luiz, 2002).

Entre as dificuldades das meta-análise estão as características dos bancos de dados, que em geral possuem alta frequência de informações referentes aos estudos ausentes, forçando a adoção de modelos com um pequeno número de variáveis independentes. Além disso, os dados meta-analíticos são geralmente desequilibrados e os efeitos fatoriais estão longe de serem ortogonais, o que resulta em problemas na estimativa estatística, tais como pontos de alavancagem, perto da colinearidade e até mesmo desconexão completa do fator, proibindo assim o teste dos efeitos, que são completamente confundidos com outros (St-Pierre, 2007).

Outro problema em algumas meta-análises é o viés de publicação, que se refere a uma tendência dos resultados publicados estarem sistematicamente diferentes da realidade. Este fenômeno compreende a dificuldade ao acesso a todos os artigos do assunto em pauta, principalmente, aqueles que não tiveram efeitos significativos (Rosenthal, 1984). Porém, quanto mais abrangente for a revisão de literatura sobre o tema em questão, menor será o viés de publicação. Assim, tal procedimento deverá incluir o máximo de estudos, considerando além dos artigos publicados em periódicos, os presentes em anais de congresso, resultados pessoais, dissertações e teses. Contudo, o viés de publicação é menos comum em estudos de produção animal, pois as pesquisas buscam a quantificação do efeito, e não unicamente provar sua existência (Lovatto et al., 2007).

A diferença entre as estimativas dos estudos também é considerada um “problema” nas meta-análises. Essa diferença entre os resultados dos estudos é chamada de heterogeneidade e está relacionada a muitos fatores, tais como, quantidade de aves, idade, sexo e genótipo dos animais, época e local de realização dos experimentos, número de repetições, metodologia utilizada na determinação da variável resposta, dentre outros. Assim, o efeito de estudo representa o efeito combinado de vários fatores que diferem entre os experimentos. Neste contexto, não considerar o efeito de estudo e as diferenças entre eles pode ter como consequência uma distorção considerável nos parâmetros estimados (Garcia Júnior, 2010). Deste modo, uma das questões importantes no processo de meta-análise é a

verificação da heterogeneidade entre os estudos. Nos casos onde as estimativas dos estudos são consideradas diferentes, torna-se conveniente a consideração do efeito do estudo nos modelos, como aleatório. Além disso, é recomendável investigar as causas da heterogeneidade por meio de análises de sensibilidade. Essas consistem em avaliar o quanto sensível são os resultados da meta-análise aos estudos e suas características. Entre os procedimentos para as análises de sensibilidade estão o diagnóstico de influência, exclusão de outliers, modelagem de covariáveis candidatas, análise de subgrupo de estudos, durante esses procedimentos, a avaliação do ajuste dos modelos e parâmetros estimados, que permitem verificar se a heterogeneidade está sendo explicada (Rodrigues e Ziegelmann, 2010).

A variabilidade dos resultados experimentais não deve ser vista como um problema, já que a abordagem meta-analítica possibilita uma estimativa imparcial do efeito de tratamento, com aumento da precisão, desde que se leve em consideração completamente a heterogeneidade dos estudos, em particular as possíveis fontes de variação e ajuste essas diferenças através de ferramentas apropriadas (Li e Begg, 1994; Anello e Fleiss, 1995; Li, 1995). Neste contexto, o modelo misto, que incorporam variáveis de efeitos fixos e aleatórios tem bastante importância (St-Pierre, 2001). Neste procedimento é importante considerar todos os efeitos possíveis entre os fatores que interferem diretamente na variabilidade dos resultados (Garcia Júnior, 2010).

## **2.7. Procedimentos das Meta-análises**

Os métodos meta-analíticos e suas premissas básicas para realização deste tipo de estudo na área da ciência animal estão disponíveis nos artigos publicados por Sauvant et al. (2005), St-Pierre (2007) e Lovatto et al. (2007). Estes autores relacionaram alguns procedimentos que são essenciais para eficiência do processo iterativo da meta-análise (Figura 3).

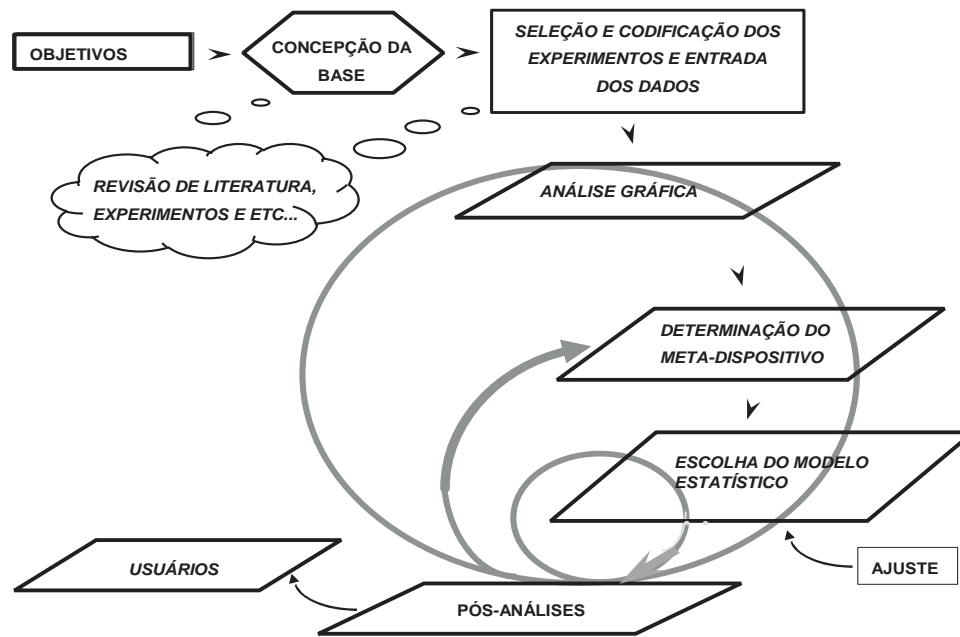


Figura 3. Representação esquemática do processo meta-analítico. Fonte: Adaptado de Lovatto et al. (2007) e Sauvant et al. (2008)

### 2.7.1. Procedimentos que precedem as análises dos dados

O tema abordado em uma meta-análise pode ser definido a partir de variáveis comumente pesquisadas (dependentes ou independentes). Após a escolha do tema, define-se um conjunto claro de objetivos do estudo, esse passo é fundamental e orienta a maioria das decisões posteriores, tais como a estruturação do banco de dados, filtragem de dados, ponderação das observações e a escolha do modelo estatístico (St-Pierre, 2007; Sauvant et al., 2008).

O próximo passo é a seleção dos estudos na literatura, que deve ser aleatória. A definição dos critérios de inclusão ou exclusão dos estudos deve ser desenvolvida à medida que se interage com a leitura, priorizando a qualidade metodológica e os periódicos mais relevantes. Em determinados casos, pode ser necessário limitar a pesquisa bibliográfica no espaço (amplitude geográfica) e tempo (período de inclusão dos artigos). A construção da base de dados depende da organização lógica das informações extraídas no material bibliográfico, devendo ser consideradas todas definições operacionais, como qualidade dos artigos, autores, características experimentais, entre outras (Lovatto et al., 2007). A estrutura e a codificação do banco de dados devem incluir todas informações que identifiquem os fatores

que compõem as experiências selecionadas. Essa codificação é essencial para evitar a agregação imprópria de resultados (St-Pierre, 2007; Sauvant et al., 2008).

A qualidade dos resultados da meta-análise depende da eficaz filtragem dos dados. Nesta etapa, primeiramente deve-se garantir que os estudos em questão são coerentes com os objetivos meta-analíticos, ou seja, algumas características devem ser medidas e relatadas em todos os estudos. Também é necessária uma revisão crítica e minuciosa de cada publicação, focando na detecção de erros nos resultados quantitativos. Somente após as publicações terem passado por este filtro de qualidade, seus resultados devem ser inseridos no banco de dados (St-Pierre, 2007; Sauvant et al., 2008).

### **2.7.2. Procedimentos e metodologias para análises dos dados**

As análises gráficas preliminares dos dados são fundamentais antes do início das análises estatísticas. Essa abordagem permite a avaliação inicial e geral quanto à coerência e heterogeneidade dos dados, assim como a identificação das observações e estudos que apresentam alguma condição particular inusitada. No entanto, esta fase de visualização não deve ser realizada como provas conclusivas, considerando que o desequilíbrio característico inerente aos dados meta-analíticos pode levar a falsas relações visuais (St-Pierre, 2007). As análises gráficas dos dados auxiliam no estabelecimento de hipóteses e à seleção de modelos estatísticos. Nessa etapa é importante conhecer a estrutura das variáveis explicativas, sendo possível identificar áreas de foco das pesquisas anteriores. A estrutura geral das relações também pode ser identificada, como relações lineares, não lineares e a presença de interações (Sauvant et al., 2008).

Nos casos onde existem duas ou mais variáveis explicativas a serem incluídas no mesmo modelo, é recomendado examinar graficamente e estatisticamente as relações entre essas variáveis dentro e entre os estudos. A presença de quaisquer tendências lineares indica correlações entre as variáveis explicativas. Altas correlações positivas ou negativas das variáveis explicativas são denominadas colinearidade e têm efeitos indesejáveis, um deles é a implicação de que o efeito de uma variável não pode ser identificado de forma única, já que pode ser confundido com o efeito de outra variável explicativa. Assim, as inferências baseadas neste modelo podem ser errôneas ou pouco confiáveis ( Lovatto et al., 2007; Sauvant et al., 2008).

Para realizar as análises dos dados em uma meta-análise é necessário considerar os procedimentos e metodologias estatísticas disponíveis. As análises são divididas em

diferentes abordagens de conduta, que são condicionadas às informações obtidas nos estudos originais (variáveis envolvidas) e aos objetivos da meta-análise (Ziegelmann, 2014). Na ciência animal, a maior parte das meta-análises são realizadas para estimar e avaliar a magnitude dos efeitos dos tratamentos (por exemplo o impacto de sistemas de produção, dietas ou níveis nutricionais). Neste contexto, de posse de uma série de estimativas estatísticas (efeitos observados), os principais procedimentos para análise dos dados consistem basicamente em modelar a variação, adotar um modelo e, se apropriado estimar os efeitos combinados da população de estudos para as variáveis de interesse (Hedges, 1992). Os procedimentos utilizados na meta-análise são extensões de estimadores usadas em estudos primários e são abordados para tipos similares de hipóteses. Deste modo, é possível realizar procedimentos análogos à análise de variância e regressão para avaliar a relação entre as variáveis respostas e os níveis das variáveis explicativas. No entanto, essas metodologias estatísticas para combinar os efeitos dos tratamentos podem ser aplicadas quando os estudos a serem combinados têm delineamentos e estruturas de resultados similares (Borenstein et al., 2009).

O próximo passo, é a definição do modelo estatístico para a análise. As meta-análises geralmente consideram os seguintes tipos de modelos estatísticos, o modelo de efeito fixo, modelo de efeitos aleatórios e o modelo misto (Lovatto et al., 2007). A escolha do tipo de modelo meta-analítico depende da definição dos fatores atuantes e dos efeitos presente nos modelos. As variáveis explicativas independentes de interesse em meta-análises relacionadas à Zootecnia (diferentes sistemas de produção, dietas, níveis nutricionais, suplementos alimentares e etc.) podem ser alocados como efeitos fixos ou aleatórios sobre a variável dependente de interesse, mas de modo geral, são considerados como fatores de efeitos fixos.

O modelo fixo assume que todos os fatores que podem influenciar a resposta medida são fixos, com exceção do erro aleatório ( $\epsilon_{ij}$ ). Neste modelo o efeito de estudo também é considerado fixo. Consequentemente, assume que existe um efeito comum correspondente a todos os estudos, e que todos fatores que podem influenciar o tamanho do efeito são os mesmos, visto que todos os estudos apresentam características similares. Neste caso, o intervalo de inferência para a meta-análise é limitado, permitindo generalizações apenas para um universo de estudos com características similares (St-Pierre, 2007; Sauvant et al., 2008).

Em muitas meta-análises não é possível assumir que a magnitude dos efeitos são os mesmos em todos os estudos. Nos casos onde os fatores que diferem entre os estudos não tenham sido totalmente avaliados ou quando são desconhecidos, uma maneira de abordar a variação no efeito dos tratamentos entre os estudos é realizar a meta-análise, considerando o

efeito do estudo como aleatório. O modelo com efeito aleatório considera que o efeito do tratamento pode não ser o mesmo em todos os estudos, incorporando no modelo um parâmetro de variabilidade entre os estudos ( $\tau_i$ ), e isto é levado em consideração, como causa de variação adicional (Egger e Smith, 1998). Assim, nos modelos aleatórios para prever quanto o efeito observado em qualquer estudo é susceptível de variar considera-se tanto a variância de erro aleatório ( $\hat{\sigma}_\varepsilon^2$ ) quanto a variância aleatória do efeito de estudo ( $\hat{\sigma}_\tau^2$ ). Por ser tratar de modelo mais flexível, nos modelos aleatórios a precisão dos resultados tende a ser menor. Portanto, o erro padrão e os intervalos de confiança para o efeito combinado são mais amplos do que o modelo de efeito fixo, mas o intervalo de inferência do resultado é maior, sendo possível fazer generalizações aos estudos diversos (Wang e Buschman, 1999; Borenstein et al., 2009). Deste modo, quando os estudos são obtidos a partir da literatura publicada, o modelo de efeitos aleatórios é geralmente mais plausível, considerando que ignorar o efeito aleatório dos estudos sob o modelo fixo pode ter como consequência estimativas dos parâmetros severamente tendenciosas, já que as observações dos estudos não são balanceadas, resultando em aumento do erro tipo II. Além disso, a inferência é realizada para estudos futuros desconhecidos (St-Pierre, 2001).

No contexto da meta-análise, os modelos mistos que incluem efeito fixos para variáveis explicativas independentes e aleatórios para estudos têm fundamental importância e têm sido preferencialmente utilizados. St-Pierre (2001) comparou a aplicação do modelo misto com variáveis independentes quantitativas em relação ao modelo fixo. Os resultados evidenciaram que embora a utilização do modelo fixo tenha mostrado resultados plausíveis, os parâmetros para eliminação de relações quantitativas entre os dados não foram tão confiáveis como nas metodologias de modelos mistos. Assim, o autor recomendou a utilização de modelo misto com ajustes dos resultados do tipo análise de variância-covariância em meta-análises. Van Houwelingen et al. (2002) relataram que a modelagem mista fornece um quadro muito útil e conveniente para as meta-análises, pois este procedimento permite modelar a heterogeneidade entre os estudos, ajustando efeitos aleatórios ao nível do estudo. Deste modo, os modelos mistos permitem a estimação dos efeitos combinados de variáveis de interesse com menor viés, maior representatividade e aplicabilidade.

Existem dois tipos de situações para os modelos mistos, dependendo se a variável resposta é dependente de fatores explicativos qualitativos ou quantitativos. Uma terceira situação é o modelo com variáveis de predição qualitativas e quantitativas (St-Pierre, 2007; Sauvant et al., 2008).

Nas meta-análises com variáveis independentes quantitativas podem ser empregadas técnica semelhante à regressão em estudos primários, denominada meta-regressão, lembrando que a seleção de um método deve seguir a lógica de como os estudos foram selecionados. Na meta-regressão é necessária uma proporção apropriadamente grande de estudos para as covariáveis, para que a análise seja confiável. Portanto, o uso de meta-regressão, especialmente com múltiplas covariáveis, não é uma opção recomendada quando o número de estudos é pequeno. Em meta-análises com variáveis explicativas contínuas um modelo linear misto é utilizado da seguinte forma:

$$Y_{ij} = B_0 + \tau_i + B_1 X_{ij} + b_i X_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad [1]$$

onde:  $Y_{ij}$  = resultado esperado da variável dependente  $Y$ , observada no nível  $j$  da variável quantitativa  $X$  do estudo  $i$ ;  $B_0$  = intercepto geral em todos os estudos (efeito fixo equivalente a  $\mu$ );  $\tau_i$  = efeito aleatório do estudo  $i$ , assumindo  $\sim$  Normal  $(0, s_\tau^2)$ ;  $B_1$  = coeficiente de regressão geral de  $Y$  em  $X$  em todos os estudos (um efeito fixo);  $X_{ij}$  = nível  $j$  da variável explicativa quantitativa  $X$  no estudo  $i$ ;  $b_i$  = efeito aleatório do estudo  $i$  sobre o coeficiente de regressão de  $Y$  em  $X$  no estudo  $i$ , assumindo  $\sim$  Normal  $(0, s_b^2)$  e  $\varepsilon_{ij}$  = erro aleatório, assumindo  $\sim$  Normal  $(0, s_\varepsilon^2)$ . Sendo  $B_0 + B_1 X_{ij}$  a parte de efeito fixo do modelo e  $\tau_i + b_i X_{ij} + \varepsilon_{ij}$  a parte de efeito aleatório do modelo (St-Pierre, 2001).

É importante também abordar as diferenças entre o processo de meta-regressão em relação a análise de regressão. Entre elas estão, a necessidade de considerar a ponderação dos estudos, de selecionar o modelo adequado (efeitos fixos versus aleatórios) e modificar o cálculo do coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Neste contexto, a meta-regressão utilizando modelos de efeitos aleatórios é mais apropriada, sendo mais plausível considerar que o impacto das covariáveis controla um pouco, mas não toda variação entre efeitos. Na meta-análise é utilizado um índice de  $R^2$  análogo, para quantificar a proporção da variância entre os estudos explicada pelas covariáveis, definido como a razão entre a variância explicada e a variância total entre os estudos (Borenstein et al., 2009). A abordagem meta-analítica pode ser utilizada para determinação das exigências nutricionais. Essa abordagem tem grande destaque na nutrição animal por ser altamente adequada, se concentrando na estimativa de um nível para uma população a partir de estudos múltiplos, ao mesmo tempo em que considera a heterogeneidade entre os estudos. Para tal, é recomendado que o modelo estatístico utilizado se baseie em um modelo misto (Van Houwelingen et al., 2002).



Para utilizar a abordagem meta-analítica para estabelecer as exigências nutricionais, é importante identificar a função dose-resposta adequada, assim, várias funções dose-resposta podem ser investigadas (Kebreab et al., 2007). O modelo com variáveis explicativas quantitativas [1], assume explicitamente uma relação linear entre a variável dependente Y e explicativa X, mas é possível a identificação de um grau adequado para uma função polinomial. Para isso em um segundo passo o modelo deve ser aumentado com o quadrado (e possivelmente termos de ordem mais elevada) da variável explicativa X (St-Pierre, 2007; Sauvant et al., 2008). De acordo com Strathe et al. (2011), além dos modelos lineares e quadráticos, as funções mais utilizadas para a estimativa das exigências nutricionais em animais estão a linear platô (LPL), quadrático platô (QPL), e monomolecular (MM). Após a aplicação de diferentes modelos estatísticos para ajuste dos dados, o modelo com melhor desempenho a ser utilizado nas análises subsequentes pode ser definido com base nos seguintes indicadores de qualidade de ajuste:  $-2 \log$ -verossimilhança ( $-2\text{Logl}$ ), critérios de informações bayesianas (BIC) e critério de informação Akaike (AIC), estes critérios fornecem estatísticas para auxiliar esta decisão.

Em meta-análise as variações das condições aplicadas entre estudos são capazes de modificar a resposta do tratamento. O efeito de estudo e a sua interação com efeitos fixos correspondem a uma agregação de muitos fatores interferentes não incluídos no modelo (isto é, condições ambientais, nutricionais, experimentais, idade, estado fisiológico e número de animais, entre outros) mas que diferem entre os estudos. Deste modo, quando for possível identificar estes fatores a partir dos dados, é conveniente incluir estes efeitos como fixos no modelo. Em tais casos, o modelo resultante deve ter uma ampla aplicabilidade de previsão (St-Pierre, 2007).

A natureza dos fatores interferentes pode ser representada por variáveis qualitativas ou quantitativas. Essas variáveis e, possivelmente suas interações com outros fatores podem ser adicionadas ao modelo, se existir tamanho amostral suficiente. Nos casos em que o fator de interferência é uma variável qualitativa, por exemplo, quando os efeitos dos tratamentos são dependentes de fatores fisiológicos dos animais (fase de crescimento e terminação) ou fatores relacionados as rações (tipo processamento), por meio de avaliações de subclasses os efeitos destes fatores podem ser controlados e a natureza das interações esclarecidas. Por sua vez, quando o fator de interferência é uma variável quantitativa, ela pode ser controlada por análise de covariável. Por exemplo, o reagrupamento de estudos realizados com animais que tenham diferenças importantes entre eles de peso no início dos experimentos ou diferença nos níveis de nutrientes da ração, indicando uso destas covariáveis como critério de controle da variação

entre estudos. Quando grande parte do efeito do estudo é, de fato, devido ao efeito de uma covariável identificada entre os estudos, a análise das covariáveis remove grande parte do efeito do estudo e os efeitos das variáveis de interesse seriam estimados sem vieses, com uma ampla gama de aplicabilidade (Lovatto et al., 2007; Sauvant et al., 2008). Assim, ao assumir que a variabilidade entre os estudos é aleatória nos modelos não for suficiente e as variáveis interferentes dos estudos foram contabilizadas, a heterogeneidade entre os estudos deverá ser explicada através da análise das covariáveis. Estes tipos de análises exigem um número grande de estudos (Pereira e Galvão, 2014).

As primeiras perguntas a serem abordadas no processo de modelagem de covariáveis são a determinação de quais covariáveis são potencialmente úteis para explicar a variação de efeitos aleatórios e quais os efeitos aleatórios que podem ter sua variabilidade explicada por covariáveis. Isso pode ser realizado plotando as estimativas dos parâmetros de efeitos aleatórios do estudo e as covariáveis candidatas, buscando tendências e padrões (Pinheiro e Bates, 1998). Depois de escolhidas as covariáveis candidatas, se o número de combinações de covariáveis ou efeitos aleatórios são grandes, Pinheiro e Bates (1998) sugerem usar uma abordagem passo a passo em que as covariáveis são incluídas uma de cada vez, identificando a importância potencial das covariáveis. A decisão de incluir uma covariável no modelo pode ser baseada nos indicadores de qualidade de ajuste dos modelos:  $-2\text{Log}l$ , BIC, AIC e o teste de razão de verossimilhança (LRT) (Strathe et al., 2011).

Outro tipo de abordagem meta-analítica utilizada é a análise em subgrupo de estudos, que são adequadas para avaliar se fatores relacionados aos estudos explicam parte da heterogeneidade das estimativas. Estes fatores interferentes são utilizados como critérios para gerar dois ou mais subgrupos de estudos, de tal forma que os estudos no mesmo grupo sejam mais semelhantes entre si do que com os de outros grupos. A análise de subgrupo permite a comparação do efeito médio dos diferentes subgrupos e suas interações com as variáveis de interesse. Assim, é possível fazer inferências quanto ao efeito das variáveis dos subgrupos, tal como, se o efeito da variável de interesse é mais ou menos eficaz de acordo com as variáveis dos subgrupos (Lê et al., 2008). A abordagem de subgrupo também pode contribuir para definição de um modelo global com todos os estudos, a partir de uma análise preliminar dentro de determinados subgrupos de estudos. Este tipo de metodologia foi aplicada na meta-análise conduzida por Létourneau-Montminy et al. (2010), cujo objetivo foi estudar o efeito do cálcio e da fitase sobre a resposta de desempenho ao fósforo não-fítico (NPP) da dieta para frangos de corte. Para isso, um dos passos envolveu a divisão da base de dados em subgrupos

de estudos, que permitiu estudar a influência de cálcio e fitase separadamente, contribuindo para definição dos efeitos fixos do modelo final.

### **2.7.3. Procedimentos pós-análises dos dados**

Após o ajuste de um modelo estatístico de ajuste de dados, é conveniente realizar alguns procedimentos pós-analíticos. Essas análises permitem conhecer melhor certos limites da análise realizada, avaliar os pressupostos subjacentes ao modelo, conhecer se são necessárias análises complementares e determinar se modelos adicionais devem ser investigados (Lovatto et al., 2007).

Primeiramente, é importante estudar a distribuição de resíduos ( $\epsilon_{ij}$ ) e a homocedasticidade dos erros. Nos modelos citados, assume que os resíduos (erros) são independentes e aderentes à distribuição da probabilidade da população normal, com uma média de zero e variância  $\sigma^2$ . O pressuposto de normalidade pode ser avaliado utilizando diferentes testes, como por exemplo o teste de aderência de Qui-quadrado, teste de Shapiro Wilk, assim como as análises gráficas (isto é, gráfico de resíduos, quantil-quantil, entre outros). Pode ser necessário examinar as possíveis relações que poderiam aparecer entre os resíduos e as variáveis explicativas, entre ou dentro dos estudos (Lovatto et al., 2007). Exemplos práticos de análise residual podem ser observados nos trabalhos de Martin e Sauvant (2002) e Offner et al. (2003).

A presença do viés de publicação pode ser identificada por meio de gráfico de funil e de testes estatísticos (Higgins et al., 2011). O gráfico de funil avalia a dispersão dos efeitos estimados contra a precisão (EP ou 1/EP) ou tamanho da amostra. Tal princípio se baseia no fato de que estimativas mais precisas estão relacionadas às amostras maiores, geralmente em menor número, que serão plotadas na parte superior do gráfico e estreita do funil, já os resultados de experimentos pequenos serão plotados na parte inferior do gráfico e mais larga do funil. Assim, na ausência de influência dos estudos selecionados, a dispersão dos pontos será semelhante à de um funil invertido e simétrico. Se existir uma forma assimétrica no gráfico, poderá haver influência dos estudos selecionados (Egger e Smith, 1998).

A validade e robustez das conclusões da meta-análise podem ser afetadas pela presença de casos de estudos ou observações influentes. Um estudo pode não ser muito importante se exercer pouca influência sobre os resultados, mas se a exclusão de um estudo da análise leva a mudanças consideráveis no modelo ajustado, então o estudo pode ser considerado influente. (Sutton et al., 2000; Viechtbauer e Cheung, 2010). O método de

diagnóstico de influência investiga em relação ao modelo final, a influência dos ensaios individualmente sobre os resultados e verifica a robustez dos parâmetros estimados. Neste método, um estudo de cada vez é suprimido do conjunto de dados, o modelo final é remodelado e as estimativas dos parâmetros e estatísticas de ajuste são obtidas novamente e salvas. Assim, os estudos influentes ou periféricos podem ser detectados comparando estatisticamente e graficamente a estatística (por exemplo a estimativa de heterogeneidade entre estudos, os parâmetros de intercepto e os coeficientes de regressão) versus os estudos excluídos individualmente. Este procedimento demonstra que os resultados estimados são insensíveis aos estudos utilizados quando as estimativas sequenciais após a exclusão de cada um dos ensaios estão próximas das estimativas para o conjunto completo dos dados. Neste contexto, diagnósticos de influência são altamente recomendados para identificar os estudos que têm um impacto sobre as conclusões alcançadas em meta-análises (Strathe et al., 2011).

Para avaliar a adequação e qualidade de ajustes dos modelos podem ser utilizados diversos procedimentos. Nas meta-análises, como em estatísticas convencionais, o nível de significância dos parâmetros estimados, desvio padrão residual (DP), erro padrão (EP), raiz do erro quadrático médio (RMSE) e  $R^2$  são comumente utilizados para avaliar o ajuste dos modelos. A adequação dos modelos também pode ser avaliada traçando os resíduos (valores observados menos preditos) versus valores preditos de Y para testar o viés de predição linear (St-Pierre, 2001).

Outra maneira para avaliação dos modelos finais utilizados em uma meta-análise é por meio da comparação dos valores preditos com dados experimentais independentes. Para determinar a tendência geral dos modelos de superestimar ou subestimar os valores observados, calcula-se o desvio médio para a bissetora ( $Y_{obs} = Y_{pred}$ ) como a diferença entre a média dos valores observados ( $Y_{obs}$ ) e preditos ( $Y_{pred}$ ) das variáveis respostas. Essa comparação pode ser realizada de acordo com o procedimento descrito por Offner e Sauvant (2004). Neste método, modelos lineares gerais são desenvolvidos, onde  $Y_{obsij}$  e  $Y_{predij}$  são os valores observados e preditos das variáveis dependentes no experimento i com o tratamento j, respectivamente,  $\alpha$  e b são o intercepto e o coeficiente linear, respectivamente,  $\alpha_i$  e  $b_i$  são os efeitos da experiência i no intercepto e no coeficiente linear, respectivamente, e  $e_{ij}$  é o erro residual. A partir deste modelo, quatro critérios podem ser avaliados em relação à precisão dos modelos em prever os valores observados: o desvio do intercepto ( $\alpha$ ) de 0, o desvio do coeficiente linear (b) de 1, o  $R^2$  e a variação residual expressa como RMSE.

Após a validação dos pressupostos do modelo final e dos parâmetros estimados os resultados obtidos podem ser interpretados e as conclusões obtidas para posterior divulgação aos usuários da literatura científica.

## 2.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. J.; BELL, D. D. A Model Relating Egg Weight and Distribution to Age of Hen and Season. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 7, n. 1, p. 35–44, 1 mar. 1998.

ADEDOKUN, S. A.; ADEOLA, O. Calcium and Phosphorus Digestibility: Metabolic limits1. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 600–608, 1 set. 2013.

AL-MASRI, M. R. Absorption and Endogenous Excretion of Phosphorus in Growing Broiler Chicks, as Influenced by Calcium and Phosphorus Ratios in Feed. **British Journal of Nutrition**, v. 74, n. 03, p. 407, set. 1995.

ANDERSON, K. E.; HAVENSTEIN, G. B.; BRAKE, J. Effects of Strain and Rearing Dietary Regimens on Brown-Egg Pullet Growth and Strain, Rearing Dietary Regimens, Density, and Feeder Space Effects on Subsequent Laying Performance. **Poultry Science**, v. 74, n. 7, p. 1079–1092, 1 jul. 1995.

ANDRETTA, I.; KIPPER, M.; LEHNEN, C. R.; HAUSCHILD, L.; VALE, M. M.; LOVATTO, P. A. Meta-Analytical Study of Productive and Nutritional Interactions of Mycotoxins in Broilers. **Poultry Science**, v. 90, n. 9, p. 1934–1940, 1 set. 2011.

ANELLO, C.; FLEISS, J. L. Exploratory or Analytic Meta-Analysis: Should We Distinguish between Them? **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 48, n. 1, p. 109- 116; discussion 117-118, jan. 1995.

ARAÚJO, L. F.; JUNQUEIRA, O. M.; ARAÚJO, C. S. da S.; SAVIETTO, D.; ALBUQUERQUE, R. de; BARBOSA, L. C. G. S. Níveis de fósforo disponível e tamanho de partícula do fosfato bicálcico na dieta de poedeiras comerciais de 24 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1223–1227, 2010.

BAIÃO, N. C.; LÚCIO, C. G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. (Ed.). **Manejo de matrizes de corte**. Campinas: FACTA, 2005. p. 197–212.

BAR, A.; VAX, E.; STRIEM, S. Relationships among age, eggshell thickness and vitamin D metabolism and its expression in the laying hen. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 123, n. 2, p. 147–154, jun. 1999.

- BELLAVER, C.; COSTA, C. A. F.; AVILA, V. S. de; FRAHA, M.; LIMA, G. J. M. M. de; HACKENHAR, L.; BALDI, P. Substituição de farinhas de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 671–677, 2005.
- BERTECHINI, A. G. Metabolismo dos minerais. In: **Nutrição de monogástricos**. 2. ed revisada ed. Lavras: UFLA, 2012. p. 373.
- BERTECHINI, A. G. Exigências de Minerais para Aves. In: SAKOMURA, N. K. (Ed.). **Nutrição de não-ruminantes**. 1. ed ed. Jaboticabal: FUNEP, 2014. p. 678.
- BOORMAN, K. N.; GUNARATNE, S. P. Dietary phosphorus supply, egg-shell deposition and plasma inorganic phosphorus in laying hens. **British poultry science**, v. 42, n. 1, p. 81–91, 2001.
- BORENSTEIN, M.; HEDGES, L. V.; HIGGINS, J. P. T.; ROTHSTEIN, H. R. **Introduction to meta-analysis**. Chichester, U.K: John Wiley & Sons, 2009.
- BROWN, A. J.; KRITS, I.; ARMBRECHT, H. J. Effect of Age, Vitamin D, and Calcium on the Regulation of Rat Intestinal Epithelial Calcium Channels. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 437, n. 1, p. 51–58, maio 2005.
- CASTILLO, C.; CUCA, M.; PRO, A.; GONZÁLEZ, M.; MORALES, E. Biological and economic optimum level of calcium in white Leghorn laying hens. **Poultry science**, v. 83, n. 6, p. 868–872, 2004.
- ÇELEBI, S.; BÖLÜKBASI, S. C. Influence of Supplemental Calcium on Production Parameters and Eggshell Quality of Laying Hens in Late Laying Period. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 5, n. 4, p. 340–343, 2006.
- CHANG, W.; TU, C.; CHEN, T.-H.; BIKLE, D.; SHOBACK, D. The Extracellular Calcium-Sensing Receptor (CaSR) Is a Critical Modulator of Skeletal Development. **Science Signaling**, v. 1, n. 35, p. ra1-ra1, 2 set. 2008.
- CHIEN, Y.-C.; HINCKE, M. T.; MCKEE, M. D. Avian Eggshell Structure and Osteopontin. **Cells Tissues Organs**, v. 189, n. 1–4, p. 38–43, 13 ago. 2008.
- COSTA, C. H. R.; BARRETO, S. L. de T.; MOURA, W. C. O.; REIS, R. de S.; LEITE, C. D. S.; MAIA, G. V. C. Níveis de Fósforo E Cálcio Em Dietas Para Codornas Japonesas Em Postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2037–2046, dez. 2007.
- ÇOĞALTAY, N.; KARADAĞ, E. Introduction to Meta-Analysis. In: KARADAĞ, E. (Ed.). **Leadership and Organizational Outcomes**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 19–28.
- CUSACK, M.; FRASER, A. .; STACHEL, T. Magnesium and Phosphorus Distribution in the Avian Eggshell. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 134, n. 1, p. 63–69, jan. 2003.

D'AGOSTINO, R. B.; WEINTRAUB, M. Meta-Analysis: A Method for Synthesizing Research. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 58, n. 6, p. 605–616, dez. 1995.

DENNIS, J. E.; XIAO, S.-Q.; AGARWAL, M.; FINK, D. J.; HEUER, A. H.; CAPLAN, A. I. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from white leghorn chickens (*Gallus gallus*). **Journal of Morphology**, v. 228, n. 3, p. 287–306, 1996.

EGGER, M.; SMITH, G. D. Meta-Analysis Bias in Location and Selection of Studies. **BMJ**, v. 316, n. 7124, p. 61–66, 3 jan. 1998.

ELAROSSI, M. A.; FORTE, L. R.; EBER, S. L.; BIELLIER, H. V. Calcium Homeostasis in the Laying Hen.: 1. Age and Dietary Calcium Effects. **Poultry Science**, v. 73, n. 10, p. 1581–1589, 1 out. 1994.

FARIA, D. E. de; JUNQUEIRA, O. M.; SAKOMURA, N. K.; SANTANA, Á. E. Efeito de Diferentes Níveis de Sódio E Fósforo Sobre O Desempenho E a Qualidade Da Casca Dos Ovos de Poedeiras Comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 458–466, abr. 2000.

GARCIA JÚNIOR, A. A. **Equações de predição dos valores energéticos de farinhas de origem animal para aves, utilizando o princípio da meta-análise**. 2010. UFLA, Lavras, MG, 2010.

GORDON, R. W.; ROLAND, D. A. Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 76, n. 8, p. 1172–1177, 1997.

GRANJA PLANALTO DO BRASIL. Manual de manejo das poedeiras Dekalb White 2009. 38p. Disponível em: [www.granjaplanalto.com.br](http://www.granjaplanalto.com.br)

GRANJA PLANALTO DO BRASIL. Manual de manejo das poedeiras Dekalb Brown 2009. 29p. Disponível em: [www.granjaplanalto.com.br](http://www.granjaplanalto.com.br)

GUINOTTE, F.; NYS, Y. Effects of Particle Size and Origin of Calcium Sources on Eggshell Quality and Bone Mineralization in Egg Laying Hens. **Poultry Science**, v. 70, n. 3, p. 583–592, 1 mar. 1991.

HAMILTON, R. M. G. The microstructure of the hen's egg shell-a short review. **Food Structure**, v. 5, n. 1, p. 13, 1986.

HEDGES, L. V. Modeling Publication Selection Effects in Meta-Analysis. **Statistical Science**, v. 7, n. 2, p. 246–255, 1992.

HIGGINS, J. P. T.; ALTMAN, D. G.; GOTZSCHE, P. C.; JUNI, P.; MOHER, D.; OXMAN, A. D.; SAVOVIC, J.; SCHULZ, K. F.; WEEKS, L.; STERNE, J. A. C. The Cochrane Collaboration's Tool for Assessing Risk of Bias in Randomised Trials. **BMJ**, v. 343, n. oct18 2, p. d5928–d5928, 18 out. 2011.

HINCKE, M., T.; NYS, Y.; GAUTRON, J.; MANN, K.; NAVARRO, A. B. R.; MCKEE, M. D. The Eggshell: Structure, Composition and Mineralization. **Frontiers in Bioscience**, v. 17, n. 1, p. 1266, 2012.

HOSSAIN, S. M.; BERTECHINI, A. G. Effect of Varying Manganese and Available Phosphorus Levels in the Diet on Egg Production and Eggshell Quality of Layers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 71, n. 3–4, p. 303–308, abr. 1998.

HOWARD, Z. R.; O'BRYAN, C. A.; CRANDALL, P. G.; RICKE, S. C. Salmonella Enteritidis in Shell Eggs: Current Issues and Prospects for Control. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 755–764, mar. 2012.

HY-LINE DO BRASIL. Manual de manejo comercial da Hy-line Brown 2014. 38p. Disponível em: [www.hyline.com.br](http://www.hyline.com.br)

HY-LINE DO BRASIL. Manual de manejo comercial da Hy-line W-36 2015. 36p. Disponível em: [www.hyline.com.br](http://www.hyline.com.br)

JIANG, S.; CUI, L.; SHI, C.; KE, X.; LUO, J.; HOU, J. Effects of Dietary Energy and Calcium Levels on Performance, Egg Shell Quality and Bone Metabolism in Hens. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 1, p. 252–258, out. 2013.

KEBREAB, E.; SCHULIN-ZEUTHEN, M.; LOPEZ, S.; SOLER, J.; DIAS, R. S.; DE LANGE, C. F. M.; FRANCE, J. Comparative Evaluation of Mathematical Functions to Describe Growth and Efficiency of Phosphorus Utilization in Growing Pigs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 10, p. 2498, 2007.

KEMPS, B. J.; GOVAERTS, T.; DE KETELAERE, B.; MERTENS, K.; BAMELIS, F. R.; BAIN, M. M.; DECUYPERE, E. M.; DE BAERDEMAEKER, J. G. The Influence of Line and Laying Period on the Relationship between Different Eggshell and Membrane Strength Parameters. **Poultry Science**, v. 85, n. 7, p. 1309–1317, jul. 2006.

KESHAVARZ, K. Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. **Poultry science**, v. 79, n. 5, p. 748–763, 2000.

KESHAVARZ, K. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and eggshell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. **Poultry science**, v. 82, n. 9, p. 1415–1422, 2003a.

KESHAVARZ, K. The effect of different levels of nonphytate phosphorus with and without phytase on the performance of four strains of laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 71–91, 2003b.

KESHAVARZ, K.; NAKAJIMA, S. Re-Evaluation of Calcium and Phosphorus Requirements of Laying Hens for Optimum Performance and Eggshell Quality. **Poultry Science**, v. 72, n. 1, p. 144–153, 1 jan. 1993.



KORELESKI, J.; SWIATKIEWICZ, S. Calcium from limestone meal and grit in laying hen diets – effect on performance, eggshell and bone quality. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 13, p. 635–645, 2004.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F.; OTHERS. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. **Journal of statistical software**, v. 25, n. 1, p. 1–18, 2008. LEANDRO, G. **Meta-analysis in medical research: the handbook for the understanding and practice of meta-analysis**. Malden, Mass: BMJ books : Blackwell Pub, 2005.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Minerals. In: **Nutrition of the chicken**. 4. ed ed. Guelph: Univ. Books, 2001. p. 591.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Feeding programs for laying hens. In: **Commercial poultry nutrition**. 3. ed., digitally repr ed. Guelph, Ontario: University Books, 2008. p. 398.

LÉTOURNEAU-MONTMINY, M. P.; NARCY, A.; LESCOAT, P.; BERNIER, J. F.; MAGNIN, M.; POMAR, C.; NYS, Y.; SAUVANT, D.; JONDREVILLE, C. Meta-Analysis of Phosphorus Utilisation by Broilers Receiving Corn-Soyabean Meal Diets: Influence of Dietary Calcium and Microbial Phytase. **Animal**, v. 4, n. 11, p. 1844–1853, nov. 2010.

LI, Z. A Multiplicative Random Effects Model for Meta-Analysis with Application to Estimation of Admixture Component. **Biometrics**, v. 51, n. 3, p. 864–873, set. 1995.

LI, Z.; BEGG, C. B. Random Effects Models for Combining Results from Controlled and Uncontrolled Studies in a Meta-Analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 89, n. 428, p. 1523, dez. 1994.

LI, J. H.; YUAN, J. M.; GUO Y. M.; YANG, Y.; SUN, Q. J.; HU, X. F. The influence of dietary calcium and phosphorus imbalance on intestinal NaPi-IIb and calbindin mRNA expression and tibia parameters of broilers. **Asian Austral J Anim**, v.25, p.552-558, 2012.

LICHOVNIKOVA, M. The Effect of Dietary Calcium Source, Concentration and Particle Size on Calcium Retention, Eggshell Quality and Overall Calcium Requirement in Laying Hens. **British Poultry Science**, v. 48, n. 1, p. 71–75, fev. 2007.

LIGEIRO, E. C. **Efeito da utilização da fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos, avaliação econômica e excreção de fósforo e nitrogênio de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo ingredientes alternativos**. 2007. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.unesp.br/handle/11449/96571>>. Acesso em: 12 fev. 2017.

LIN, Y.-P.; SINGER, P. C. Inhibition of Calcite Crystal Growth by Polyphosphates. **Water Research**, v. 39, n. 19, p. 4835–4843, nov. 2005.

LOHMANN DO BRASIL. Guia de manejo Lohmann LSL. 2014. 42p. Disponível em: [www.itz.com.br](http://www.itz.com.br)

LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R.; ANDRETTA, I.; CARVALHO, A. D.; HAUSCHILD, L. Meta-análise em pesquisas científicas-enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 285–294, 2007.

LUIZ, A. J. B. Meta-análise: definição, aplicações e sinergia com dados espaciais. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 407–428, 2002.

MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M. M.; NYS, Y. Supplementation of a Corn-Soybean Meal Diet with Manganese, Copper, and Zinc Form Organic and Inorganic Sources Improves Eggshell Quality in Aged Laying Hens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1903–1913, 2003.

MACHADO, A. L. C. **Níveis de fósforo disponível na dieta de poedeiras**. 2010. Dissertação de Mestrado em Zootecnia. UFMG, Belo Horizonte, MG, 2010.

MACIEL, M. P.; BAIÃO, N. C.; AIURA, F. S.; AROUCA, C. L. C. Calcium levels for white-egg layers Níveis de cálcio para poedeiras leves. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, n. 595–596, p. 209–214, 2015.

MARTIN, O.; SAUVANT, D. Metaanalysis of Input/Output Kinetics in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 12, p. 3363–3381, 2002.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A. G. Critical Points on Egg Production: Causes, Importance and Incidence of Eggshell Breakage and Defects. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 07-14, fev. 2014.

MAZZUCO, H.; HESTER, P. Y. The Effect of an Induced Molt and a Second Cycle of Lay on Skeletal Integrity of White Leghorns. **Poultry Science**, v. 84, n. 5, p. 771–781, 1 maio 2005.

MERTENS, K.; BAMELIS, F.; KEMPS, B.; KAMERS, B.; VERHOELST, E.; DE KETELAERE, B.; BAIN, M.; DECUYPERE, E.; DE BAERDEMAEKER, J. Monitoring of Eggshell Breakage and Eggshell Strength in Different Production Chains of Consumption Eggs. **Poultry Science**, v. 85, n. 9, p. 1670–1677, 1 set. 2006.

MURATA, L. S.; ARIKI, J.; SANTANA, A. P.; DE MORAES JARDIM FILHO, R. Níveis de cálcio e granulometria do calcário sobre o desempenho e a qualidade da casca de ovos de poedeiras comerciais. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 103–110, 2009.

NARVÁEZ-SOLARTE, W.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, P. R.; URIBE-VELASQUEZ, L. F.; SILVA, M. A. Nutritional requirement of calcium in white laying hens from 46 to 62 Wk of age. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 181–184, 2006.

NEMERE, I., NORMAN, A.W. Transcaltachia, vesicular calcium transport, and microtubule-associated calbindin-D28K: emerging views of 1,25-dihydroxyvitamin D3-mediated intestinal calcium absorption. **Miner. Electrolyte Metab.** 16, 109–114, 1990.

NIE, W.; YANG, Y.; YUAN, J.; WANG, Z.; GUO, Y. Effect of Dietary Nonphytate Phosphorus on Laying Performance and Small Intestinal Epithelial Phosphate Transporter Expression in Dwarf Pink-Shell Laying Hens. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 34, 2013.

NRC. **Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994**. Washington, D.C.: National Academies Press, 1994.

NYS, Y. La coquille d'oeuf: un biomatériau composite. **Pour la Science**, v. 289, p. 48–54, 2001.

NYS, Y.; GAUTRON, J.; GARCIA-RUIZ, J. M.; HINCKE, M. T. Avian Eggshell Mineralization: Biochemical and Functional Characterization of Matrix Proteins. **Comptes Rendus Palevol**, v. 3, n. 6–7, p. 549–562, out. 2004.

PANHELEUX, M.; NYS, Y.; WILLIAMS, J.; GAUTRON, J.; BOLDICKE, T.; HINCKE, M. T. Extraction and Quantification by ELISA of Eggshell Organic Matrix Proteins (Ovocleidin-17, Ovalbumin, Ovotransferrin) in Shell from Young and Old Hens. **Poultry Science**, v. 79, n. 4, p. 580–588, abr. 2000.

PELICIA, K. **Efeito dos níveis de cálcio, fósforo e granulometria de calcário na dieta de poedeiras comerciais no primeiro e segundo ciclo de produção**. 2008. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2008.

PELICIA, K.; MOURAO, J. L. M.; GARCIA, E. A.; PINHEIRO, V. M. C.; BERTO, D. A.; MOLINO, A. B.; FAITARONE, A. B. G.; VERCESE, F.; SANTOS, G. C.; SILVA, A. P. Effects of dietary calcium levels and limestone particle size on the performance, tibia and blood of laying hens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 13, n. 1, p. 29–34, 2011.

OFFNER, A.; BACH, A.; SAUVANT, D. Quantitative Review of in Situ Starch Degradation in the Rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, n. 1–4, p. 81–93, abr. 2003.

OFFNER, A.; SAUVANT, D. Prediction of in Vivo Starch Digestion in Cattle from in Situ Data. **Animal Feed Science and Technology**, v. 111, n. 1–4, p. 41–56, jan. 2004.

PEREIRA, M. G.; GALVÃO, T. F. Heterogeneidade E Viés de Publicação Em Revisões Sistemáticas. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 4, p. 775–778, dez. 2014.

PINHEIRO, J. C.; BATES, D. M. Model building for nonlinear mixed-effects models. **Dept. Statistics, Univ. Wisconsin, Madison.**, 1998.

PIZZOLANTE, C. C. **Estabilidade da fitase e sua utilização em frangos de corte**. 2000. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2000.

RAO, S. R.; PANDA, A. K.; RAJU, M.; SUNDER, G. S.; PRAHARAJ, N. K. Requirement of calcium for commercial broilers and white leghorn layers at low dietary phosphorus levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, n. 1, p. 199–208, 2003.

RODRIGUES, E. A.; JUNQUEIRA, O. M.; VALERIO, M.; ANDREOTTI, M. D. O.; CANCHERINI, L. C.; FARIA, D. E. de; FILARDI, R. D. S. Níveis de cálcio em rações de poedeiras comerciais no segundo ciclo de postura. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 1, 20 mar. 2005.

RODRIGUES, P. B. **Fatores nutricionais que afetam a qualidade do ovo de poedeiras de 2º ciclo**. 1995. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1995.

RODRIGUES, C. L.; ZIEGELMANN, P. K. Metanálise: um guia prático. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, n. 4, p. 436–447, 2010.

ROLAND, D. A.; BRYANT, M. M.; RABON, H., W. Influence of Calcium and Environmental Temperature on Performance of First-Cycle (Phase 1) Commercial Leghorns. **Poultry Science**, v. 75, p. 62–68, 1996.

ROSENTHAL, R. **Meta-analytic procedures for social research**. [s.l.] Beverly Hills: Sage Publ, 1984.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F. de; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. de T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 3 ed. ed. Viçosa, MG: Horacio Santiago Rostagno, 2011.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; *et al.* Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4 ed. Viçosa, MG: Horacio Santiago Rostagno, 2017.

SAKOMURA, N. K.; SERAFIM, G. S.; PINHEIRO, J. W.; RESENDE, K. T.; JUNQUEIRA, O. M. Exigências nutricionais de fósforo para galinhas poedeiras. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p. 936–951, 1995.

SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J. J. Les méta-analyses des données expérimentales : applications en nutrition animale. **Inra Production Animales**, v. 18, n. 1, p. 63–73, 2005.

SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J. J.; ST-PIERRE, N. R. Meta-Analyses of Experimental Data in Animal Nutrition. **Animal**, v. 2, n. 08, p. 1203–1214, ago. 2008.

SCHEIDELER, S. A.; AL-BATSHAN, H. Basics of calcium, phosphorus nutrition in layers studied. **Feedstuffs**, v. 66, n. 14, p. 6–15, 1994.

SILVA, E. A. da. **Níveis de cálcio e relações cálcio: fósforo em rações para galinhas poedeiras leves**. 2014. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2014. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/1882>>. Acesso em: 31 jan. 2017.

SKRIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. Effect of different phosphorus levels on the performance and egg quality of laying hens fed wheat-and maize-based diets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. 10, p. 420–427, 2010.

SNOW, J. L.; DOUGLAS, M. W.; KOELKEBECK, K. W.; BATAL, A. B.; PERSIA, M. E.; BIGGS, P. E.; PARSONS, C. M. Minimum phosphorus requirement of one-cycle and two-cycle (molted) hens. **Poultry science**, v. 83, n. 6, p. 917–924, 2004.

SNOW, J. L.; RAFACZ, K. A.; UTTERBACK, P. L.; UTTERBACK, C. W.; LEEPER, R. W.; PARSONS, C. M. Hy-Line W-36 and Hy-Line W-98 laying hens respond similarly to dietary phosphorus levels. **Poultry science**, v. 84, n. 5, p. 757–763, 2005.

SOHAIL, S. S.; BRYANT, M. M.; RAO, S. K.; ROLAND, D. A. Influence of Cage Density and Prior Dietary Phosphorus Level on Phosphorus Requirement of Commercial Leghorns. **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 769–775, jun. 2001.

SOHAIL, S. S.; ROLAND, D. A. Influence of dietary phosphorus on performance of Hy-Line W36 hens. **Poultry science**, v. 81, n. 1, p. 75–83, 2002.

SOLOMON, S. E. The Eggshell: Strength, Structure and Function. **British Poultry Science**, v. 51, n. sup1, p. 52–59, ago. 2010.

ST-PIERRE, N. R. Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology1. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 4, p. 741–755, 2001.

ST-PIERRE, N. R. Meta-analyses of experimental data in the animal sciences. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 343–358, 2007.

STRATHE, A. B.; LEMME, A.; HTOO, J. K.; KEBREAB, E. Estimating Digestible Methionine Requirements for Laying Hens Using Multivariate Nonlinear Mixed Effect Models. **Poultry Science**, v. 90, n. 7, p. 1496–1507, 1 jul. 2011.

SUMMERS, J. D. Reduced dietary phosphorus levels for layers. **Poultry Science**, v. 74, n. 12, p. 1977–1983, 1995.

SUTTON, A. J.; DUVAL, S. J.; TWEEDIE, R. L.; ABRAMS, K. R.; JONES, D. R. Empirical assessment of effect of publication bias on meta-analyses. **BMJ**, v. 320, p. 1574–1577, 2000.

SWIATKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; KRAWCZYK, J.; PUCHAŁA, M.; JÓZEFIK, D. Dietary Factors Improving Eggshell Quality: An Updated Review with Special Emphasis on Microelements and Feed Additives. **World's Poultry Science Journal**, v. 71, n. 01, p. 83–94, mar. 2015a.

USAYRAN, N.; FARRAN, M. T.; AWADALLAH, H. H. O.; ASHKARIAN, V. M. Effects of Added Dietary Fat and Phosphorus on the Performance and Egg Quality of Laying Hens Subjected to a Constant High Environmental Temperature. **Poultry Science**, v. 80, p. 1695–1701, 2001.

VAN HOUWELINGEN, H. C.; ARENDS, L. R.; STIJNEN, T. Advanced Methods in Meta-Analysis: Multivariate Approach and Meta-Regression. **Statistics in Medicine**, v. 21, n. 4, p. 589–624, 28 fev. 2002.

VARGAS JÚNIOR, J. G. de; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; CUPERTINO, E. S.; CARVALHO, D. C. O.; NASCIMENTO, A. H. do. Níveis Nutricionais de Cálcio E Fósforo Disponível Para Aves de Reposição Leves E Semipesadas de 0 a 6 Semanas de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1919–1926, dez. 2003.

VELLASCO, C. R. **Níveis de cálcio e relação cálcio/fósforo em rações para poedeiras leves de 24 a 40 semanas de idade**. 2010. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

VELLASCO, C. R.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; CALDERANO, A. A.; MELLO, H. H. de C.; PASTORE, S. M. Níveis de Cálcio E Relação Cálcio: Fósforo Em Rações Para Poedeiras Leves de 24 a 40 Semanas de Idade. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 206–216, jun. 2016.

VIECHTBAUER, W.; CHEUNG, M. W.-L. Outlier and Influence Diagnostics for Meta-Analysis. **Research Synthesis Methods**, v. 1, n. 2, p. 112–125, abr. 2010.

VIEIRA, D. V. G.; BARRETO, S. L. T. de; VALERIANO, M. H.; JESUS, L. F. D. de; SILVA, L. F. F. da; MENCALHA, R.; BARBOSA, K. S.; MENDES, R. K. V.; CASSUCE, M. R.; MELO, T. de S. Exigências de Cálcio E de Fósforo Disponível Para Codornas Japonesas de 26 a 38 Semanas de Idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 1, p. 204–213, mar. 2012.

WALDROUP, P. W.; WATKINS, S. E.; HELLWIG, H. M. Influence of Sodium Source and Level on Performance of Second-Cycle Hens Fed Diets with Different Levels of Nonphytate Phosphorus. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 6, p. 399–407, 1 jun. 2005.

WANG, M. C.; BUSCHMAN, B. J. **Integrating results through meta-analytic review using SAS software**. Cary, NC: SAS Institute, 1999.

ZIEGELMANN, P. K. Aspectos Conceituais e Práticos sobre Metanálise. **Revista de Enfermagem da UFPI**, v. 2, n. 5, p. 8–13, 2014.

WOLC, A.; ARANGO, J.; SETTAR, P.; O’SULLIVAN, N. P.; OLORI, V. E.; WHITE, I. M. S.; HILL, W. G.; DEKKERS, J. C. M. Genetic Parameters of Egg Defects and Egg Quality in Layer Chickens. **Poultry Science**, v. 91, n. 6, p. 1292–1298, 1 jun. 2012.

## **EFEITO DO CÁLCIO NA DIETA SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE ÓSSEA E DA CASCA DE OVOS DE GALINHAS POEDEIRAS: UMA META-ANÁLISE**

### **RESUMO**

O efeito do cálcio sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras foi avaliado usando uma meta-análise. O banco de dados foi composto por 37 ensaios, extraídos de uma tese e 22 artigos científicos publicados entre 1993 e 2015. As variáveis dependentes avaliadas na meta-análise incluíram consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos, massa de ovos, conversão alimentar, porcentagem de casca do ovo, espessura da casca, gravidade específica e porcentagem de cinzas na tibia. Foram utilizados modelos mistos para avaliação dos efeitos lineares e quadráticos dos níveis de cálcio sobre as variáveis respostas, onde os ensaios foram considerados como o efeito aleatório e o nível de cálcio na dieta como efeito fixo. O consumo de ração apresentou efeito linear decrescente e a porcentagem de cinzas na tibia teve efeito linear crescente em função do incremento dos níveis de cálcio na dieta, as estimativas dos coeficientes lineares do cálcio foram diferentes de zero com valores de P iguais a 0,0003 e 0,0215, respectivamente. A produção de ovos ( $P = 0,0266$ ), massa de ovos ( $P = 0,0143$ ), conversão alimentar ( $P = 0,0142$ ), porcentagem de casca do ovo ( $P \leq 0,0001$ ), espessura da casca ( $P = 0,0385$ ) e gravidade específica ( $P \leq 0,0001$ ) foram influenciadas de forma quadrática com incremento dos níveis de cálcio da dieta, uma vez que as estimativas dos coeficientes quadráticos do cálcio foram diferentes de zero. Dietas que contém níveis de cálcio compreendidos em 39,22 e 44,45 g/kg promovem a máxima resposta para desempenho e qualidade da casca dos ovos em galinhas poedeiras, respectivamente.

Palavras chave: cálcio; desempenho; galinhas poedeiras; meta-análise; qualidade da casca

## **EFFECT OF CALCIUM IN THE DIET ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE, BONE QUALITY AND EGGSHELL OF LAYING HENS: A META-ANALYSIS**

### **ABSTRACT**

The effect of calcium on the performance, bone quality and egg shell of laying hens was evaluated using a meta-analysis. The database consisted of 37 trials, extracted from a thesis and 22 scientific papers published between 1993 and 2015. The dependent variables evaluated in the meta-analysis included feed intake, egg production, egg weight, egg mass, conversion feed ratio, eggshell percentage, eggshell thickness, specific gravity and ash percentage of the tibia. Mixed models were used to evaluate the linear and quadratic effects of calcium levels on the response variables, where the trials were considered as the random effect and the level of calcium in the diet as a fixed effect. Feed intake showed a linear decreasing effect and the ash percentage of the tibia showed an increasing linear effect in function to the increase of calcium levels in the diet, the estimates of linear calcium coefficients were different from zero with values of P equal to 0.0003 and 0.0215, respectively. Egg production ( $P = 0.0266$ ), egg mass ( $P = 0.0143$ ), feed conversion ( $P = 0.0142$ ), eggshell percentage ( $P \leq 0.0001$ ), eggshell thickness ( $P = 0.0385$ ) and specific gravity ( $P \leq 0.0001$ ) were influenced in a quadratic form with an increase in dietary calcium levels, since the estimates of the quadratic coefficients of calcium were different from zero. Diets containing calcium levels of 39.35 and 44.45 g/kg promote the maximum performance response and eggshell quality in laying hens, respectively.

Keywords: calcium, eggshell quality, laying hen, meta-analysis, performance



### 3.1. INTRODUÇÃO

O cálcio (Ca) é um macromineral essencial para o desenvolvimento e produção das galinhas poedeiras, uma vez que, além de sua participação nas funções vitais, tais como: componente principal das estruturas ósseas, equilíbrio ácido-básico e sistemas enzimáticos é o mineral mais importante na formação dos ovos e qualidade da casca (Leeson e Summers, 2008).

Na avicultura de postura, a baixa qualidade da casca dos ovos influencia diretamente a ocorrência de ovos quebrados e representam grandes perdas econômicas, seja devido à perda de produto, necessidade de processamento adicional ou redução da aceitabilidade (Mazzuco e Bertechini, 2014). Mertens et al. (2006) relataram uma porcentagem de quebra de ovos após a postura de 6,73% no sistema de gaiolas clássicas, mas verificaram que a porcentagem total de quebra após a coleta, classificação, embalagem e transporte até as lojas de varejo atingiram valores muito maiores. Além disso, Mabe et al. (2003) indicaram que cascas trincadas ou quebradas representam 80-90% dos ovos que são rotineiramente degradados. Assim, a resistência e ausência de defeitos na casca são essenciais para segurança alimentar e qualidade dos componentes dos ovos de consumo (Wolc et al., 2012; Swiatkiewicz et al., 2015a).

Durante a formação da casca do ovo, aproximadamente 10% do estoque corporal de Ca é depositada na casca (Elaroussi et al., 1994; Baião e Lúcio, 2005). Consequentemente, o Ca está diretamente relacionado com o desempenho das aves e qualidade dos ovos, influenciando a produção de ovos, o peso dos ovos, a conversão alimentar, gravidade específica, espessura e resistência da casca (Vieira et al., 2012). Neste contexto, o Ca é adicionado a dieta das galinhas poedeiras para manter a alta produção de ovos, que podem atingir 413 a 468 ovos por ave alojada e a qualidade da casca (Hy-Line W36, 2015; Lohmann LSL, 2014).

Atualmente, grandes esforços vêm sendo observados na área da genética, ambiência e nutrição relacionados à melhoria da qualidade da casca dos ovos (Nys, 2001). Devido a capacidade do Ca em promover o desempenho e qualidade da casca dos ovos, grande parte dos estudos com galinhas poedeiras têm como objetivo a avaliação do fornecimento de Ca. No entanto, a determinação dos níveis desse mineral continua sendo um desafio para os nutricionistas, visto que, existem controvérsias relacionadas à magnitude das respostas das galinhas poedeiras aos níveis de Ca praticados. Além disso, não existe um consenso entre as recomendações nutricionais para esse mineral (Velasco, 2010). Portanto, as exigências

nutricionais de Ca para galinhas poedeiras na fase de produção disponíveis são muito variadas.

O NRC (1994) recomenda 32,5 g/kg de Ca para poedeiras brancas e marrons consumindo aproximadamente 100 e 110g de ração, respectivamente. As recomendações de Rostagno et al. (2017) para os níveis de Ca na dieta são de 44,5 e 45,6 g/kg no caso das poedeiras brancas e 38,9 a 39,8 g/kg para as marrons. O manual da linhagem Hy-Line recomenda para as poedeiras brancas Hy-Line W36, valores entre 44,0 e 50,0 g/kg de Ca (Hy-Line W36, 2015), e para as poedeiras Hy-Line Brown entre 39,1 e 44,0 g/kg de Ca dietético (Hy-Line Brown, 2014). Por sua vez, os níveis de Ca recomendados pelos trabalhos científicos nos últimos anos para galinhas poedeiras em diferentes idades e condições experimentais estão entre 32,0 e 47,4 g/kg (Roland et al., 1996; Rao et al., 2003; Narváez-Solarte et al., 2006; Murata et al., 2009; Pelicia et al., 2011; Jiang et al., 2013; Maciel et al., 2015; Vellasco et al., 2016).

Considerando que podem existir inúmeros fatores de variação das recomendações de Ca dietético para poedeiras entre as diferentes fontes utilizadas para consulta, uma análise crítica dos trabalhos científicos levando em consideração tais diferenças, como linhagem das aves, idade período de produção, entre outros, podem trazer grandes benefícios à avicultura de postura. Nesse cenário a técnica meta-analítica pode ser empregada, uma vez que se destina a síntese estatística dos resultados de uma série de estudos relacionados ao mesmo tema (Borenstein, 2009). Destaca por ser considerada um processo relevante para avaliar fenômenos complexos e extrair novas informações, levando em conta pesquisas anteriores (St-Pierre, 2001). Quando comparada a outras formas de revisão, a meta-análise tem a grande vantagem de ser menos influenciada pela opinião pessoal do revisor e fornece conclusões imparciais (Leandro, 2005; Vesterinen et al., 2014). Deste modo, objetivou-se com esse estudo estimar possíveis efeitos lineares ou quadráticos do Ca dietético sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras na fase de produção.

## **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1. Pesquisa bibliográfica e critérios de seleção**

A pesquisa bibliográfica e o processo de seleção dos estudos foram realizados em banco de dados eletrônicos (i.e., Google Scholar, CAB Abstracts, SciELO e Science Direct) e

por meio da identificação de outros estudos a partir das referências bibliográficas das revistas científicas. Também foram pesquisados estudos de dissertações e teses. As pesquisas foram baseadas nas seguintes palavras-chave: cálcio, nutrição mineral, galinhas poedeiras, casca do ovo e qualidade óssea.

Para seleção e inclusão dos ensaios no banco de dados foram cumpridos os seguintes critérios: ensaios que fizessem parte de uma dissertação, tese ou artigo completo de revistas avaliadas por pares publicados de 1993 a 2017; tivessem avaliações do efeito do Ca dietético sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras; pelo menos dois níveis dietéticos de Ca tivessem sido utilizados como tratamentos e estivessem claramente definidos; as dietas fossem a base de milho/sorgo e soja; tivessem a descrição do processo de aleatorização; apresentasse o período de fornecimento de Ca, a idade das aves e o tipo de linhagem; apresentasse a quantidade de dados suficientes para determinar o efeito para os resultados de produção (i.e., o número de aves e repetições em cada tratamento) e tivesse disponibilizado pelo menos uma medida de efeito capaz de calcular a análise de tamanho de efeito para dados contínuos.

O estudo era excluído do banco de dados se a finalidade da pesquisa não coincidissem com objetivo da meta-análise, ou seja, apresentasse o nível dietético de Ca como principal fator avaliado. Uma revisão completa e crítica de cada estudo do banco de dados, com foco principalmente no material e métodos, tamanho da amostra, delineamento experimental, métodos de amostragem e análises estatísticas foi realizada. Além disso, a avaliação da estrutura final dos dados por meio de análise exploratória permitiu a identificação de possíveis observações anômalas, tanto dentro como entre estudos (St-Pierre, 2007). Quando algum dos estudos não se enquadrava em algum desses critérios, o trabalho foi excluído.

### **3.2.2. Descrição do banco de dados**

O banco de dados consistiu de 37 ensaios, sendo extraídos de uma tese e 22 artigos científicos publicados no período de 1993 a 2015. As descrições e principais informações dos estudos que foram selecionados para realização da meta-análise estão apresentadas na tabela anexo 1.

As informações de determinados fatores foram adicionadas ao banco de dados quando disponíveis nos ensaios. Os fatores referentes a composição das dietas experimentais incluídos foram, o nível de energia metabolizável (EM), proteína bruta (PB), lisina (Lis), metionina (Met), metionina + cistina (Met+cis), fósforo disponível (Pd), a relação Ca:P, a

fonte de Ca, a granulometria da fonte de Ca. As informações referentes às aves incluídas foram, a idade do início do ensaio, a idade do final do ensaio (IF) e, por fim, o tipo de linhagem, que foi adicionado ao banco de dados como duas categorias: linhagens brancas (B) ou marrons (M). Os fatores relacionados ao delineamento experimental adicionados foram a duração do ensaio (DE). Esses fatores foram considerados na análise dos dados quando suas informações estavam apresentadas em um número satisfatório de ensaios. As informações sobre a fonte de Ca e a granulometria da fonte de Ca não puderam ser consideradas em nenhuma das variáveis respostas, pois o conjunto de dados não continha observações suficientes para estimar um componente de variância com precisão razoável.

Os fatores quantitativos considerados durante a análise dos dados foram, EM (2.536 a 3.193 kcal/kg); PB (144,0 a 186,0 g/kg); Lis (6,6 a 10,2 g/kg); Met (3,0 a 4,3 g/kg); Pd: 2,5 a 4,8 g/kg); IF (28 a 83 semanas) e DE (4,0 a 52,0 semanas). O fator qualitativo tipo de linhagem foi considerado na análise dos dados como duas categorias (B ou M). Estas condições foram avaliadas para evitar o viés causado por qualquer um desses fatores. Além disso, a importância potencial de cada fator foi avaliada quanto à sua significância ( $P \leq 0,05$ ) para, posteriormente, ser testado como covariável do modelo final.

### 3.2.3. Descrição das variáveis repostas

As variáveis respostas (i.e. dependentes) estudadas na meta-análise para desempenho produtivo foram, o consumo de ração (**CR**), produção de ovos (**ProdOvo**), peso dos ovos (**PO**), massa de ovos (**MO**) e conversão alimentar (**CA**); para qualidade da casca de ovos incluíram porcentagem de casca do ovo (**PC**), espessura da casca (**EC**) e gravidade específica (**GE**) e; para qualidade óssea apenas a porcentagem de cinzas na tíbia (**Ctb**) foi avaliada. O CR, ProdOvo, PO, MO, CA foram mensurados durante o período de avaliação dos níveis dietéticos de Ca nos ensaios; PC, EC, GE foram mesurados em uma parcela dos ovos coletados durante o período de duração do ensaio; e Ctb foi mensurada nas tíbias das aves coletadas durante o período de avaliação dos níveis dietéticos de Ca.

Os critérios utilizados para a seleção das variáveis respostas foram a relevância da informação para explicar o objetivo principal e o número de observações por ensaio. As variáveis respostas de desempenho foram observadas mais frequentemente entre os estudos, enquanto, as repostas de qualidade óssea e da casca de ovos foram relatadas em um número reduzido de estudos. Não puderam ser avaliadas as variáveis, porcentagem de Ca e P nos

ossos, retenção de Ca e P da dieta, resistência da casca do ovo e óssea, devido ao pequeno número de estudos relatando-as e pela diversidade nas metodologias e unidade utilizadas.

### 3.2.4. Descrição das análises estatísticas

Os dados foram analisados por uma abordagem de modelos mistos lineares (St-Pierre, 2001), onde os ensaios foram considerados como o efeito aleatório e o nível de Ca na dieta como efeito fixo. Dois tipos de funções polinomiais foram utilizados para analisar a relação entre os níveis de Ca na dieta e as variáveis respostas: o modelo linear simples [1], apenas com coeficiente linear Ca, e o modelo quadrático [2], com coeficiente linear e quadrático de Ca. Os modelos gerais estão apresentados a seguir:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_j + s_i + \epsilon_{ij}, \quad [1]$$

e

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_j + \beta_2 [X_j * X_j] + s_i + \epsilon_{ij}, \quad [2]$$

onde,  $i = 1, \dots, 37$  ensaios;  $j = 1, \dots, 169$  valores;  $X_j$  = nível dietético de Ca (20,6 a 50,0 g/kg);  $\beta_1$  = coeficiente de regressão linear;  $\beta_2$  = coeficiente de regressão quadrático;  $s_i$  = intercepto do ensaio aleatório;  $\epsilon_{ij} \sim \mathbb{N}(0, \sigma^2)$  = erro residual. Assim,  $\beta_0 + \beta_1 X_j + \beta_2 [X_j * X_j]$  = parte de efeito fixo do modelo;  $s_i + \epsilon_{ij}$  = parte de efeito aleatório do modelo.

O método de máxima verossimilhança restrita foi utilizado para se obter as estimativas de efeitos fixos ( $\widehat{\beta}_0, \widehat{\beta}_1, \widehat{\beta}_2$ ) e aleatórios ( $\widehat{s}_i, \widehat{\sigma}^2$ ). Os parâmetros foram estimados utilizando a função *lme* do pacote *nlme* do R versão 3.3.3 (Pinheiro et al., 2014). Para avaliar a heterocedasticidade do erro, a qualidade do ajuste e o modelo com melhor desempenho foram avaliados com base no Critério de Informação de Akaike (AIC) e no Critério de Informação Bayesiano de Schwarz (BIC). O nível de significância foi definido em  $P \leq 0,05$ . Quando uma relação quadrática foi definida entre o nível de Ca da dieta e as variáveis respostas, o nível ótimo de Ca para a máxima resposta das variáveis dependentes foi determinado calculando as derivadas parciais das equações obtidas:  $-\beta_1 / (2 \times \beta_2)$ .

Em um procedimento passo a passo, as covariáveis relacionadas aos ensaios foram incluídas uma de cada vez no modelo. De acordo com Pinheiro e Bates (1998), o número de parâmetros extras a serem estimados tende a crescer consideravelmente com a inclusão de covariáveis. A inclusão de covariáveis no modelo final foi baseada no seu respectivo valor de

P e no valor de BIC dos ajustes do modelo de base de teste [1] ou [2], com ou sem as covariáveis candidatas.

A estatística descritiva foi apresentada para as variáveis independentes e dependentes utilizadas na meta-análise, exibindo sua média, mediana, mínimo, máximo, erro padrão, coeficiente de assimetria e curtose. O coeficiente de assimetria está relacionado à simetria da função densidade de distribuição, seu valor tende a ser nulo (igual a zero) quando calculado para uma resposta com função de distribuição aproximadamente normal, enquanto a curtose é uma medida de dispersão que caracteriza o "achatamento" da curva da função de distribuição, ou seja, um valor de curtose acentuado pode indicar a presença de resposta atípica no conjunto de dados (*outlier*), caso contrário, seu valor tende a zero.

A qualidade do ajuste modelo final foi avaliado utilizando o nível de significância dos parâmetros estimados, erro padrão (EP), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e raiz do erro quadrático médio (RMSE) (Ahmadi e Rodehutsord, 2012). A adequação do modelo também foi avaliada usando gráficos de resíduos (observado menos predito) versus valores preditos de Y para testar o viés de predição linear (St-Pierre, 2001). Além disso, foi verificado se os resíduos apresentavam distribuição de probabilidade normal usando gráficos quantil-quantil, permitindo verificar se os pontos dos resíduos se ajustam a reta dos quantis de uma distribuição de probabilidade normal padrão (Wang e Bushman, 1999).

As análises estatísticas e os gráficos foram realizadas com os pacotes *nlme* (Pinheiro et al., 2014) e *ggplot2* (Wickham, 2009) utilizando o R versão 3.3.3 (R Core Team, 2017). Os gráficos de resíduos e quantil-quantil para verificar a adequação do modelo foram gerados usando o SAS versão University Edition (SAS Institute Inc. 2014).

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estatística descritiva dos principais componentes do banco de dados está apresentada na Tabela 1. Por se tratarem de critérios para seleção dos estudos, os parâmetros IF, DE e tipo de inragem foram fornecidos por todos os 37 ensaios usados na meta-análise. Em relação aos parâmetros nutricionais, todos os ensaios forneceram os níveis dietéticos de EM, PB e Pd. No entanto, apenas 33 e 36 destes forneceram os níveis dietéticos de Lis e Met, respectivamente. Todos os parâmetros quantitativos e qualitativo foram testados como covariáveis nas análises das variáveis de desempenho produtivo.

A relação Ca:P e a idade do início do experimento também não foram consideradas, pois os efeitos dessas variáveis eram confundidos com outras variáveis explicativas de efeitos

fixos (i.e., Ca, Ca\*Ca ou pelo menos uma das covariáveis candidatas) gerando a multicolinearidade, isto é, quando há uma relação linear forte entre duas variáveis explicativas no modelo ou quando uma variável é a combinação linear de outras variáveis explicativas tem-se a multicolinearidade e seus efeitos indesejáveis, como estimativas totalmente diferentes dos parâmetros reais (Montgomery et al., 2006). Deste modo, as inferências baseadas nestes modelos poderiam ser errôneas ou pouco confiáveis (Lovatto et al., 2007; Sauvant et al., 2008).

A estatística descritiva das variáveis respostas utilizadas na meta-análise está apresentada na Tabela 1. Os resultados foram considerados consistentes quando comparadas a outros trabalhos científicos com galinhas poedeiras e aos principais guias de manejo das linhagens do mercado (Dekalb White, 2009; Lohmann LSL, 2014; Hy-Line Brown, 2014; Hy-Line W36, 2015).

**Tabela 1.** Estatística descritiva das variáveis independentes e dependentes selecionadas dos estudos utilizados na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio no desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras <sup>a</sup>

Item	No <sup>b</sup>	Ne <sup>c</sup>	Média	Mediana	Min <sup>d</sup>	Máx <sup>e</sup>	EP <sup>f</sup>	Assimetria	Curtose
Variável independente <sup>g</sup>									
Ca, g/kg	169	37	36,36	37,00	20,60	52,00	0,525	-0,101	-0,552
Pd, g/kg	169	37	3,73	3,90	2,50	4,80	0,033	-0,811	0,962
EM, kcal/kg	169	37	2.794	2.800	2.536	3.193	6,298	1,803	10,699
PB, g/kg	169	37	165,21	165,0	144,0	186,0	0,862	0,303	-0,351
Lis, g/kg	153	33	8,18	8,20	6,60	10,20	0,074	0,685	-0,345
Met, g/kg	163	36	3,73	3,70	3,00	4,31	0,028	-0,363	-1,062
IF, semanas	169	37	54,10	56,00	28,00	83,00	1,335	0,034	-1,229
DE, semanas	169	37	14,72	12,00	4,00	52,00	0,716	2,078	5,891
Variável dependente <sup>h</sup>									
CR, g	86	20	110,39	111,00	86,00	133,4	1,041	0,010	0,119
ProdOvo, %	93	22	84,21	84,20	67,80	96,00	0,663	-0,377	-0,513
PO, g	84	19	62,52	63,40	54,60	69,80	0,491	-0,383	-1,069
MO, g/ave/dia	57	14	53,32	53,61	46,00	59,24	0,461	-0,286	-0,857
CA, g/g	72	18	2,173	2,149	1,770	2,55	0,018	-0,114	0,630
PC, %	95	20	9,938	9,810	8,10	11,41	0,089	-0,135	-1,034
EC, mm	98	20	0,385	0,386	0,321	0,454	0,003	-0,072	0,292
GE, g/cm <sup>3</sup>	56	16	1,083	1,084	1,075	1,097	0,0008	0,424	-0,509
Ctb, %	24	8	54,05	54,45	40,50	60,50	1,140	-1,361	1,633

<sup>a</sup> Leeson et al. (1993), Keshavarz et al. (1993), Keshavarz (1996), Chowdhury e Smith (2002), Schreiweis et al. (2003), Rao et al. (2003), Keshavarz (2003), Castillo et al. (2004), Narváez-Solarte et al. (2006), Pelícia (2008), Costa et al. (2008), Safaa et al. (2008), Pelícia et al. (2009), Murata et al. (2009), Pelícia et al. (2011), Araujo et al. (2011), Berto et al (2013a), Berto et al (2013b), Jiang et al. (2013), Rodrigues et al. (2013), Maciel et al. (2015), Swiatkiewicz et al. (2015a), Swiatkiewicz et al. (2015b).

<sup>b</sup> No: número de observações

<sup>c</sup> Ne: número de ensaios.

<sup>d</sup> Min: mínimo.

<sup>e</sup> Máx: máximo.

<sup>f</sup> EP: erro padrão da média.

<sup>g</sup> Ca: cálcio, Pd: fósforo disponível, EM: energia metabolizável, PB: proteína bruta, Lis: Lisina, Met: metionina, IF: idade final, DE: duração do ensaio, Ano.pub: ano de publicação do ensaio.

<sup>h</sup> CR: consumo de ração, ProdOvo: produção de ovos, PO: peso dos ovos, MO: massa de ovos, CA: conversão alimentar, PC: porcentagem de casca do ovo, EC: espessura da casca do ovo, GE: gravidade específica do ovo, Ctb: porcentagem de cinzas na tibia.



### 3.3.1. Desempenho produtivo

O efeito linear (coeficiente linear Ca) dos níveis dietéticos de Ca sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 2. Os resultados mostram que as variáveis CR, MO e CA foram influenciadas pelos níveis dietéticos de Ca, onde os coeficientes lineares Ca estimados foram diferentes de zero, com valor de P igual a 0,0007 para CR, 0,0415 para MO e 0,0037 para CA. Consequentemente, pode-se afirmar que o desempenho produtivo de galinhas poedeiras está ligado de forma linear aos níveis de Ca. Além disso, foi possível observar que a correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Ca para as variáveis CR, MO e CA foram iguais a -0,329, -0,781 e -0,886, respectivamente, indicando que o efeito do Ca teve uma relação de moderada a forte com os valores dessas variáveis respostas. Por se tratarem de correlações negativas, o resultado indica que quanto maior os resultados destas variáveis respostas, menor será o efeito linear do Ca dietético.

Por outro lado, ProdOvo e PO não foram linearmente influenciadas pelos níveis de Ca da dieta, ou seja, os coeficientes lineares Ca estimados não foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,2043 para ProdOvo e 0,1723 para PO (Tabela 2). Deste modo, pode-se afirmar que a ProdOvo e PO não estão linearmente relacionadas ao nível de Ca da dieta. A correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Ca para a variável ProdOvo foi igual a -0,825 e para PO foi de -0,413, indicando que a ausência do efeito do Ca na dieta tem relações forte e moderada, respectivamente, com os valores dessas variáveis respostas.

**Tabela 2.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) para consumo de ração (CR), produção de ovos (ProdOvo), peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor ± EP)	Coeficiente linear Ca (Valor ± EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
CR, g	112,83 ± 2,48 ***	-0,0813 ± 0,02 ***	-0,329	376,2	385,7
ProdOvo, %	80,54 ± 2,33 ***	0,0693 ± 0,06	-0,825	438,1	436,2
PO, g	61,86 ± 1,10 ***	0,0173 ± 0,01	-0,413	228,0	236,7
MO, g/ave/dia	49,51 ± 1,59 ***	0,0735 ± 0,04 *	-0,781	213,4	220,6
CA, g/g	2,404 ± 0,07 ***	-0,0056 ± 0,002 **	-0,886	-75,5	-67,5

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Ca.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

O efeito quadrático (coeficiente linear e quadrático de Ca) dos níveis dietéticos de Ca sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 3. Esses resultados indicaram que as variáveis CR e PO não foram influenciadas de forma quadrática pelos níveis dietéticos de Ca, os coeficientes lineares Ca e quadráticos Ca\*Ca estimados não foram diferentes de zero, com valor de P do coeficiente quadrático Ca\*Ca igual a 0,6403 para CR e 0,1011 para PO. Conseqüentemente, é possível afirmar que não existe uma relação quadrática entre CR e PO e os níveis de Ca da dieta. Por sua vez, as variáveis ProdOvo, MO e CA foram influenciadas pelos níveis dietéticos de Ca de forma quadrática. Os coeficientes lineares Ca e quadráticos Ca\*Ca estimados foram diferentes de zero, com valor de P para o coeficiente quadrático Ca\*Ca igual a 0,0266 para ProdOvo, 0,0143 para MO e 0,0048 para CA. Assim, é possível afirmar que existe uma relação quadrática entre estas variáveis e os níveis de Ca da dieta. A correlação observada entre o intercepto e o coeficiente quadrático Ca\*Ca para as variáveis de desempenho produtivo foi igual a 0,854 para CR; 0,967 para ProdOvo; 0,897 para PO; 0,964 para MO e 0,969 para CA, indicando que o efeito do Ca\*Ca quadrático ou ausência dele tem relação forte com os valores dessas variáveis respostas. Além disso, por se tratar de correlações positivas, foi possível observar que quanto maior os resultados dessas variáveis respostas, maior será o efeito do Ca quadrático.

**Tabela 3.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) e cálcio quadrático (Ca\*Ca) para consumo de ração (CR), produção de ovos (ProdOvo), peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor ± EP)	Coeficiente linear Ca (Valor ± EP)	Coeficiente quadrático (Ca*Ca) (Valor ± EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
CR, g	114,75 ± 4,77 ***	-0,1903 ± 0,23	0,0015 ± 0,003	0,854	387,7	399,4
ProdOvo, %	60,87 ± 8,92 ***	1,2027 ± 0,50 *	-0,0158 ± 0,01 *	0,967	443,1	454,6
PO, g	58,16 ± 2,47 ***	0,2272 ± 0,13	-0,0029 ± 0,002	0,897	238,1	249,0
MO, g/ave/dia	35,10 ± 5,76 ***	0,8867 ± 0,32 **	-0,0112 ± 0,004 *	0,964	218,2	227,1
CA, g/g	3,209 ± 0,28 ***	-0,052 ± 0,02 **	0,0006 ± 0,0002 **	0,969	-67,0	-56,6

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e o coeficiente quadrático Ca\*Ca.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

De acordo com resultados do efeito linear e quadrático dos níveis dietéticos de Ca sobre o desempenho produtivo com modelo de base de teste, disponíveis nas Tabelas 2 e 3, respectivamente, foi definido a melhor relação entre as variáveis CR, ProdOvo, PO, MO, CA e os níveis dietético de Ca (Figura 1). Posteriormente, foi realizada a inclusão das covariáveis candidatas uma a uma no modelo de base de teste para definição do modelo final.

Para CR apenas a relação linear com os níveis dietéticos de Ca foi significativa (Tabela 2), enquanto para ProdOvo apenas a relação quadrática foi significativa (Tabela 3). Por este motivo, a continuidade das análises destas variáveis foi realizada com esses respectivos modelos (Figura 1). As variáveis MO e CA foram influenciadas significativamente de forma linear e quadrática (Tabela 2 e 3). De acordo, com os indicadores de qualidade de ajuste para CA, o modelo quadrático (AIC = -67,0 e BIC = -56,6) teve melhor ajuste em relação ao modelo linear (AIC = -75,5 e BIC = -67,5). No entanto, para MO, os indicadores de qualidade de ajuste apontaram que o ajuste do modelo linear (AIC = 213,4 e BIC = 220,6) foi superior em relação ao modelo quadrático (AIC = 218,2 e BIC = 227,1). Em ambos os casos, a escolha foi pelo modelo quadrático (Figura 1), considerando a possibilidade do processo de determinação do nível ótimo utilizando as derivadas parciais do modelo obtido. A variável PO não foi influenciada significativamente pelas funções polinomiais dos níveis dietéticos de Ca (Tabela 2 e 3), neste caso, foi feita a opção pelo modelo linear (Figura 1). Primeiramente, por se tratar de um modelo mais simples, além disso, os parâmetros de qualidade de ajuste são favoráveis ao ajuste do modelo linear (AIC = 228,0 e BIC = 236,7) em relação ao ajuste do modelo quadrático (AIC = 238,1 e BIC = 249,0).

Durante a inclusão das covariáveis nos modelos de base de teste para desempenho produtivo foi verificado que EM, PB, Lis, Met, IF e tipo de linhagem foram significativas em pelo menos uma das variáveis dependentes. Posteriormente, foi verificado se a inclusão das covariáveis significativas melhoravam os ajustes dos modelos base de teste usando o BIC. Para CR, as covariáveis significativas foram EM (P = 0,0426), Met (P = 0,0136) e Linhagem (M) (P = 0,0222). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Met (356,5), Linhagem (M) (379,6) e EM (382,2) com o valor do modelo de base de teste com Ca (385,7), verificou-se que EM, Met e Linhagem (M) foram capazes de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foram incluídas no modelo final. Para ProdOvo, a única covariável significativa foi IF (P = 0,0116). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de IF (455,5) com o valor do modelo de base de teste com Ca (454,6), verificou-se que IF não foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, não foi incluída no modelo final.

Para PO, as covariáveis significativas foram PB ( $P = 0,0230$ ), Lis ( $P = 0,0063$ ) e IF ( $P = 0,0006$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Lis (209,5), IF (232,2) e PB (239,7) com o valor do modelo de base de teste com Ca (236,7), verificou-se que Lis e IF foram capazes de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foram incluídas no modelo final. Para MO, a única covariável significativa foi EM ( $P = 0,0095$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de EM (230,5) com o valor do modelo de base de teste com Ca (227,1), verificou-se que EM não foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, não foi incluída no modelo final. Para CA, as covariáveis significativas foram PB ( $P = 0,0110$ ), Lis ( $P = 0,0330$ ) e Linhagem (M) ( $P = 0,0285$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Lis (-32,4), PB (-48,6) e Linhagem (M) (-54,0) com o valor do modelo de base de teste com Ca (-71,6), verificou-se que PB, Lis e Linhagem (M) foram capazes de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foram incluídas no modelo final.

Os efeitos não significativos das covariáveis candidatas relacionadas aos ensaios incluídas nos modelos de base de teste para CR, ProdOvo, PO, MO e CA sugerem que essas covariáveis não foram capazes de fornecer uma explicação abrangente para variabilidade entre os ensaios. Isto pode ser interpretado como causa dos níveis das covariáveis pouco variáveis entre os ensaios e/ou pelo fato de uma determinada covariável apresentar um efeito limitado, ou mesmo, nenhum efeito na variável resposta.

Os efeitos dos níveis dietéticos de Ca no desempenho produtivo de galinhas poedeiras estimados com os modelos finais e completos estão apresentados na Tabela 4. Os resultados da meta-análise mostraram que os níveis de Ca da dieta influenciaram o desempenho produtivo de galinhas poedeiras. Conseqüentemente, pode-se afirmar que o CR, ProdOvo, MO e CA de galinhas poedeiras estão intimamente ligadas ao nível de Ca da dieta (Figura 1). O resultado sustenta a hipótese de que a quantidade de Ca depositada na casca do ovo é próxima de 10% do estoque total de Ca no corpo da ave, de tal modo, o Ca é fundamental para manutenção e produção dos ovos (Elaroussi et al., 1994; Baião e Lúcio, 2005).

Durante o ajuste do modelo final para variável CR, além do Ca, as covariáveis incluídas no modelo final como efeito fixo foram EM, Met e Linhagem (M) (Tabela 4). Para EM, Met e Linhagem (M) os coeficientes estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a  $<0,0001$ , 0,0353 e 0,0003, respectivamente. A presença da Linhagem (M) no modelo final aumenta o valor esperado para CR em 11,86 g. O resultado confirma que as galinhas poedeiras brancas têm menor consumo de ração do que as galinhas poedeiras marrons (Hy-Line Brown, 2014; Hy-Line W36, 2015; Rostagno et al., 2017). O coeficiente linear da EM no modelo final corrobora o efeito decrescente dos níveis de EM da dieta no

CR, reduzindo o valor esperado em 11,12 g com o incremento de 100 kcal/kg de EM na dieta. O coeficiente linear da Met indicou efeito decrescente dos níveis de Met da dieta no CR, reduzindo o valor esperado em 7,49 g com o incremento de 1 g/kg de Met na dieta.

A variável CR foi linearmente influenciada pelos níveis de Ca da dieta (Figura 1), o coeficiente linear Ca estimado foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0007 (Tabela 4). De acordo com os resultados, as aves reduziram 0,83% no CR em função do aumento do nível de Ca de 30,0 para 40,0 g/kg. Deste modo, foi possível verificar que a redução no CR causada pelos níveis de Ca, apesar de significativa, foi pequena. O incremento de Ca na dieta é capaz de induzir uma redução do consumo de ração em galinhas poedeiras, de tal modo, um excesso de Ca na ração pode trazer problemas com a palatabilidade, resultando em uma redução significativa no consumo de galinhas poedeiras (Roland et al., 1996). Além disso, o intenso melhoramento genético para eficiência produtiva de algumas linhagens tem causado queda na ingestão de ração, agravados por desafios sanitários, ambientais e de manejo. Neste contexto, a redução no consumo de ração, mesmo que pequena, pode aumentar o problema de baixa ingestão de ração que algumas linhagens têm apresentado.

O modelo final para ProdOvo não incluiu nenhuma covariável, sendo o mesmo de base de teste, com Ca e Ca\*Ca como efeito fixo (Tabela 4). A variável ProdOvo foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Figura 1), os coeficientes linear e quadrático de Ca estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0196 e 0,0266, respectivamente. De acordo com modelo final, a melhora na ProdOvo com aumento do nível de Ca de 30,0 para 40,0 g/kg foi 4,16% superior, resultando em 1,13% a mais de produção de ovos. A exigência nutricional de Ca para a maior ProdOvo obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 37,99 g/kg. O Ca é fundamental para manutenção e produção de ovos em galinhas poedeiras, durante a formação da casca do ovo aproximadamente 10% do estoque corporal deste mineral nas aves é depositada na casca (Elaroussi et al., 1994; Baião e Lúcio, 2005). Neste contexto, o Ca é adicionado à dieta das galinhas poedeiras para manter a alta produção de ovos destas aves.

O modelo final para PO continha além do Ca, Lis e IF como efeito fixo (Tabela 4). Os coeficientes estimados de Lis e IF foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0396 e 0,0011, respectivamente. Contudo, a variável PO não foi influenciada linearmente pelos níveis de Ca da dieta, o coeficiente linear Ca estimado não foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,1892.

O modelo final para MO incluiu como efeito fixo apenas Ca e Ca\*Ca (Tabela 4). A variável MO foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Figura 1), os

coeficientes linear e quadrático de Ca estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0285 e 0,0143, respectivamente. De acordo com modelo final, um incremento do nível de Ca de 30,0 para 40,0 g/kg promove um incremento 5,85% na MO, resultando em 2,01% a mais de massa de ovos. A exigência nutricional de Ca para a maior MO obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 39,59 g/kg. As pesquisas sugerem que uma redução significativa do consumo de galinhas poedeiras, causado pelo excesso de Ca resulte em uma queda na produção e peso dos ovos (Roland et al., 1996). Por outro lado, um consumo reduzido de Ca também pode provocar redução no tamanho e na produção dos ovos (Rodrigues et al., 2005).

O modelo final para CA incluiu além do Ca e Ca\*Ca, a PB, Lis e Linhagem (M) como efeito fixo (Tabela 4). Os coeficientes de Lis e Linhagem (M) não foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,7689 e 0,5493, respectivamente. O coeficiente de PB foi diferente de zero com valor de P igual a 0,0065. A presença de PB no modelo final reduz o valor esperado para CA em 0,077 g/g com o incremento de 10 g/kg de PB na dieta. A variável CA foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Figura 1), os coeficientes linear e quadrático de Ca estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0046 e 0,0142, respectivamente. De acordo com modelo final, a redução na CA com aumento do nível de Ca de 30,0 para 40,0 g/kg foi 6,33%, resultando em uma melhora de 2,89% na conversão alimentar. A exigência nutricional de Ca para a menor CA obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 40,08 g/kg.

As estimativas dos parâmetros, RMSE e  $R^2$  dos modelos para as variáveis de desempenho estão relatados na Tabela 4. O coeficiente linear do Ca significativo, fornece evidência conclusiva de relação linear entre a variável CR e os níveis de Ca na dieta. Por sua vez os coeficientes quadráticos Ca\*Ca significativos fornecem evidências de relação curvilínea entre as variáveis ProdOvo, MO, CA e os níveis de Ca na dieta. Para essas variáveis respostas de desempenho, observou-se uma relação forte entre os valores preditos e observados: CR ( $R^2 = 0,99$ , RMSE = 1,02), ProdOvo ( $R^2 = 0,89$ , RMSE = 2,1), MO ( $R^2 = 0,93$ , RMSE = 0,99) e CA ( $R^2 = 0,85$ , RMSE = 0,06) (Ahmadi e Rodehutschord, 2012). Os gráficos dos resíduos (observado menos predito) versus os valores previstos não evidenciou viés de predição linear ou não-linear para os modelos. Além disso, foi possível verificar nos gráficos quantil-quantil que os pontos dos resíduos tendem a estar ao longo da linha de referência, indicando que os resíduos têm uma distribuição de probabilidade aproximadamente normal (Figura anexo 1).

**Tabela 4.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com cálcio (Ca) ou cálcio (Ca) mais cálcio quadrático (Ca\*Ca) e covariáveis candidatas para consumo de ração (CR), produção de ovos (Prod. ovo), peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO) e conversão alimentar obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras

Parâmetro	CR, g	ProdOvo, %	PO, g	MO, g/ave/dia	CA, g/g
	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)
Intercepto	448,648 ± 63,2 ***	60,871 ± 8,91 ***	64,621 ± 6,54 ***	35,095 ± 5,76 ***	4,2467 ± 0,65 ***
Ca	-0,0886 ± 0,02 ***	1,2027 ± 0,50 *	0,0184 ± 0,01	0,8867 ± 0,32 *	-0,0497 ± 0,02 **
Ca*Ca	—	-0,0158 ± 0,006 *	—	-0,0112 ± 0,004 *	0,00062 ± 0,0002 *
EM	-0,1112 ± 0,02 ***	—	—	—	—
PB	—	—	—	—	-0,0077 ± 0,006 **
Lis	—	—	-1,4004 ± 0,66 *	—	0,0173 ± 0,07
Met	-7,4944 ± 3,65 *	—	—	—	—
IF	—	—	0,1568 ± 0,04 **	—	—
Linhagem (M)	-11,863 ± 2,66 ***	—	—	—	0,0506 ± 0,08
Resumo do ajuste					
n observações	74	77	60	47	54
n ensaios	19	22	17	14	16
RMSE <sup>a</sup>	1,0154	2,1000	0,5095	0,9851	0,0641
R <sup>2</sup>	0,988	0,885	0,981	0,929	0,849
AIC <sup>b</sup>	328,0	443,1	193,8	218,2	-31,5
BIC <sup>c</sup>	343,7	454,6	206,0	227,1	-16,5

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>1</sup> A unidade do intercepto e linhagem (M) correspondem a mesma unidade que a respectiva variável dependente. A unidade de Ca, Ca\*Ca, PB, Lis, Met correspondem a g/kg e de EM corresponde a kcal/kg. A unidade de IF corresponde a anos.

<sup>a</sup> Raiz do erro quadrático médio.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

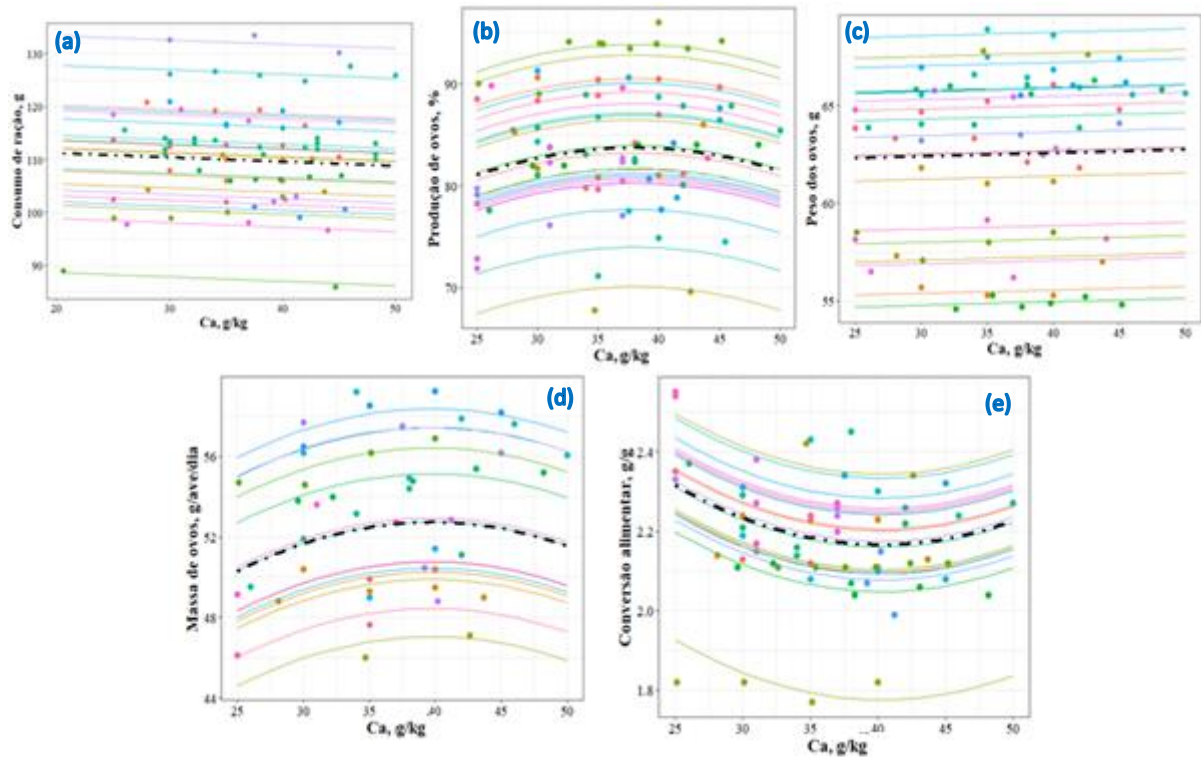


Figura 3. Consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e) em função do nível de Ca na dieta de galinhas poedeiras. As observações e a predição para cada ensaio são representadas por pontos e linhas coloridas, respectivamente. A linha tracejada representa os efeitos fixos para o intercepto e nível de Ca do modelo linear misto.

O efeito benéfico do incremento de Ca na dieta sobre o desempenho produtivo vem sendo relatado entre os pesquisadores (Castillo et al., 2004; Celebi e Bolukbasi, 2006; Narváez-Solarte et al., 2006; Murata et al., 2009; Pelicia et al., 2011; Vellasco et al., 2016). Embora o excesso de Ca possa levar a redução significativa do consumo de ração, queda na produção e no peso dos ovos. Além disso, altos níveis de Ca em rações de postura podem interferir na disponibilidade de outros minerais (Roland et al., 1996). Neste contexto, os resultados da meta-análise evidenciam que o desempenho de poedeiras pode ser melhorado com a utilização de um nível Ca mais adequado (Figura 1). De tal modo que dietas com níveis de Ca iguais a 37,99; 39,58 e 40,08 g/kg proporcionam a melhor produção de ovos, massa de ovos, e conversão alimentar, respectivamente. Os níveis de Ca recomendados variaram em função da variável e de suas interações com fatores que influenciam as exigências nutricionais, como o manejo, condições ambientais, ingredientes da dieta, fase de produção, linhagem, entre outras.

O nível médio de Ca da dieta necessário para um melhor desempenho produtivo observado na meta-análise foi 39,22 g/kg. Este nível está mais próximo das recomendações



nutricionais de Ca em edições mais antigas das tabelas nutricionais e manuais de linhagens (NRC, 1994; Leeson e Summers, 2001; Rostagno et al., 2011).

### 3.3.2. Qualidade óssea e da casca de ovos

O efeito linear (coeficiente linear Ca) dos níveis dietéticos de Ca sobre a qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 5. Os resultados mostram que as variáveis PC, EC, GE e Ctb foram influenciadas linearmente pelos níveis de Ca na dieta, onde os coeficientes lineares Ca estimados foram diferentes de zero, com valor de P igual a  $< 0,0001$  para PC,  $< 0,0001$  para EC,  $< 0,0001$  para GE e  $0,0215$  para Ctb. Consequentemente, pode-se sugerir que a qualidade óssea e da casca de ovos estão intimamente ligadas aos níveis dietéticos de Ca. A correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Ca foi igual a  $-0,652$  para PC,  $-0,789$  para EC,  $-0,445$  para GE e  $-0,406$  para Ctb (Tabela 5), indicando que o efeito do Ca na dieta tem relações fortes e moderadas com os valores dessas variáveis respostas. Além disso, por se tratar de correlações negativas, foi possível observar que quanto maior os resultados dessas variáveis respostas, menor será o efeito linear do Ca.

**Tabela 5.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) para porcentagem de casca do ovo (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor $\pm$ EP)	Coefficiente linear Ca (Valor $\pm$ EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
PC, %	8,54 $\pm$ 0,21 ***	0,028 $\pm$ 0,004 ***	-0,652	76,4	86,5
EC, mm	0,331 $\pm$ 0,010 ***	0,0013 $\pm$ 0,0002 ***	-0,789	-462,3	-452,3
GE, g/cm <sup>3</sup>	1.0787 $\pm$ 0,002 ***	0,00013 $\pm$ 0,00002 ***	-0,445	-504,5	-496,6
Ctb, %	52,236 $\pm$ 2,325 ***	0,0670 $\pm$ 0,026 *	-0,406	95,8	100,1

\*\*\* P-valor  $\leq 0,001$ ; \*\* P-valor  $\leq 0,01$ ; \* P-valor  $\leq 0,05$ .

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Ca.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

O efeito quadrático (coeficiente linear e quadrático de Ca) dos níveis dietéticos de Ca sobre a qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 6. As variáveis de qualidade da casca PC, EC e GE foram influenciadas pelos níveis dietéticos

de Ca de forma quadrática. Os coeficientes lineares Ca e quadráticos Ca\*Ca foram diferentes de zero, com valor de P para o coeficiente quadrático Ca\*Ca igual a  $< 0,0001$  para PC, 0,0385 para EC e 0,0001 para GE. Conseqüentemente, pode-se afirmar que existe evidências de forte relação quadrática entre essas variáveis e os níveis de Ca da dieta. Por outro lado, a variável Ctb não foi influenciada de forma quadrática pelos níveis dietéticos de Ca, os coeficientes lineares Ca e quadráticos Ca\*Ca estimados não foram significativamente diferentes de zero, com valor de P para o coeficiente quadrático Ca\*Ca igual a 0,1047 para Ctb. Conseqüentemente, foi possível verificar que não existe uma relação quadrática entre essa variável e os níveis de Ca da dieta. A correlação observada entre o intercepto e o coeficiente quadrático Ca\*Ca foi igual a 0,941 para PC, 0,924 para EC, 0,892 para GE e 0,922 para Ctb, indicando que o efeito do Ca\*Ca ou ausência desse efeito têm relações fortes com os valores dessas variáveis respostas. Além disso, por se tratar de correlações positivas, foi possível observar que quanto maior os resultados dessas variáveis respostas, maior será o efeito quadrático do Ca.

**Tabela 6.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com cálcio (Ca) e cálcio quadrático (Ca\*Ca) para porcentagem da casca (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tibia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor $\pm$ EP)	Coeficiente linear Ca (Valor $\pm$ EP)	Coeficiente quadrático (Ca*Ca) (Valor $\pm$ EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
PC, %	5,72 $\pm$ 0,55 ***	0,191 $\pm$ 0,03 ****	-0,002 $\pm$ 0,0004 ***	0,941	66,5	79,1
EC, mm	0,261 $\pm$ 0,04 ***	0,0054 $\pm$ 0,002 **	-0,00006 $\pm$ 0,00003 *	0,924	-445,5	-433,1
GE, g/cm <sup>3</sup>	1,0632 $\pm$ 0,004 ***	0,0010 $\pm$ 0,0002 ***	-1,0x10 <sup>-5</sup> $\pm$ 2,0x10 <sup>-6</sup> ***	0,892	-495,4	-485,6
Ctb, %	61,692 $\pm$ 5,91 ***	-0,470 $\pm$ 0,31	0,0075 $\pm$ 0,004	0,922	103,9	109,2

\*\*\* P-valor  $\leq$  0,001; \*\* P-valor  $\leq$  0,01; \* P-valor  $\leq$  0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e o coeficiente quadrático Ca\*Ca.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

De acordo com resultados do efeito linear e quadrático dos níveis dietéticos de Ca sobre qualidade óssea e da casca de ovos com modelo de base de teste, disponíveis nas Tabelas 10 e 11, respectivamente, foi definido a melhor relação entre as variáveis PC, EC, GE, Ctb e os níveis dietéticos de Ca (Figura 2). Em seguida, foi realizada a inclusão das covariáveis candidatas uma a uma no modelo de base de teste para definição do modelo final.

As variáveis PC, EC e GE foram influenciadas significativamente de forma linear e quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Tabela 5 e 6). De acordo, com os indicadores de qualidade de ajuste o modelo quadrático para PC (AIC = 66,5 e BIC = 79,1), EC (AIC = -445,5 e BIC = -433,1) e GE (AIC = -495,4 e BIC = -485,6), tiveram melhor ajuste em relação ao modelo linear: PC (AIC = 76,4 e BIC = 86,5), EC (AIC = -462,3 e BIC = -452,3) e GE (AIC = -504,5 e BIC = -496,6). Nestes casos, a escolha pelos modelos quadráticos foi realizada considerando a melhor qualidade de seus ajustes e, principalmente, a possibilidade do processo de determinação dos níveis ótimos utilizando as derivadas parciais do modelo obtido (Figura 2). A variável Ctb só foi influenciada linearmente pelos níveis dietéticos de Ca. Além disso, os parâmetros de qualidade de ajuste são favoráveis ao ajuste do modelo linear (AIC = 95,8 e BIC = 100,1) em relação ao ajuste do modelo quadrático (AIC = 103,9 e BIC = 109,2) (Tabela 5 e 6). Conseqüentemente, para Ctb foi feita a opção pelo modelo linear (Figura 2).

Durante a inclusão das covariáveis nos modelos de base de teste para qualidade óssea e da casca de ovos foi verificado que Lis, IF e tipo de linhagem foram significativas em pelo menos uma das variáveis dependentes. Posteriormente, foi verificado se a inclusão das covariáveis significativas melhoravam os ajustes dos modelos base de teste usando o BIC. Para PC, a única covariável significativa foi Linhagem (M) ( $P = 0,0008$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Linhagem (M) (72,6) com o valor do modelo de base de teste com Ca (79,1), verificou-se que Linhagem (M) foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foi incluída no modelo final. Para EC, as covariáveis significativas foram Lis ( $P = 0,0315$ ) e IF ( $P \leq 0,0001$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Lis (-375,7) e IF (-439,6) com o valor do modelo de base de teste com Ca (-433,1), verificou-se que apenas Lis foi capaz de melhorar o ajuste do modelo, no entanto, sua inclusão no modelo faz com que o efeito do Ca\*Ca estimado seja não significativo ( $P = 0,1294$ ). Deste modo, Lis e IF não foram incluídas no modelo final. Para GE, a única covariável significativa foi Linhagem (M) ( $P \leq 0,0001$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Linhagem (M) (-484,5) com o valor do modelo de base de teste com Ca (-485,6), verificou-se que Linhagem (M) foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foi incluída no modelo final. Para Ctb, nenhuma das covariáveis foi significativa e, por isso, não foram incluídas no modelo final.

Os efeitos não significativos das covariáveis candidatas relacionadas aos ensaios incluídas nos modelos de base de teste para PC, EC, GE e Ctb, sugerem que essas covariáveis não foram capazes de fornecer uma explicação abrangente para variabilidade entre os ensaios.

Isto pode ser interpretado como causa dos níveis das covariáveis pouco variáveis entre os ensaios e/ou pelo fato de uma determinada covariável apresentar um efeito limitado, ou mesmo, nenhum efeito na variável resposta.

Os efeitos dos níveis dietéticos de Ca na qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras estimados com os modelos finais estão apresentados na Tabela 7. Os resultados da meta-análise mostraram que os níveis de Ca da dieta influenciaram a qualidade do ovo e óssea de galinhas poedeiras. Conseqüentemente, é possível afirmar que a PC, EC, GE e Ctb estão intimamente ligadas ao nível de Ca da dieta (Figura 2). Os resultados sustentam a evidência de que a casca mineralizada consiste de aproximadamente 95% de carbonato de Ca, sob a forma de calcita, seu polimorfo mais estável (Nys et al., 2004). Deste modo, o Ca está diretamente relacionado à formação e qualidade dos ovos, influenciando entre outras variáveis, a gravidade específica e espessura da casca (Vieira et al., 2012).

O modelo final para PC incluiu Ca, Ca\*Ca e Linhagem (M) como efeito fixo (Tabela 7). O coeficiente de Linhagem (M) estimado foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0008. A presença da Linhagem (M) no modelo final aumenta o valor esperado para PC em 0,8879%. Assim, pode ser que ovos de galinhas poedeiras marrons tenham uma maior quantidade de casca em comparação as galinhas brancas. A variável PC foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Figura 2) e os coeficientes linear e quadrático de Ca estimados foram diferentes de zero, com valores de  $P \leq 0,0001$ . De acordo com modelo final, o incremento na PC com aumento do nível de Ca de 35,0 para 45,0 g/kg foi 2,63% superior, resultando em 1,12% a mais de porcentagem de casca do ovo. A exigência nutricional de Ca para a maior PC obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 42,41 g/kg.

O modelo final para EC inclui apenas Ca e Ca\*Ca como efeito fixo (Tabela 7). A variável EC foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Figura 2), os coeficientes linear e quadrático de Ca estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0070 e 0,0385, respectivamente. De acordo com modelo final, o incremento na EC com aumento do nível de Ca de 35,0 para 45,0 g/kg foi 6,61% superior, resultando em 2,16% a mais de espessura da casca. A exigência nutricional de Ca para a maior EC obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 47,37 g/kg. O resultado confirma que a maior concentração de Ca na dieta, melhora a EC, embora o excesso de Ca possa resultar em prejuízos na qualidade da casca e no desempenho das galinhas poedeiras (Roland et al., 1996).

O modelo final para GE incluiu Ca, Ca\*Ca e Linhagem (M) como efeito fixo (Tabela 7). O coeficiente de Linhagem (M) foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0006. A

presença da Linhagem (M) no modelo final aumenta o valor esperado para GE em 0,0109 g/cm<sup>3</sup>. Os resultados encontrados para GE e PC relacionados à covariável tipo de linhagem, sugerem que os ovos de galinhas poedeiras marrons apresentam características de uma melhor qualidade de casca em comparação aos ovos de galinhas brancas. A variável GE foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Ca da dieta (Figura 2), os coeficientes linear e quadrático de Ca estimados foram diferentes de zero, com valor de P igual a  $\leq 0,0001$ . De acordo com modelo final, o incremento na GE com o incremento do nível de Ca de 35,0 para 45,0 g/kg foi 3,72% superior, resultando em 0,07% de aumento na gravidade específica. A exigência nutricional de Ca para a maior GE obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 43,27 g/kg.

Para Ctb o modelo final inclui apenas Ca como efeito fixo (Tabela 7). A variável Ctb foi influenciada de forma linear pelos níveis de Ca da dieta (Figura 2), onde o coeficiente linear Ca estimado foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0215. De acordo como modelo final um incremento do nível de Ca de 35,0 para 45,0 g/kg resultaria no aumento de 1,21% de cinzas na tibia. As galinhas poedeiras absorvem ativamente o Ca da dieta, quando essa absorção sustenta sua utilização pela glândula da casca, o Ca excedente é depositado nos ossos medulares, por sua vez, quando a absorção não é satisfatória, os teores de Ca no sangue diminuem estimulando a mobilização óssea (Bertechini, 2012). Neste contexto, os resultados da meta-análise sustentam que uma maior disponibilidade de Ca não resulta apenas em benefícios à qualidade da casca, mas também em uma menor mobilização do Ca ósseo, melhorando a quantidade de minerais e a qualidade dos ossos das aves.

As estimativas dos parâmetros, RMSE e R<sup>2</sup> dos modelos para as variáveis de qualidade óssea e da casca de ovos estão relatados na Tabela 7. Os coeficientes quadráticos Ca\*Ca significativos fornecem evidências de uma relação curvilínea entre os níveis de Ca na dieta e as variáveis PC, EC e GE. Por sua vez, o coeficiente linear Ca significativo para Ctb, fornece evidência conclusiva de uma relação linear entre a variável Ctb e os níveis de Ca na dieta. Para as variáveis respostas de qualidade óssea e da casca de ovos observou-se uma relação forte entre os valores preditos e observados: PC (R<sup>2</sup> = 0,96, RMSE = 0,17), EC (R<sup>2</sup> = 0,84, RMSE = 0,01), GE (R<sup>2</sup> = 0,99, RMSE = 0,0006) e Ctb (R<sup>2</sup> = 0,99, RMSE = 0,47) (Ahmadi e Rodehutschord, 2012). Os gráficos dos resíduos (observado menos predito) versus os valores previstos não evidenciou viés de predição linear ou não-linear para os modelos. Além disso, foi possível verificar nos gráficos quantil-quantil que os pontos dos resíduos tendem a estar ao longo da linha de referência, indicando que os resíduos têm uma distribuição de probabilidade aproximadamente normal (Figura anexo 2).

**Tabela 7.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com cálcio (Ca) ou cálcio (Ca) mais cálcio quadrático (Ca\*Ca) e covariáveis candidatas para porcentagem de casca do ovo (PC), espessura de casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio em galinhas poedeiras

Parâmetro	PC, %	EC, mm	GE, g/cm <sup>3</sup>	Ctb, %
	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)
Intercepto	5,379 ± 0,55 ***	0,2611 ± 0,03 ***	1,0602 ± 0,004 ***	52,236 ± 2,33 ***
Ca	0,1876 ± 0,03 ***	0,0055 ± 0,002 **	0,000995 ± 0,0002 ***	0,0670 ± 0,03 *
Ca*Ca	-0,0022 ± 0,0004 ***	-0,00006 ± 0,00003 *	-0,00001 ± 0,000002 ***	—
Linhagem (M)	0,8879 ± 0,22 ***	—	0,0109 ± 0,003 ***	—
Resumo do ajuste				
n observações	95	92	56	24
n ensaios	20	20	16	8
RMSE	0,1710	0,0107	0,0006	0,4693
R <sup>2</sup>	0,960	0,836	0,988	0,994
AIC <sup>a</sup>	57,5	-445,4	-496,2	91,8
BIC <sup>b</sup>	72,6	-433,0	-484,5	91,9

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>1</sup> A unidade do intercepto e Linhagem (M) correspondem a mesma unidade que a respectiva variável dependente. A unidade de Ca e Ca\*Ca correspondem a g/kg.

<sup>a</sup> Raiz do erro quadrático médio.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

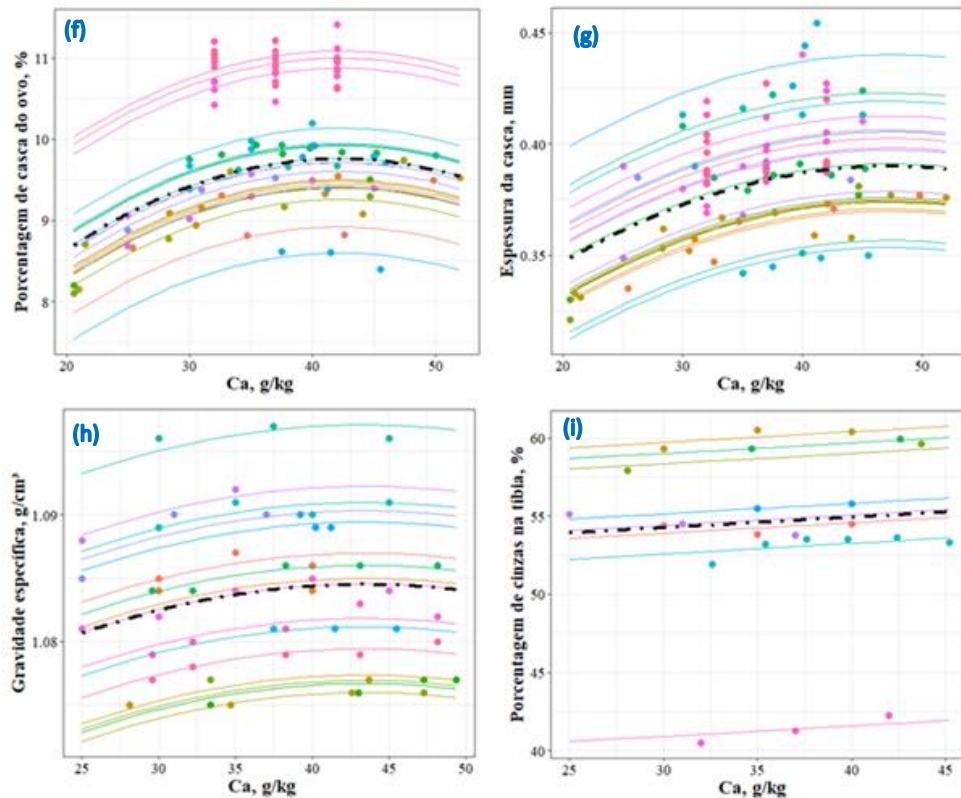


Figura 2. Porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tíbia (i) em função do nível de Ca na dieta de galinhas poedeiras. As observações e a predição para cada ensaio são representadas por pontos e linhas coloridas, respectivamente. A linha tracejada representa os efeitos fixos para o intercepto e nível de Ca do modelo linear misto.

Algumas pesquisas sugerem que não existe a necessidade de se elevar o nível de Ca dietético acima das recomendações para se conseguir uma adequada qualidade da casca (Castillo et al., 2004; Celebi e Bolukbasi, 2006; Jiang et al., 2013; Vellasco et al., 2016). Desta forma, evita problemas gerados pelo excesso de Ca na dieta, tais como a redução significativa do consumo de ração, queda na produção e no peso dos ovos (Roland et al., 1996). No entanto, considerando que um consumo reduzido de Ca pode provocar redução no desempenho e qualidade da casca reduzida com altos índices de quebra, anormalidades esqueléticas e aumento da mortalidade, alguns autores sugerem níveis de Ca na dieta superiores para melhora da qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras (Rodrigues et al., 2005; Maciel et al., 2015).

A contradição observada entre as recomendações dos níveis de Ca para qualidade da casca pode ser resultado de variações nas variáveis avaliadas e de suas interações com fatores que influenciam as exigências nutricionais, como o manejo, condições ambientais, ingredientes da dieta, fase de produção, linhagem, entre outras. Neste contexto, os resultados da meta-análise (Tabela 7) confirmam que o nível de Ca influencia a qualidade da casca de

ovos (Figura 2), de tal modo que dietas contendo níveis de Ca iguais a 42,41; 47,99 e 43,27 g/kg proporcionam melhor porcentagem de casca, espessura da casca e gravidade específica de ovos de galinhas poedeiras, respectivamente.

De acordo com a meta-análise, para uma melhor qualidade da casca de ovos o nível médio de Ca foi de 44,45 g/kg, que está mais próxima das recomendações nutricionais das últimas edições dos manuais de linhagens e tabelas nutricionais (Dekalb White, 2009; Dekalb Brown, 2009; Hy-Line Brown, 2014; Hy-Line W36, 2015; Rostagno et al., 2017). O nível médio de Ca adequado para melhor qualidade da casca de ovos (44,45 g/kg) foi superior ao nível médio de Ca para melhor desempenho (39,22 g/kg). Consequentemente, é possível dizer que atualmente, as recomendações nutricionais estão alinhadas e acompanhando os esforços do melhoramento genético na busca da garantia de uma melhor qualidade, resistência e segurança alimentar dos ovos de galinhas poedeiras.

### **3.4. CONCLUSÕES**

A abordagem meta-analítica permitiu definir a relação entre os níveis dietéticos de Ca e os critérios de desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos em galinhas poedeiras. Os resultados da meta-análise reforçam o fato de que o Ca é um mineral que está intimamente relacionado ao desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos em galinhas poedeiras, influenciando as variáveis consumo de ração, produção de ovos, conversão alimentar, porcentagem de casca, espessura da casca, gravidade específica do ovo e porcentagem de cinzas na tíbia.

O nível de Ca médio de 39,22 g/kg promove a máxima resposta de desempenho em galinhas poedeiras. No entanto, para a máxima resposta de qualidade da casca de ovos, as dietas das galinhas poedeiras devem conter um nível de Ca de médio de 44,45 g/kg.

A melhoria na padronização em relação aos tipos de variáveis respostas e suas unidades de medida para qualidade óssea e da casca de ovos é necessária, principalmente, no que diz respeito as respostas de resistência, força, análises histológicas e estruturais da casca do ovo e dos ossos, para que permitam a aplicação de meta-análise em avaliações nutricionais.



### 3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADI, H.; RODEHUTSCORD, M. A Meta-Analysis of Responses to Dietary Nonphytate Phosphorus and Phytase in Laying Hens. **Poultry Science**, v. 91, n. 8, p. 2072–2078, 1 ago. 2012.
- ARAÚJO, J. A. de; SILVA, J. H. V. da; COSTA, F. G. P.; SOUSA, J. M. B. de; GIVISIEZ, P. E. N.; SAKOMURA, N. K. Effect of the levels of calcium and particle size of limestone on laying hens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 997–1005, 2011.
- BAIÃO, N. C.; LÚCIO, C. G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. (Ed.). **Manejo de matrizes de corte**. Campinas: FACTA, 2005. p. 197–212.
- BERTECHINI, A. G. Metabolismo dos minerais. In: **Nutrição de monogástricos**. 2. ed revisada ed. Lavras: UFLA, 2012. p. 373.
- BERTO, D. A.; GARCIA, E. A.; VERCESE, F.; *et al.* Effects of dietary clinoptilolite and calcium levels on uric acid and calcium blood concentrations and bone quality of commercial layers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 15, n. 2, p. 145–150, 2013a.
- BERTO, D. A.; GARCIA, E. A.; PELÍCIA, K.; *et al.* Effects of dietary clinoptilolite and calcium levels on the performance and egg quality of commercial layers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 15, n. 3, p. 263–268, 2013b.
- BORENSTEIN, M.; HEDGES, L. V.; HIGGINS, J. P. T.; ROTHSTEIN, H. R. **Introduction to meta-analysis**. Chichester, U.K: John Wiley & Sons, 2009.
- CASTILLO, C.; CUCA, M.; PRO, A.; GONZÁLEZ, M.; MORALES, E. Biological and economic optimum level of calcium in white Leghorn laying hens. **Poultry science**, v. 83, n. 6, p. 868–872, 2004.
- ÇELEBI, S.; BÖLÜKBASI, S. C. Influence of Supplemental Calcium on Production Parameters and Eggshell Quality of Laying Hens in Late Laying Period. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 5, n. 4, p. 340–343, 2006.
- CHOWDHURY, S. R.; SMITH, T. K. Dietary interaction of 1, 4-diaminobutane (putrescine) and calcium on eggshell quality and performance in laying hens. **Poultry Science**, v. 81, n. 1, p. 84–91, 2002.
- COSTA, F. G. P.; OLIVEIRA, C. F. S; DOURADO, L. R. B.; *et al.* Níveis de cálcio em dietas para poedeiras semipesadas após o pico de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 624–628, 2008.
- ELAROUSSI, M. A.; FORTE, L. R.; EBER, S. L.; BIELLIER, H. V. Calcium Homeostasis in the Laying Hen.: 1. Age and Dietary Calcium Effects. **Poultry Science**, v. 73, n. 10, p. 1581–1589, 1 out. 1994.
- GRANJA PLANALTO DO BRASIL. Manual de manejo das poedeiras Dekalb White 2009. 38p. Disponível em: [www.granjaplanalto.com.br](http://www.granjaplanalto.com.br)

- GRANJA PLANALTO DO BRASIL. Manual de manejo das poedeiras Dekalb Brown 2009. 29p. Disponível em: [www.granjaplanalto.com.br](http://www.granjaplanalto.com.br)
- HY-LINE DO BRASIL. Manual de manejo comercial da Hy-line Brown 2014. 38p. Disponível em: [www.hyline.com.br](http://www.hyline.com.br)
- HY-LINE DO BRASIL. Manual de manejo comercial da Hy-line W-36 2015. 36p. Disponível em: [www.hyline.com.br](http://www.hyline.com.br)
- JIANG, S.; CUI, L.; SHI, C.; KE, X.; LUO, J.; HOU, J. Effects of Dietary Energy and Calcium Levels on Performance, Egg Shell Quality and Bone Metabolism in Hens. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 1, p. 252–258, out. 2013.
- KESHAVARZ, K.; SCOTT, M. L.; BLANCHARD, J. The effect of solubility and particle size of calcium sources on shell quality and bone mineralization. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 2, n. 3, p. 259–267, 1993.
- KESHAVARZ, K. The effect of different levels of vitamin C and cholecalciferol with adequate or marginal levels of dietary calcium on performance and eggshell quality of laying hens. **Poultry Science**, v. 75, n. 10, p. 1227–1235, 1996.
- KESHAVARZ, K. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and eggshell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. **Poultry science**, v. 82, n. 9, p. 1415–1422, 2003.
- LEANDRO, G. Meta-analysis in medical research: the handbook for the understanding and practice of meta-analysis. **BMJ books : Blackwell Pub.** Malden, Mass. 2005.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Minerals. In: **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph: Univ. Books, 2001. p. 591.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Feeding programs for laying hens. In: **Commercial poultry nutrition**. 3. ed., digitally repr ed. Guelph, Ontario: University Books, 2008. p. 398.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D.; CASTON, L. Response of brown-egg strain layers to dietary calcium or phosphorus. **Poultry Science**, v. 72, n. 8, p. 1510–1514, 1993.
- LOHMANN DO BRASIL. Guia de manejo Lohmann LSL. 2014. 42p. Disponível em: [www.itz.com.br](http://www.itz.com.br)
- MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M. M.; NYS, Y. Supplementation of a Corn-Soybean Meal Diet with Manganese, Copper, and Zinc Form Organic and Inorganic Sources Improves Eggshell Quality in Aged Laying Hens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1903–1913, 2003.
- MACIEL, M. P.; BAIÃO, N. C.; AIURA, F. S.; AROUCA, C. L. C. Calcium levels for white-egg layers Níveis de cálcio para poedeiras leves. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, n. 595–596, p. 209–214, 2015.

- MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A. G. Critical Points on Egg Production: Causes, Importance and Incidence of Eggshell Breakage and Defects. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 07-14, fev. 2014.
- MERTENS, K.; BAMELIS, F.; KEMPS, B.; KAMERS, B.; VERHOELST, E.; DE KETELAERE, B.; BAIN, M.; DECUYPERE, E.; DE BAERDEMAEKER, J. Monitoring of Eggshell Breakage and Eggshell Strength in Different Production Chains of Consumption Eggs. **Poultry Science**, v. 85, n. 9, p. 1670–1677, 1 set. 2006.
- MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A.; VINING, G. G. Introduction to linear regression analysis. **John, Wiley and Sons, Inc.**, New York, 612p, 2006.
- MURATA, L. S.; ARIKI, J.; SANTANA, A. P.; DE MORAES JARDIM FILHO, R. Níveis de cálcio e granulometria do calcário sobre o desempenho e a qualidade da casca de ovos de poedeiras comerciais. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 103–110, 2009.
- NARVÁEZ-SOLARTE, W.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, P. R.; URIBE-VELASQUEZ, L. F.; SILVA, M. A. Nutritional requirement of calcium in white laying hens from 46 to 62 Wk of age. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 181–184, 2006.
- NRC. **Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994**. Washington, D.C.: National Academies Press, 1994.
- NYS, Y. La coquille d’oeuf : un biomatériau composite. **Pour la Science**, v. 289, p. 48–54, 2001.
- PELICIA, K. **Efeito dos níveis de cálcio, fósforo e granulometria de calcário na dieta de poedeiras comerciais no primeiro e segundo ciclo de produção**. 2008. 104 f. Tese de Doutorado em Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2008.
- PELICIA, K.; GARCIA, E.; MORI, C.; FAITARONE, A. B. G.; SILVA, A. P.; MOLINO, A. B.; VERCESE, F.; BERTO, D. A. Calcium levels and limestone particle size in the diet of commercial layers at the end of the first production cycle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 11, n. 2, p. 87–94, 2009.
- PELICIA, K.; MOURAO, J. L. M.; GARCIA, E. A.; PINHEIRO, V. M. C.; BERTO, D. A.; MOLINO, A. B.; FAITARONE, A. B. G.; VERCESE, F.; SANTOS, G. C.; SILVA, A. P. Effects of dietary calcium levels and limestone particle size on the performance, tibia and blood of laying hens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 13, n. 1, p. 29–34, 2011.
- PINHEIRO, J. C.; BATES, D. M. Model building for nonlinear mixed-effects models. **Dept. Statistics, Univ. Wisconsin, Madison.**, 1998.
- PINHEIRO, J., BATES, D., DEBROY, S., SARKAR, D. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2014.
- RAO, S. R.; PANDA, A. K.; RAJU, M.; SUNDER, G. S.; PRAHARAJ, N. K. Requirement of calcium for commercial broilers and white leghorn layers at low dietary phosphorus levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, n. 1, p. 199–208, 2003.

R CORE TEAM, 2017.R: A language and environment for statistical computing. R Foundation 568 for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RODRIGUES, E. A.; JUNQUEIRA, O. M.; ANDREOTTI, M. O.; *et al.* Níveis de cálcio e vitamina D nas rações de pré-postura sobre o desempenho e qualidade da casca do ovo de poedeiras comerciais. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 1, 2005.

RODRIGUES, E. A.; OLIVEIRA, M. C.; CANCHERINI, L. C.; *et al.* Calcium in pre-laying and laying rations on the performance and quality of laying hens' eggshell. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 2, 2013.

ROLAND, D. A.; BRYANT, M. M.; RABON, H., W. Influence of Calcium and Environmental Temperature on Performance of First-Cycle (Phase 1) Commercial Leghorns. **Poultry Science**, v. 75, p. 62–68, 1996.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F. de; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. de T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 3 ed. ed. Viçosa, MG: Horacio Santiago Rostagno, 2011.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; *et al.* Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4 ed. Viçosa, MG: Horacio Santiago Rostagno, 2017.

SAFAA, H. M.; SERRANO, M. P.; VALENCIA, D. G.; *et al.* Productive Performance and Egg Quality of Brown Egg-Laying Hens in the Late Phase of Production as Influenced by Level and Source of Calcium in the Diet. **Poultry Science**, v. 87, n. 10, p. 2043–2051, 1 out. 2008.

SAS (Statistical Analysis System). University Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2014.

SCHREIWEIS, M. A.; ORBAN, J. I.; LEDUR, M. C.; HESTER, P. Y. The use of densitometry to detect differences in bone mineral density and content of live White Leghorns fed varying levels of dietary calcium. **Poultry science**, v. 82, n. 8, p. 1292–1301, 2003.

ST-PIERRE, N. R. Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology1. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 4, p. 741–755, 2001.

ST-PIERRE, N. R. Meta-analyses of experimental data in the animal sciences. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 343–358, 2007.

SWIATKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; KRAWCZYK, J.; PUCHAŁA, M.; JÓZEFIK, D. Dietary Factors Improving Eggshell Quality: An Updated Review with Special Emphasis on Microelements and Feed Additives. **World's Poultry Science Journal**, v. 71, n. 01, p. 83–94, mar. 2015a.

SWIATKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; KRAWCZYK, J.; PUCHAŁA, M.; JÓZEFIK, D. Effects on Performance and Eggshell Quality of Particle Size of Calcium

Sources in Laying Hens' Diets with Different Ca Concentrations. **Archives Animal Breeding**, v. 58, n. 2, p. 301–307, 31 jul. 2015b.

VELLASCO, C. R. **Níveis de cálcio e relação cálcio/fósforo em rações para poedeiras leves de 24 a 40 semanas de idade**. 2010. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

VELLASCO, C. R.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; CALDERANO, A. A.; MELLO, H. H. de C.; PASTORE, S. M. Níveis de Cálcio E Relação Cálcio: Fósforo Em Rações Para Poedeiras Leves de 24 a 40 Semanas de Idade. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 206–216, jun. 2016.

VESTERINEN, H. M.; SENAA, E. S.; EGANA, K. J.; *et al.* Meta-analysis of data from animal studies: A practical guide. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 221, p. 92–102, jan. 2014.

VIEIRA, D. V. G.; BARRETO, S. L. T. de; VALERIANO, M. H.; JESUS, L. F. D. de; SILVA, L. F. F. da; MENCALHA, R.; BARBOSA, K. S.; MENDES, R. K. V.; CASSUCE, M. R.; MELO, T. de S. Exigências de Cálcio E de Fósforo Disponível Para Codornas Japonesas de 26 a 38 Semanas de Idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 1, p. 204–213, mar. 2012.

WANG, M. C.; BUSCHMAN, B. J. **Integrating results through meta-analytic review using SAS software**. Cary, NC: SAS Institute, 1999.

WICKHAM, H. **ggplot2 Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer, New York, 2009.

WOLC, A.; ARANGO, J.; SETTAR, P.; O'SULLIVAN, N. P.; OLORI, V. E.; WHITE, I. M. S.; HILL, W. G.; DEKKERS, J. C. M. Genetic Parameters of Egg Defects and Egg Quality in Layer Chickens. **Poultry Science**, v. 91, n. 6, p. 1292–1298, 1 jun. 2012.

## ANEXOS ARTIGO 1

**Tabela anexo 1.** Resumo das referências utilizadas para a meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de cálcio no desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras

Ensaio	Autores	Ano de publicação	Exp. / Fator	Ca, mg/kg	Cor da Linhagem	País	Fonte
1	Leeson et al.	1993	I	28,0 / 34,0 / 38,0 / 42,0	Marrom	Canada	Poult Sci
2	Keshavarz e Scott	1993	I	30,0 / 35,0 / 40,0	Branca	USA	J Appl Poult Res
3	Keshavarz e Scott	1993	II	30,0 / 35,0 / 40,0	Branca	USA	J Appl Poult Res
4	Keshavarz	1996	I	28,1 / 43,7	Branca	USA	Poult Sci
5	Keshavarz	1996	II	34,7 / 42,6	Branca	USA	Poult Sci
6	Chowdhury e Smith	2002	I	25,1 / 20,3 / 35,1 / 40,0	Branca	Canada	Poult Sci
7	Chowdhury e Smith	2002	II	25,4 / 32,6 / 42,1 / 49,8	Branca	Canada	Poult Sci
8	Chowdhury e Smith	2002	III	30,5 31,0 / 41,0 / 52,0	Branca	Canada	Poult Sci
9	Chowdhury e Smith	2002	IV	21,0 / 28,4 / 33,3 / 44,1	Branca	Canada	Poult Sci
10	Chowdhury e Smith	2002	V	21,5 / 28,3 / 37,7 / 47,4	Branca	Canada	Poult Sci
11	Schreiweis et al.	2003	I	20,6 / 44,7	Branca	USA	Poult Sci
12	Schreiweis et al.	2003	II	20,6 / 44,7	Branca	USA	Poult Sci
13	Rama Rao et al.	2003	I	32,6 / 35,4 / 37,6 / 39,8 / 42,4 / 45,2	Branca	Índia	Anim Fe Sci Tech

14	Keshavarz	2003	I	33,4 / 43,0 / 47,3 / 49,4	Branca	USA	Poult Sci
15	Keshavarz	2003	II	33,4 / 43,0 / 47,3 / 49,4	Branca	USA	Poult Sci
16	Castillo et al.	2004	I	26,6 / 32,2 / 38,3 / 43,1 / 48,2	Branca	México	Poult Sci
17	Narváez-Solarte et al.	2006	I	26,0 / 30,0 / 34,0 / 38,0 / 42,0	Branca	Brasil	Int J Poult Sci
18	Pelícia	2008	I	30,0 / 37,5 / 45,0	Marrom	Portugal	Tese UNESP
19	Costa et al.	2008	I	30,0 / 34,0 / 38,0 / 42,0 / 46,0 / 50,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Zootec
20	Safaa et al.	2008	I	35,0 / 40,0	Marrom	Espanha	Poult Sci
21	Pelícia et al.	2009	I	30,0 / 35,0 / 40,0 / 45,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
22	Murata et al.	2009	I	37,5 / 41,5 / 45,5	Branca	Brasil	Biotemas
23	Pelícia et al.	2011	I	30,0 / 37,5 / 45,0	Marrom	Portugal	Rev Bras Ciênc Aví
24	Araujo et al.	2011	I	39,2 / 40,20 / 41,2	Branca	Brasil	Rev Bras Zootec
25	Berto et al (a)	2013	I	25,0 / 31,0 / 37,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
26	Berto et al (b)	2013	I	25,0 / 31,0 / 37,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
27	Berto et al (b)	2013	II	25,0 / 31,0 / 37,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
28	Berto et al (b)	2013	II	25,0 / 31,0 / 37,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
29	Berto et al (b)	2013	IV	25,0 / 31,0 / 37,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
30	Berto et al (b)	2013	V	25,0 / 31,0 / 37,0	Marrom	Brasil	Rev Bras Ciênc Aví
31	Jiang et al.	2013	I	26,2 / 37,0 / 44,0	Marrom	China	The Vet Jou

32	Rodrigues et al.	2013	I	25,0 / 35,0	Branca	Brasil	Ac Scient Ani Sci
33	Maciel et al.	2015	I	25,0 / 30,0 / 35,0 / 40,0 / 45,0	Marrom	Brasil	Rev Port Cie Vet
34	Swiatkiewicz et al. (a)	2015	I	32,0 / 37,0 / 42,0	Marrom	Polônia	Livest Sci
35	Swiatkiewicz et al. (b)	2015	I	32,0 / 37,0 / 42,0	Marrom	Polônia	Arch Ani Bre
36	Swiatkiewicz et al. (b)	2015	II	32,0 / 37,0 / 42,0	Marrom	Polônia	Arch Ani Bre
37	Swiatkiewicz et al. (b)	2015	III	32,0 / 37,0 / 42,0	Marrom	Polônia	Arch Ani Bre

---



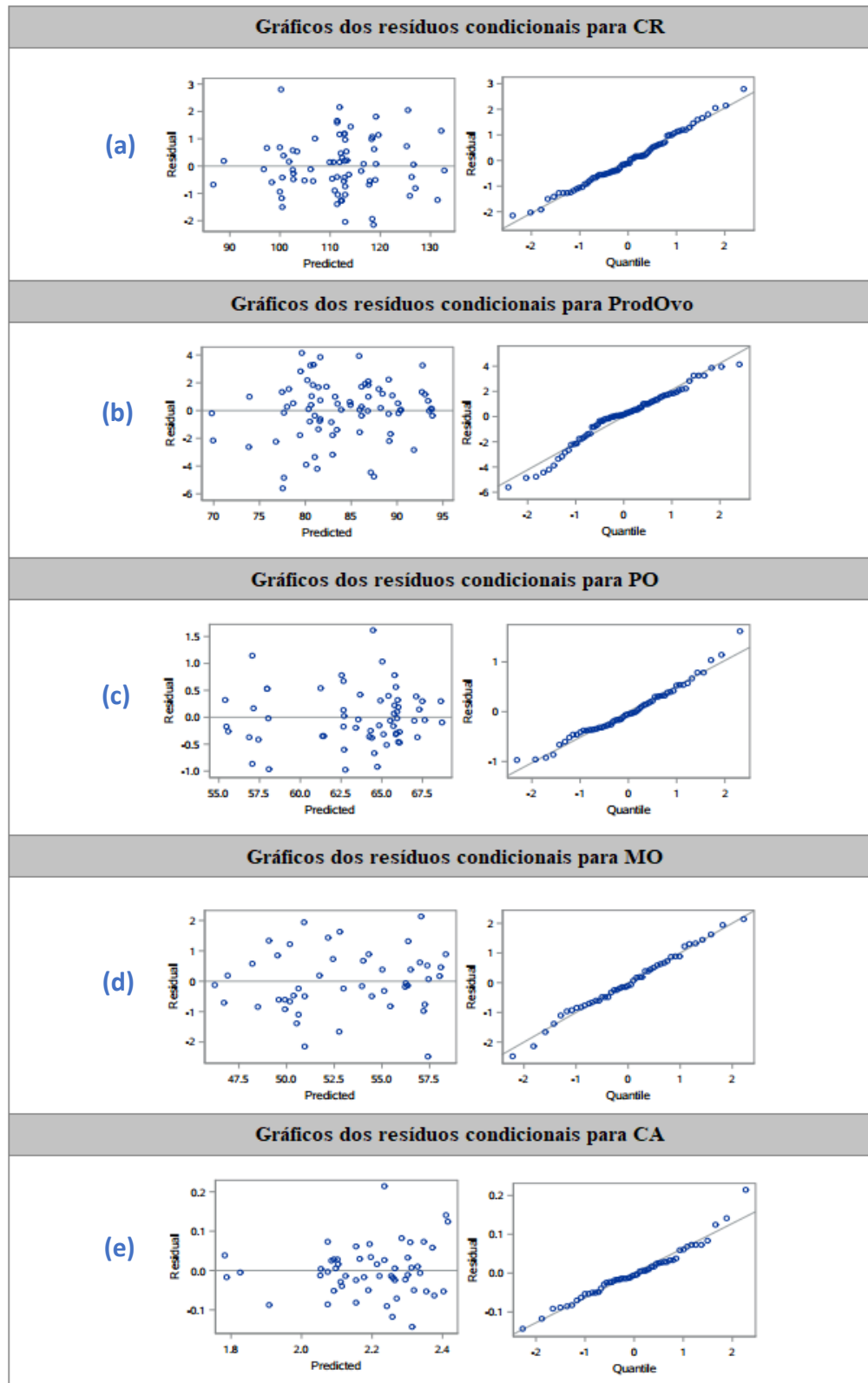


Figura anexo 1. Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos.

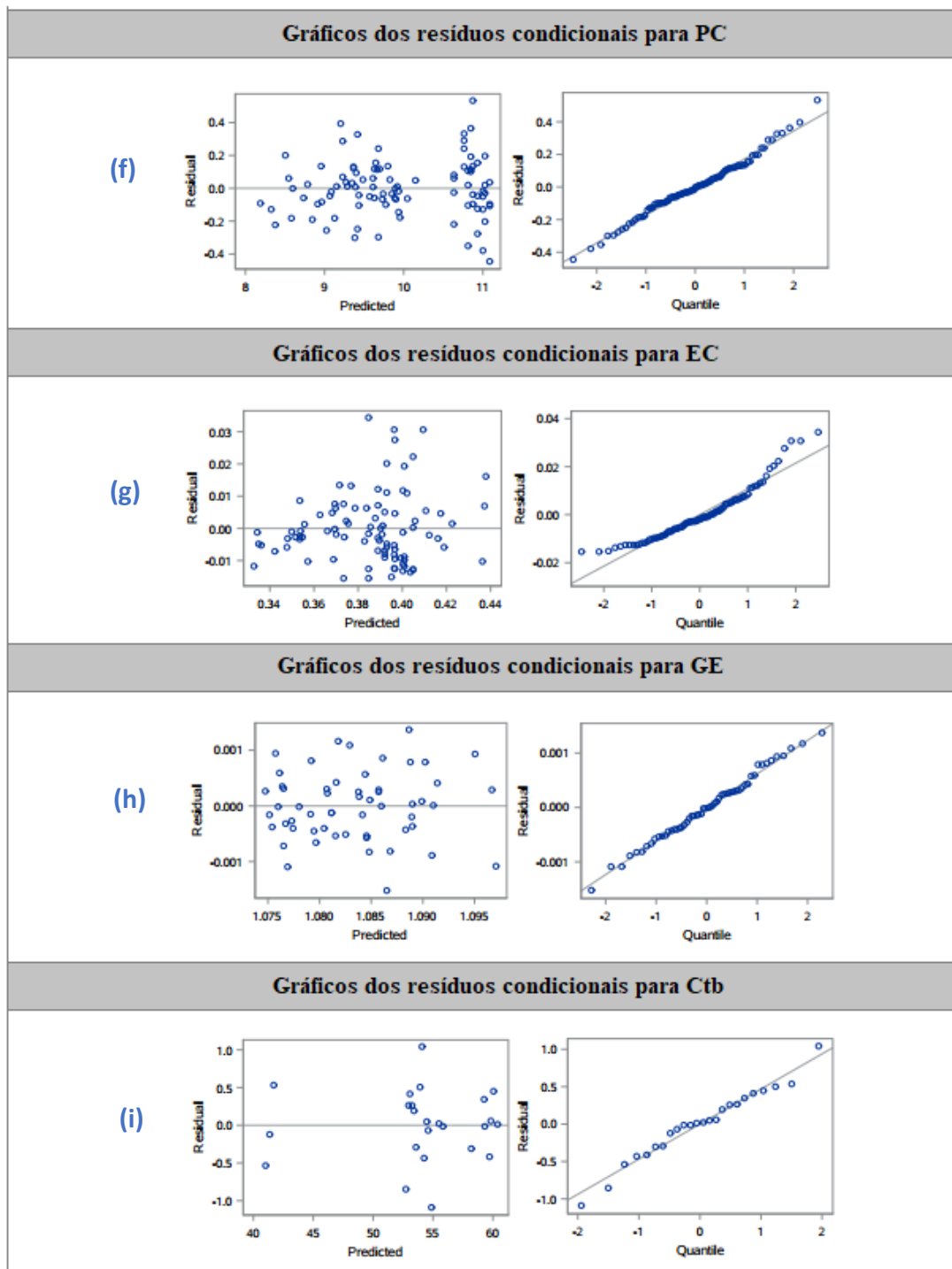


Figura anexo 2. Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tibia (i). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos.

## **EFEITO DO FÓSFORO DISPONÍVEL NA DIETA SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE ÓSSEA E DA CASCA DE OVOS DE GALINHAS POEDEIRAS: UMA META-ANÁLISE**

### **RESUMO**

O efeito do fósforo disponível sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras foi avaliado usando uma meta-análise. O banco de dados foi composto por 30 ensaios, extraídos de uma dissertação e 17 artigos científicos publicados entre 1993 e 2017. As variáveis dependentes avaliadas na meta-análise incluíram consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos, massa de ovos, conversão alimentar, porcentagem de casca do ovo, espessura da casca, gravidade específica e porcentagem de cinzas na tíbia. Foram utilizados modelos mistos para avaliação dos efeitos lineares e quadráticos dos níveis de fósforo disponível sobre as variáveis respostas, onde os ensaios foram considerados como o efeito aleatório e o nível de fósforo disponível na dieta como efeito fixo. As variáveis de desempenho foram influenciadas pelo incremento dos níveis de fósforo disponível na dieta de forma linear (i.e., peso dos ovos;  $P = 0,0308$ ) e quadrática (i.e., consumo de ração;  $P = 0,0040$ , produção de ovos;  $P = 0,0007$  e massa de ovos;  $P = 0,0004$ ), as estimativas dos coeficientes lineares e quadráticos do fósforo disponível foram diferentes de zero. No entanto, as variáveis de qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras não foram influenciadas pelos níveis de fósforo disponível na dieta (i.e., porcentagem de casca do ovo, espessura da casca, gravidade específica e porcentagem de cinzas na tíbia). Dietas que contém o nível de fósforo disponível de 3,822 g/kg promovem a máxima resposta para desempenho sem comprometer a qualidade da casca de ovos em galinhas poedeiras.

Palavras chave: desempenho; fósforo; galinhas poedeiras; meta-análise; qualidade da casca

## **EFFECT OF AVAILABLE PHOSPHORUS IN THE DIET ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE, BONE QUALITY AND EGGSHELL OF LAYING HENS: A META-ANALYSIS**

### **ABSTRACT**

The effect of available phosphorus on the performance, bone quality and eggshell of laying hens was evaluated using a meta-analysis. The database consisted of 30 trials, extracted from a dissertation and 17 scientific papers published between 1993 and 2017. The dependent variables evaluated in the meta-analysis included feed intake, egg production, egg weight, egg mass, conversion feed ratio, eggshell percentage, eggshell thickness, specific gravity and ash percentage of the tibia. Mixed models were used to evaluate the linear and quadratic effects of available phosphorus levels on the response variables, where the trials were considered as the random effect and the level of phosphorus available in the diet as a fixed effect. The performance variables were influenced by the increase of available phosphorus levels in the diet the linear (i.e., egg weight,  $P = 0.0308$ ) and quadratic form (ie, feed consumption,  $P = 0.0040$ , egg production;  $P = 0.0007$  and egg mass,  $P = 0.0004$ ), the estimates of the linear and quadratic coefficients of the available phosphorus were different from zero. However, the variables of bone quality and eggshell of laying hens were not influenced by dietary available phosphorus levels (i.e. egg shell percentage, bark thickness, specific gravity and percentage of ashes in the tibia). Diets containing the available phosphorus level of 3.82 g/kg promote maximum performance response without compromising eggshell quality in laying hens.

Keywords: eggshell quality, laying hen, meta-analysis, performance, phosphorus

#### 4.1. INTRODUÇÃO

O fósforo é um macromineral envolvido em quase todos processos metabólicos, desempenhando papel importante na coordenação muscular, transporte de ácidos graxos, assim como, no metabolismo energético, dos carboidratos, aminoácidos e gorduras. Além disso, é um componente fundamental das estruturas ósseas e dos ácidos nucleicos. O fósforo, juntamente com o Ca, é essencial para o crescimento, formação dos ovos e desempenho das galinhas poedeiras. (Vieira et al., 2012). As principais funções do fósforo durante a formação da casca do ovo se resumem à redução da acidose sanguínea e recomposição dos ossos medulares (Leeson e Summers, 2008). No entanto sugere-se que os íons fosfato também possam inibir a precipitação do carbonato de Ca, tendo contribuição na finalização do processo de calcificação da casca (Lin e Singer, 2005).

Devido à importância fisiológica do fósforo e ainda por ser responsável por parte considerável do custo das rações, seu fornecimento exige atenção especial nas formulações de rações para as aves. O interesse na redução da inclusão de fósforo da ração e de sua excreção no ambiente, faz com que a exigência dietética mínima desse mineral seja definida para cada fase de desenvolvimento das poedeiras, visando de reduzir seu desperdício/contaminação (Bertechini, 2014).

Um dos benefícios atribuídos à redução dos níveis de fósforo disponível (Pd) está ligado à formação da casca dos ovos, uma vez que existe o aumento da atividade do 1,25 dihidroxicolecalciferol, o qual induz uma série de efeitos positivos no metabolismo mineral, como o aumento da absorção intestinal de Ca e sua reabsorção óssea, promovendo o aumento da concentração de Ca no útero, importante para a formação da casca (Ligeiro, 2007). Neste sentido, a redução os níveis de Pd da dieta é indicada para melhorar a qualidade externa e interna dos ovos, desde que não comprometa o desempenho das aves (Bertechini, 2014).

O NRC (1994) recomenda 2,5 g/kg de Pd para poedeiras brancas e marrons consumindo aproximadamente 100 e 110g de ração, respectivamente. As recomendações de Rostagnos et al. (2017) para os níveis de Pd na dieta são de 3,72 e 3,82 g/kg no caso das brancas e 3,18 e 3,25 g/kg para as marrons. O manual da linhagem Hy-Line recomenda para as poedeiras brancas Hy-Line W36, valores entre 4,1 e 5,8 g/kg de Pd (Hy-LineW36, 2015), e, para as poedeiras Hy-Line Brown, Pd dietéticos entre 3,3 e 4,5 g/kg (Hy-Line Brown, 2014). Por sua vez, os níveis de Pd recomendados pelos trabalhos científicos nos últimos anos para galinhas poedeiras em diferentes idades e condições experimentais estão entre 1,5 e 4,5 g/kg (Summers, 1995; Sakomura et al., 1995; Gordon e Roland, 1997; Keshavarz, 2000; Faria

et al., 2000; Usayran et al., 2001; Sohail et al., 2001; Keshavarz, 2003a; Snow et al., 2004; Snow et al., 2005; Skrivan et al., 2010; Araújo et al., 2010).

Considerando que podem existir inúmeros fatores de variação das recomendações de Pd dietético para poedeiras entre as diferentes fontes utilizadas para consulta, uma análise crítica dos trabalhos científicos levando em consideração tais diferenças, como linhagem das aves, idade período de produção, entre outros, podem trazer grandes benefícios à avicultura de postura. Nesse cenário, a técnica meta-analítica pode ser empregada, uma vez que se destina a síntese estatística dos resultados de uma série de estudos relacionados ao mesmo tema (Borenstein, 2009), além de ser considerada um processo relevante para avaliar fenômenos complexos e extrair novas informações, levando em conta pesquisas anteriores (St-Pierre, 2001). Quando comparada a outras formas de revisão, a meta-análise tem a grande vantagem de ser menos influenciada pela opinião pessoal do revisor e fornece conclusões imparciais (Leandro, 2005; Vesterinen et al., 2014). Deste modo, objetivou-se com esse estudo estimar possíveis efeitos lineares ou quadráticos do Pd dietético sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras na fase de produção.

## **4.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.2.1. Pesquisa bibliográfica e critérios de seleção**

A pesquisa bibliográfica e o processo de seleção dos estudos foram realizados em banco de dados eletrônicos (i.e., Google Scholar, CAB Abstracts, SciELO e Science Direct) e por meio da identificação de outros estudos a partir das referências bibliográficas das revistas científicas. Também foram pesquisados estudos de dissertações e teses. As pesquisas foram baseadas nas seguintes palavras-chave: fósforo, nutrição mineral, galinhas poedeiras, casca do ovo e qualidade óssea.

Para seleção e inclusão dos ensaios no banco de dados, foram cumpridos os seguintes critérios: ensaios que fizessem parte de uma dissertação, tese ou artigo completo de revistas avaliadas por pares publicados entre 1993 e 2017; tivessem avaliações do efeito do Pd dietético sobre o desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras; pelo menos dois níveis dietéticos de Pd tivessem sido utilizados como tratamentos e estivessem claramente definidos; as dietas fossem a base de milho/sorgo e soja; tivessem a descrição do processo de aleatorização; apresentasse o período de fornecimento de Pd, a idade das aves e

tipo de linhagem; apresentasse a quantidade de dados suficientes para determinar o efeito para os resultados de produção (i.e., o número de aves e repetições em cada tratamento) e tivesse disponibilizado pelo menos uma medida de efeito capaz de calcular a análise de tamanho de efeito para dados contínuos.

O estudo era excluído do banco de dados se a finalidade da pesquisa não coincidissem com o objetivo da meta-análise, ou seja, apresentasse o nível dietético de Pd como principal fator avaliado. Uma revisão completa e crítica de cada estudo do banco de dados, com foco principalmente no material e métodos, tamanho da amostra, delineamento experimental, métodos de amostragem e análises estatísticas foi realizada. Além disso, a avaliação da estrutura final dos dados por meio de análise exploratória permitiu a identificação de possíveis observações anômalas, tanto dentro como entre estudos (St-Pierre, 2007). Quando algum dos estudos não enquadrava em algum desses critérios, o trabalho foi excluído.

#### **4.2.2. Descrição do banco de dados**

O banco de dados consistiu em 30 ensaios, extraídos de uma dissertação e 17 artigos científicos publicados no período de 1993 a 2017. As descrições e principais informações dos estudos que foram selecionados para realização da meta-análise estão apresentadas na tabela anexo 1.

As informações de determinados fatores foram adicionadas ao banco de dados quando disponíveis nos ensaios. Os fatores referentes à composição das dietas experimentais incluídos foram, o nível de energia metabolizável (EM), proteína bruta (PB), lisina (Lis), metionina (Met), metionina + cistina (Met+cis), cálcio (Ca), a relação Ca:P e a fonte de Pd. As informações referentes às aves incluídas foram, a idade do início do ensaio, a idade do final do ensaio (IF) e, por fim, o tipo de linhagem, que foi adicionado ao banco de dados como duas categorias: linhagens brancas (B) ou marrons (M). O fator relacionado ao delineamento experimental foi a duração do ensaio (DE). Esses fatores foram considerados na análise dos dados quando suas informações estavam apresentadas em um número satisfatório de ensaios. As informações sobre a fonte de Pd não podem ser consideradas em nenhuma das variáveis respostas, pois o conjunto de dados não continha observações suficientes para estimar um componente de variância com precisão razoável.

Os fatores quantitativos considerados durante a análise dos dados foram, EM (2.649 a 2.940 kcal/kg); PB (152,5 a 185,0 g/kg); Lis (7,8 a 9,5 g/kg); Met+cis (5,5 a 7,2 g/kg); Ca: 32,5 a 41,2 g/kg); IF (37 a 71 semanas) e DE (6,0 a 52,0 semanas). O fator qualitativo tipo de

linhagem foi considerado na análise dos dados como duas categorias (B ou M). Estas condições foram avaliadas para evitar o viés causado por esses fatores. Além disso, a importância potencial de cada fator foi avaliada quanto à sua significância ( $P \leq 0,05$ ) para, posteriormente, ser testado como covariável do modelo final.

#### **4.2.3. Descrição das variáveis repostas**

As variáveis respostas (i.e. dependentes) estudadas na meta-análise para desempenho produtivo foram, o consumo de ração (**CR**), produção de ovos (**ProdOvo**), peso dos ovos (**PO**), massa de ovos (**MO**) e conversão alimentar (**CA**); para qualidade da casca de ovos incluíram porcentagem de casca do ovo (**PC**), espessura da casca (**EC**) e gravidade específica (**GE**) e; para qualidade óssea apenas a porcentagem de cinzas na tíbia (**Ctb**) foi avaliada. O CR, ProdOvo, PO, MO, CA foram mensurados durante o período de avaliação dos níveis dietéticos de Pd nos ensaios; PC, EC, GE foram mesurados em uma parcela dos ovos coletados durante o período de duração do ensaio; e Ctb foi mensurada nas tíbias das aves coletadas durante o período de avaliação dos níveis dietéticos de Pd.

Os critérios utilizados para a seleção das variáveis respostas foram a relevância da informação para explicar o objetivo principal e o número de observações por ensaio. As variáveis respostas de desempenho foram observadas mais frequentemente entre os estudos, enquanto, as repostas de qualidade óssea e da casca de ovos foram relatadas em um número reduzido de estudos. Não puderam ser avaliadas as variáveis, porcentagem de Ca e P nos ossos, retenção de Ca e P da dieta, resistência da casca do ovo e óssea, devido ao pequeno número de estudos relatando-as e pela diversidade nas metodologias e unidade utilizadas.

#### **4.2.4. Descrição das análises estatísticas**

Os dados foram analisados por uma abordagem de modelos mistos lineares (St-Pierre, 2001), onde os ensaios foram considerados como o efeito aleatório e o nível de Pd na dieta como efeito fixo. Dois tipos de funções polinomiais foram utilizados para analisar a relação entre os níveis de Pd na dieta e as variáveis respostas: o modelo linear simples [1], apenas com coeficiente linear Pd, e o modelo quadrático [2], com coeficiente linear e quadrático de Pd. Os modelos gerais estão apresentados a seguir:



$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_j + s_i + \epsilon_{ij}, \quad [1]$$

e

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_j + \beta_2 [X_j * X_j] + s_i + \epsilon_{ij}, \quad [2]$$

onde,  $i = 1, \dots, 30$  ensaios;  $j = 1, \dots, 99$  valores;  $X_j$  = nível dietético de Pd (1,0 a 5,0 g/kg);  $\beta_1$  = coeficiente de regressão linear;  $\beta_2$  = coeficiente de regressão quadrático;  $s_i$  = intercepto do ensaio aleatório;  $\epsilon_{ij} \sim \mathbb{N}(0, \sigma^2)$  = erro residual. Assim,  $\beta_0 + \beta_1 X_j + \beta_2 [X_j * X_j]$  = parte de efeito fixo do modelo;  $s_i + \epsilon_{ij}$  = parte de efeito aleatório do modelo.

O método de máxima verossimilhança restrita foi utilizado para se obter as estimativas de efeitos fixos ( $\widehat{\beta}_0, \widehat{\beta}_1, \widehat{\beta}_2$ ) e aleatórios ( $\widehat{s}_i, \widehat{\sigma}^2$ ). Os parâmetros foram estimados utilizando a função *lme* do pacote *nlme* usando o R versão 3.3.3 (Pinheiro et al., 2014). Para avaliar a heterocedasticidade do erro, a qualidade do ajuste e o modelo com melhor desempenho foram avaliados com base no Critério de Informação de Akaike (AIC) e no Critério de Informação Bayesiano de Schwarz (BIC), e a necessidade de incluir covariáveis no modelo foi testada usando os critérios AIC e BIC. O nível de significância foi definido em  $P \leq 0,05$ . Quando uma relação quadrática foi definida entre o nível de Pd da dieta e as variáveis respostas, o nível ótimo de Pd para a máxima resposta das variáveis dependentes foi determinado calculando as derivadas parciais das equações obtidas:  $-\beta_1 / (2 \times \beta_2)$ .

Em um procedimento passo a passo, as covariáveis candidatas relacionadas aos ensaios foram incluídas uma de cada vez no modelo. De acordo com Pinheiro e Bates (1998), o número de parâmetros extras a serem estimados tende a crescer consideravelmente com a inclusão de covariáveis. A inclusão de covariáveis no modelo final foi baseada no seu respectivo valor de P e no valor de BIC dos ajustes do modelo de base de teste [1] ou [2], com ou sem as covariáveis candidatas.

A estatística descritiva foi apresentada para as variáveis independentes e dependentes utilizadas na meta-análise, exibindo sua média, mediana, mínimo, máximo, erro padrão, coeficiente de assimetria e curtose. O coeficiente de assimetria está relacionado à simetria da função densidade de distribuição, seu valor tende a ser nulo (igual a zero) quando calculado para uma resposta com função de distribuição aproximadamente normal, enquanto a curtose é uma medida de dispersão que caracteriza o "achatamento" da curva da função de distribuição, ou seja, um valor de curtose acentuado pode indicar a presença de resposta atípica no conjunto de dados (*outlier*), caso contrário, seu valor tende a zero.

O modelo foi avaliado utilizando o nível de significância dos parâmetros estimados, erro padrão (EP), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e raiz do erro quadrático médio (RMSE) (Ahmadi e Rodehutsord, 2012). A adequação do modelo também foi avaliada usando gráficos de resíduos (observado menos predito) versus valores preditos de Y para testar o viés de predição linear (St-Pierre, 2001). Além disso, foi verificada se os resíduos apresentavam distribuição de probabilidade normal usando gráficos quantil-quantil, permitindo verificar se os pontos dos resíduos se ajustam a reta dos quantis de uma distribuição de probabilidade normal padrão (Wang e Bushman, 1999).

As análises estatísticas e os gráficos foram realizadas com os pacotes *nlme* (Pinheiro et al., 2014) e *ggplot2* (Wickham, 2009) utilizando o R versão 3.3.3 (R Core Team, 2017). Os gráficos de resíduos e quantil-quantil para verificar a adequação do modelo foram gerados usando o SAS versão University Edition (SAS Institute Inc. 2014).

#### **4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A estatística descritiva dos principais componentes do banco de dados está apresentada na Tabela 1. Por se tratarem de critérios para seleção dos estudos, os parâmetros relacionados às características experimentais IF e DE foram fornecidos por todos os 30 ensaios usados na meta-análise. Em relação aos parâmetros nutricionais, todos os ensaios forneceram os níveis dietéticos de EM, PB e Ca. No entanto, apenas 21 e 18 destes forneceram os níveis dietéticos de Lis e Met+Cis, respectivamente. Todos os parâmetros quantitativos e qualitativo foram testados como covariáveis nas análises das variáveis de desempenho produtivo. Nas análises das variáveis de qualidade óssea e da casca de ovos, só foi possível testar as covariáveis EM, PB, Lis, Met, Pd, IF e tipo de linhagem.

A relação Ca:P e a idade do início do experimento também não foram consideradas, pois os efeitos dessas variáveis eram confundidos com outras variáveis explicativas de efeitos fixos (i.e., Pd, Pd\*Pd ou pelo menos uma das covariáveis candidatas) gerando a multicolinearidade, isto é, quando há uma relação linear forte entre duas variáveis explicativas no modelo ou quando uma variável é a combinação linear de outras variáveis explicativas tem-se a multicolinearidade e seus efeitos indesejáveis, como estimativas totalmente diferentes dos parâmetros reais (Montgomery et al., 2006). Deste modo, as inferências baseadas nestes modelos poderiam ser errôneas ou pouco confiáveis (Lovatto et al., 2007; Sauvante et al., 2008).

**Tabela 1.** Estatística descritiva das variáveis independentes e dependentes selecionadas de estudos utilizados na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível no desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras <sup>a</sup>

Item	No <sup>b</sup>	Ne <sup>c</sup>	Média	Mediana	Min <sup>d</sup>	Máx <sup>e</sup>	EP <sup>f</sup>	Assimetria	Curtose
Variável independente <sup>g</sup>									
Pd, g/kg	99	30	3,02	3,00	1,00	5,00	0,110	-0,050	-1,172
Ca, g/kg	99	30	37,77	38,00	32,50	41,20	0,230	-0,379	-0,670
EM, kcal/kg	99	30	2.791	2.800	2.649	2.940	7,647	-0,115	-0,426
PB, g/kg	99	30	167,18	166,4	152,5	185,0	0,810	0,465	0,376
Lis, g/kg	71	21	8,49	8,60	7,80	9,50	0,062	0,294	-0,948
Met+cis, g/kg	60	18	6,54	6,50	5,50	7,20	0,068	-0,280	-0,987
IF, semanas	99	30	54,34	52,00	37,00	71,00	1,017	0,007	-1,027
DE, semanas	99	30	22,60	17,00	6,00	52,00	1,421	0,794	-0,521
Variável dependente <sup>h</sup>									
CR, g	97	30	102,52	103,50	76,00	132,0	1,221	-0,335	-0,229
ProdOvo, %	91	29	82,59	83,71	67,66	94,40	0,652	-0,182	-0,937
PO, g	91	29	59,87	59,90	51,33	69,90	0,464	0,114	-0,570
MO, g/ave/dia	59	18	49,86	50,00	38,60	65,00	0,674	0,269	1,046
CA, g/g	63	20	2,074	2,080	1,840	2,540	0,017	0,925	1,367
PC, %	26	7	10,43	9,90	8,77	14,48	0,355	1,440	0,590
EC, mm	58	19	0,384	0,354	0,323	0,482	0,007	0,385	-1,478
GE, g/cm <sup>3</sup>	19	6	1,085	1,082	1,079	1,095	0,002	0,795	-1,412
Ctb, %	35	12	52,34	51,21	40,00	51,21	1,155	-0,347	-1,182

<sup>a</sup> Leeson et al. (1993), Summers (1995), Sakomura et al. (1995), Leeson e Caston (1996), Hossain e Bertechini (1998), Faria et al. (1999), Faria et al. (2000), Sohail et al. (2001), Usayran et al. (2001), Sohail e Roland (2002), Snow et al. (2004), Snow et al. (2005), Valdés-Narváez et al. (2006), Araújo et al. (2010), Machado (2010), Skrivan et al. (2010), Nei et al. (2013), Kazempour e Jahanian (2017), Kim et al. (2017).

<sup>b</sup> No: número de observações

<sup>c</sup> Ne: número de ensaios.

<sup>d</sup> Mín: mínimo.

<sup>e</sup> Máx: máximo.

<sup>f</sup> EP: erro padrão da média.

<sup>g</sup> Pd: fósforo disponível, Ca: cálcio, EM: energia metabolizável, PB: proteína bruta, Lis: Lisina, Met+cis: metionina + cistina, IF: idade final, DE: duração do ensaio.

<sup>h</sup> CR: consumo de ração, ProdOvo: produção de ovos, PO: peso dos ovos, MO: massa de ovos, CA: conversão alimentar, Casca: porcentagem de casca do ovo, EC: espessura da casca, GE: gravidade específica do ovo, Ctb: porcentagem de cinzas na tibia.

Entre as covariáveis testadas para desempenho produtivo, PB, Lis, IF, DE e tipo de linhagem foram significativas em pelo menos uma das variáveis dependentes e,

consequentemente, foram incluídas nos modelos finais para verificação da melhora na qualidade de seus ajustes. Entre as covariáveis testadas para qualidade óssea e da casca de ovos, apenas o Ca não foi significativo nas variáveis dependentes, e, portanto, não foram incluídas nos modelos finais para verificação da melhora na qualidade de seus ajustes.

A estatística descritiva das variáveis respostas utilizadas na meta-análise está apresentada na Tabela 1. Os resultados foram considerados consistentes quando comparadas a outros trabalhos científicos com galinhas poedeiras e aos principais guias de manejo das linhagens do mercado (Dekalb White, 2009; Lohmann LSL, 2014; Hy-Line Brown, 2014; Hy-Line W36, 2015).

#### **4.3.1. Desempenho produtivo**

O efeito linear (coeficiente linear Pd) dos níveis dietéticos de Pd sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 2. De acordo com esses resultados as variáveis CR, ProdOvo, PO e MO foram influenciadas pelos níveis de Pd na dieta, os coeficientes lineares Pd estimados foram diferentes de zero, com valor de  $P \leq 0,0001$  para CR, 0,0001 para ProdOvo, 0,0011 para PO e 0,0001 para MO. Deste modo, é possível afirmar que os níveis de Pd influenciam de forma linear o desempenho das galinhas poedeiras. Além disso, foi possível verificar que a correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Pd foi igual a -0,272 para CR e -0,205 para PO, indicando que o efeito do Pd não teve relação forte com os valores dessas variáveis respostas (Tabela 2). Entretanto, a correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Pd foi igual a -0,544 para ProdOvo e -0,505 para MO, indicando uma relação mais forte entre o efeito do Pd e os valores dessas variáveis respostas. A variável CA não foi influenciada de forma linear pelos níveis de Pd na dieta, o coeficiente linear Pd estimado não foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,1078 (Tabela 2). Assim, é possível afirmar que a CA não foi influenciada de forma linear pelos níveis de Pd na dieta. A correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Pd foi igual a -0,593 para CA, indicando que a falta de efeito do Pd tem uma relação forte com os valores dessa resposta na meta-análise.

**Tabela 2.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) para consumo de ração (CR), produção de ovos (ProdOvo), peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor $\pm$ EP)	Coefficiente linear (Pd) (Valor $\pm$ EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
CR, g	101,43 $\pm$ 2,08 ***	1,094 $\pm$ 0,18 ***	-0,272	535,9	546,1
ProdOvo, %	80,05 $\pm$ 1,35 ***	0,964 $\pm$ 0,24 ***	-0,544	496,2	506,2
PO, g	59,76 $\pm$ 0,82 ***	0,185 $\pm$ 0,05 **	-0,205	295,8	305,7
MO, g/ave/dia	47,791 $\pm$ 1,43 ***	1,033 $\pm$ 0,24 ***	-0,505	310,5	318,8
CA, g/g	2,104 $\pm$ 0,04***	-0,012 $\pm$ 0,007	-0,593	-106,0	-97,5

\*\*\* P-valor  $\leq$  0,001; \*\* P-valor  $\leq$  0,01; \* P-valor  $\leq$  0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e coeficiente linear Pd.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

O efeito quadrático (coeficiente linear e quadrático de Pd) dos níveis dietéticos de Pd sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 3. Esses resultados evidenciaram que as variáveis PO e CA não foram influenciadas de forma quadrática pelos níveis de Pd na dieta, os coeficientes linear e quadrático de Pd estimados não foram diferentes de zero, com valor de P do coeficiente quadrático Pd\*Pd igual a 0,3848 para PO e 0,0817 para CA. Deste modo, foi possível afirmar que não existe uma relação quadrática entre PO, CA e os níveis de Pd na dieta.

As variáveis CR, ProdOvo e MO foram influenciadas de forma quadrática pelos níveis de Pd (Tabela 3). Os coeficientes linear e quadrático de Pd estimados foram diferentes de zero, com valor de P do coeficiente quadrático Pd\*Pd igual a 0,0031 para CR, 0,0007 para ProdOvo e 0,0004 para MO. Diante disso, foi possível afirmar que existe uma relação quadrática entre o CR, ProdOvo e MO e os níveis de Pd da dieta. A correlação observada entre o intercepto e o coeficiente quadrático Pd\*Pd foi igual a 0,612 para CR, 0,833 para ProdOvo e 0,779 para MO, indicando que o efeito quadrático do Pd tem uma relação forte com os valores dessas variáveis respostas. Além disso, por se tratar de correlações positivas, foi possível observar que quanto maior os resultados dessas variáveis respostas, maior será o efeito do Pd quadrático.

**Tabela 3.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) e fósforo disponível quadrático (Pd\*Pd) para consumo de ração (CR), produção de ovos (Prod. ovo), peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO) e conversão alimentar (CA) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor ± EP)	Coefficiente linear (Pd) (Valor ± EP)	Coefficiente quadrático (Pd*Pd) (Valor ± EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
CR, g	96,533 ± 2,61 ***	4,663 ± 1,18 ***	-0,573 ± 0,19 **	0,612	530,4	543,2
ProdOvo, %	72,91 ± 2,41 ***	6,226 ± 1,49 ***	-0,852 ± 0,24 ***	0,833	487,6	500,0
PO, g	59,32 ± 0,96 ***	0,510 ± 0,38	-0,053 ± 0,06	0,526	300,8	313,2
MO, g/ave/dia	41,263 ± 2,19 ***	6,013 ± 1,31 ***	-0,808 ± 0,21 ***	0,779	300,8	311,0
CA, g/g	2,215 ± 0,07 ***	-0,096 ± 0,05	0,014 ± 0,008	0,865	-99,2	-88,8

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e coeficiente quadrático Pd.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

De acordo com resultados do efeito linear e quadrático dos níveis dietéticos de Pd sobre o desempenho produtivo com modelo de base de teste, disponíveis nas Tabelas 2 e 3, respectivamente, foi definido a melhor relação entre as variáveis CR, ProdOvo, PO, MO, CA e os níveis dietético de Pd (Figura 1). Em seguida, foi realizada a inclusão das covariáveis candidatas uma de cada vez no modelo de base de teste para definição do modelo final.

No caso das variáveis CR, Prodovo e MO a relação linear e quadrática com os níveis de Pd foram significativas (Tabelas 2 e 3). De acordo com os indicadores de qualidade de ajuste para essas variáveis, os modelos quadráticos (AIC = 530,4 e BIC = 543,2 para CR; AIC = 487,6 e BIC = 500,0 para ProdOvo; AIC = 300,8 e BIC = 311,0 para MO) tiveram melhor ajuste em relação ao modelo linear (AIC = 535,9 e BIC = 546,1 para CR; AIC = 496,2 e BIC = 506,2 para ProdOvo e AIC = 310,5 e BIC = 318,8 para MO). Deste modo, para CR, ProdOvo e MO foi feita a opção pelo modelo quadrático para continuidade das análises (Figura 1). Primeiramente, porque os parâmetros de qualidade de ajuste são favoráveis a este modelo e devido a possibilidade do processo de determinação dos níveis ótimos utilizando as derivadas parciais do modelo obtido. Para variável PO apenas a relação linear com os níveis dietéticos de Ca foi significativa (Tabela 2), neste caso, a continuidade da análise destas variáveis foi realizada com esse modelo (Figura 1). A variável CA não foi influenciada significativamente pelas funções polinomiais dos níveis dietéticos de Ca (Tabela 2 e 3). Neste caso, foi feita a opção pelo modelo quadrático (Figura 1), uma vez que, os parâmetros de qualidade de ajuste

são favoráveis ao ajuste do modelo quadrático ( $AIC = -99,2$  e  $BIC = -88,8$ ) em relação ao ajuste do modelo linear ( $AIC = -106,0$  e  $BIC = -97,5$ ).

Durante a inclusão das covariáveis nos modelos de base de teste para desempenho produtivo foi verificado que PB, Lis, IF, DE e tipo de linhagem foram significativas em pelo menos uma das variáveis dependentes. Posteriormente, foi verificado se a inclusão das covariáveis significativas melhoravam os ajustes dos modelos base de teste usando o BIC. Para CR, as covariáveis significativas foram PB ( $P = 0,0080$ ) e Linhagem (M) ( $P = 0,0207$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de PB (541,9) e Linhagem (M) (537,2) com o valor do modelo de base de teste com Ca (543,2), verificou-se que PB e Linhagem (M) foram capazes de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foram incluídas no modelo final. Para ProdOvo, a única covariável significativa foi IF ( $P = 0,0253$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de IF (501,6) com o valor do modelo de base de teste com Ca (500,0), verificou-se que IF não foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, não foi incluída no modelo final.

Para PO, as covariáveis significativas foram PB ( $P = 0,0005$ ), Lis ( $P = 0,0007$ ), DE ( $P = 0,0198$ ) e Linhagem (M) ( $P = 0,0166$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Lis (202,0), Linhagem (M) (301,1), PB (302,3) e DE (308,6) com o valor do modelo de base de teste com Ca (295,8), verificou-se que Lis foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foi incluída no modelo final. Para MO, nenhuma das covariáveis foram significativas e, por isso, não foram incluídas no modelo final. Para CA, as covariáveis significativas foram IF ( $P = 0,0139$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de IF (-81,5) com o valor do modelo de base de teste com Ca (-88,8), verificou-se que IF foi capaz de melhorar o ajuste do modelo e, por isso, foi incluída no modelo final.

Os efeitos não significativos das covariáveis candidatas relacionadas aos ensaios incluídas nos modelos de base de teste para CR, ProdOvo, PO, MO e CA sugerem que essas covariáveis não foram capazes de fornecer uma explicação abrangente para variabilidade entre os ensaios. Isto pode ser interpretado como causa dos níveis das covariáveis pouco variáveis entre os ensaios e/ou pelo fato de uma determinada covariável apresentar um efeito limitado, ou mesmo, nenhum efeito na variável resposta.

Os efeitos dos níveis dietéticos de Pd no desempenho produtivo de galinhas poedeiras estimados com os modelos finais e completos estão apresentados na Tabela 4. Os resultados da meta-análise mostraram que os níveis de Pd da dieta influenciaram o desempenho produtivo de galinhas poedeiras (Figura 1). Consequentemente, foi possível afirmar que o CR, ProdOvo, PO e MO de galinhas poedeiras estão intimamente ligadas ao nível de Pd da dieta.

Os resultados sustentam o fato que fósforo, juntamente do Ca, está diretamente relacionado com o desempenho das aves (Vieira et al., 2012). Muitos pesquisadores têm reportado a essencialidade desses minerais em conjunto nos processos metabólicos, absorção intestinal, controle de níveis séricos, formação óssea e da casca dos ovos (Costa et al., 2007; Pelicia, 2008; Murata et al., 2009). Neste contexto, níveis de Pd elevados podem prejudicar a reabsorção óssea de Ca e a adequada mineralização da casca dos ovos (Vargas Júnior et al., 2003; Vellasco et al., 2016). Da mesma maneira que o excesso, a deficiência de Pd limita o valor nutritivo do Ca e do fósforo, prejudicando o metabolismo e a deposição óssea desses minerais e, conseqüentemente a produtividade das aves (Silva, 2014).

O modelo final para CR incluiu além do Pd e Pd\*Pd, a PB e Linhagem (M) como efeito fixo (Tabela 4). Os coeficientes de PB e Linhagem (M) foram diferentes de zero, com valores de P igual a 0,0003 e 0,0010, respectivamente. A presença da Linhagem (M) no modelo final aumentou o valor esperado do CR em 14,238 g. O resultado sustenta a hipótese de que as galinhas poedeiras brancas têm menor consumo de ração do que as galinhas poedeiras marrons (Hy-Line Brown, 2014; Hy-Line W36, 2015; Rostagno et al., 2017). O coeficiente linear da PB no modelo final demonstra um efeito decrescente dos níveis de PB da dieta no CR, reduzindo o valor esperado em 7,06 g com o incremento de 10 g/kg de PB na dieta. A variável CR foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Pd da dieta (Figura 1), os coeficientes linear e quadrático de Pd estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0002 e 0,0040, respectivamente. De acordo com modelo final, uma redução do nível de Pd de 4,5 para 3,5 g/kg, resultaria em redução de apenas 0,1% no CR, ou seja, esses dois níveis resultam praticamente, em um mesmo consumo de ração pelas aves. A exigência nutricional de Pd para o maior CR obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 4,09 g/kg. O intenso melhoramento genético para eficiência produtiva de algumas linhagens tem causado queda na ingestão de ração, agravados por desafios sanitários, ambientais e de manejo. Neste contexto, a utilização do nível de Pd para o máximo consumo de ração pode reduzir esse problema de baixa ingestão de ração.

O modelo final para ProdOvo não incluiu nenhuma covariável, sendo o mesmo de base de teste, com Pd e Pd\*Pd como efeito fixo (Tabela 4). A variável ProdOvo foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Pd da dieta (Figura 1), os coeficientes linear e quadrático de Pd estimados foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0001 e 0,0007, respectivamente. De acordo com modelo final, para ProdOvo a redução do nível de Pd da dieta de 4,5 para 3,5 g/kg promove acréscimo da ProdOvo 5,22% superior, resultando



em 0,70% a mais de produção de ovos. A exigência nutricional de Pd para a maior ProdOvo obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 3,65 g/kg.

O modelo final para PO continha além do Pd, a Lis como efeito fixo (Tabela 4). O coeficiente estimado de Lis foi diferente de zero, com valores de P igual a 0,0007. No modelo final o coeficiente linear da Lis demonstra um efeito decrescente dos níveis de Lis da dieta no PO, reduzindo o valor esperado em 4,34 g com o incremento de 1 g/kg de Lis na dieta. O resultado sugere que os níveis de Lis utilizados nos estudos incluídos na meta-análise estão acima do ponto de máxima da relação curvilínea que existe entre esse aminoácido e o PO (Prochaska e Carey, 1993). A variável PO foi influenciada linearmente pelos níveis de Pd da dieta (Figura 1), o coeficiente linear Pd estimado foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0308. De acordo com esses resultados a redução do nível de Pd da dieta de 4,5 para 3,5 g/kg resultaria em peso de ovos 0,247% inferior. O aumento linear dos pesos dos ovos de galinhas poedeiras em função dos níveis de Pd sustenta a hipótese de que níveis inferiores de Pd podem levar a alterações no metabolismo dos nutrientes, resultando em menor deposição dos mesmos nos ovos (Scheideler e Al-Batshan, 1994; Sohail et al., 2001).

O modelo final para MO inclui apenas Pd e Pd\*Pd como efeito fixo (Tabela 4). A variável MO foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Pd da dieta (Figura 1), os coeficientes linear e quadrático de Pd estimados foram diferentes de zero, com valores de  $P \leq 0,0001$  e igual 0,0004, respectivamente. De acordo com modelo final, a redução do nível de Pd da dieta de 4,5 para 3,5 g/kg, promove o aumento 4,08% na MO, resultando em 0,87% a mais de massa de ovos. A exigência nutricional de Pd para a maior MO obtida por meio da derivada parcial do modelo final foi de 3,72 g/kg. A MO é um critério de desempenho que relaciona a produção e o peso dos ovos. Deste modo, o aumento linear do PO juntamente com o efeito quadrático da ProdOvo em função dos níveis de Pd, resultaram em um comportamento quadrático para MO, no entanto, o ponto ótimo e a exigência de Pd para MO (3,72 g/kg), foi superior ao nível recomendado para maior ProdOvo (3,65 g/kg), refletindo o efeito crescente do Pd no PO.

O modelo final para CA incluiu, além do Pd e Pd\*Pd, a IF como efeito fixo (Tabela 4). O coeficiente estimado de IF foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0139. No entanto, a variável CA não foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de Pd da dieta, os coeficientes linear e quadrático de Pd estimados não foram diferentes de zero, com valores de P iguais a 0,0518 e 0,0796, respectivamente.

As estimativas dos parâmetros, RMSE e  $R^2$  dos modelos para as variáveis de desempenho estão relatados na Tabela 4. O coeficiente linear Pd significativo, fornece

evidência conclusiva de uma relação linear entre a variável PO e os níveis de Pd na dieta. Por sua vez, os coeficientes quadráticos Pd\*Pd significativos fornecem evidências de uma relação curvilínea entre as variáveis CR, ProdOvo, MO e os níveis de Pd na dieta. Para essas variáveis respostas de desempenho, observou-se uma relação forte entre os valores preditos e observados: CR ( $R^2 = 0,987$ , RMSE = 1,35), ProdOvo ( $R^2 = 0,931$ , RMSE = 1,62), PO ( $R^2 = 0,991$ , RMSE = 0,383) e MO ( $R^2 = 0,925$ , RMSE = 1,40) (Ahmadi e Rodehutschord., 2012). Os gráficos dos resíduos (observado menos predito) versus os valores previstos não evidenciou viés de predição linear ou não-linear para os modelos. Além disso, foi possível verificar nos gráficos quantil-quantil que os pontos dos resíduos tendem a estar ao longo da linha de referência, indicando que os resíduos têm uma distribuição de probabilidade aproximadamente normal (Figura anexo 1).

**Tabela 4.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com fósforo disponível (Pd) ou com fósforo disponível (Pd) mais fósforo quadrático (Pd\*Pd) e covariáveis candidatas para consumo de ração (CR), produção de ovos (Prod. ovo), peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO) e conversão alimentar obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras

Variável	CR, g	ProdOvo, %	PO, g	MO, g/ave/dia	CA, g/g
	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)
Intercepto	211,17 ± 31,2 ***	72,910 ± 2,41 ***	96,232 ± 10,0 ***	41,263 ± 2,18 ***	1,798 ± 0,17 ***
Pd	4,5200 ± 1,16 ***	6,2259 ± 1,49 ***	0,1485 ± 0,07 *	6,0131 ± 1,31 ***	-0,0953 ± 0,05
Pd*Pd	-0,5519 ± 0,19 **	-0,8523 ± 0,24 ***	—	-0,8084 ± 0,21 ***	0,0138 ± 0,008
PB	-0,7060 ± 0,18 ***	—	—	—	—
Lis	—	—	-4,3405 ± 1,18 ***	—	—
IF	—	—	—	—	0,0077 ± 0,003 **
Linhagem (M)	14,238 ± 3,89 ***	—	—	—	—
Resumo do ajuste					
n observações	98	91	63	60	63
n ensaios	30	29	21	18	20
RMSE	1,349	1,624	0,383	1,395	0,047
R <sup>2</sup>	0,987	0,931	0,991	0,925	0,881
AIC <sup>a</sup>	512,8	487,6	184,0	300,8	-93,9
BIC <sup>b</sup>	530,5	500,0	200,3	311,0	-81,5

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>1</sup> A unidade do intercepto e linhagem (M) correspondem a mesma unidade que a respectiva variável dependente. A unidade de Pd, Pd\*Pd, PB e Lis correspondem a g/kg. A unidade de IF e DE correspondem a semanas.

<sup>a</sup> Raiz do erro quadrático médio.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz

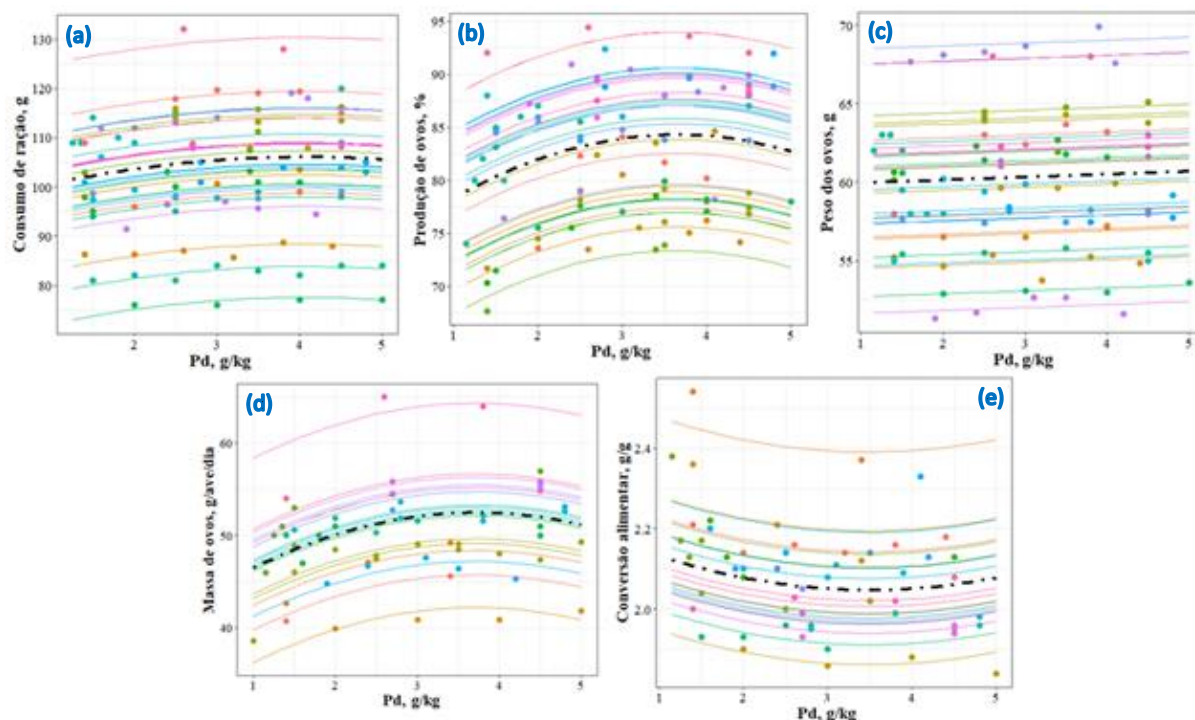


Figura 1. Consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e) em função do nível de Pd na dieta de galinhas poedeiras. As observações e a predição para cada ensaio são representadas por pontos e linhas coloridas, respectivamente. A linha tracejada representa os efeitos fixos para o intercepto e nível de Pd do modelo linear misto.

Os resultados da meta-análise confirmaram que os níveis de Pd estão diretamente relacionados com o desempenho das aves (Tabela 4), influenciando as variáveis consumo de ração produção de ovos, peso dos ovos e massa de ovos (Figura 1). Deste modo, dietas contendo níveis de Pd de 4,10; 3,65 e 3,72 g/kg, podem melhorar o desempenho de poedeiras para um maior consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos e massa de ovos respectivamente. Os níveis de Pd recomendados variaram em função da variável e de suas interações com fatores que influenciam as exigências nutricionais, como o manejo, condições ambientais, ingredientes da dieta, fase de produção, linhagem, entre outras.

De acordo com a meta-análise, pode-se afirmar que o nível médio de Pd da dieta necessário para um melhor desempenho produtivo foi 3,82 g/kg. Esse nível foi superior ao nível recomendado pelo NRC (1994) de 2,5 g/kg e inferior aos níveis recomendados nos manuais das Linhagens que variam de 3,3 a 5,8 g/kg, mas está próximo aos níveis recomendados pelas tabelas brasileiras de aves e suínos, que variam de 3,18 a 3,82 g/kg (Rostagno et al., 2017).

### 4.3.2. Qualidade óssea e da casca de ovos

O efeito linear (coeficiente linear Pd) dos níveis dietéticos de Pd sobre a qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 5. Os resultados mostraram que as variáveis PC, EC, GE e Ctb não foram influenciadas linearmente pelos níveis de Pd na dieta, os coeficientes lineares Pd estimados não foram diferentes de zero, com valor de P igual a 0,9754 para PC, 0,0584 para EC, 0,8942 para GE e 0,0525 para Ctb. Conseqüentemente, pode-se dizer que a qualidade óssea e da casca de ovos não estão ligadas aos níveis dietéticos de Pd. A correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Pd foi igual a -0,202 para PC, -0,189 para EC, -0,114 para GE e -0,273 para Ctb, indicando que a ausência de efeito do Pd na dieta tem uma relação fraca com os valores dessas variáveis respostas. Além disso, por se tratar de correlações negativas, foi possível observar que quanto maior os resultados dessas variáveis respostas, menor será o efeito linear do Ca.

**Tabela 5.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) para porcentagem da casca (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor $\pm$ EP)	Coefficiente linear (Pd) (Valor $\pm$ EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
PC, %	10,195 $\pm$ 0,67 ***	-0,002 $\pm$ 0,05	-0,202	44,75	49,5
EC, mm	0,391 $\pm$ 0,01 ***	-0,0015 $\pm$ 0,001	-0,189	-311,7	-303,6
GE, g/cm <sup>3</sup>	1,0856 $\pm$ 0,003 ***	0,000016 $\pm$ 0,00012	-0,114	-168,8	-165,4
Ctb, %	52,778 $\pm$ 2,00 ***	0,341 $\pm$ 0,17	-0,273	163,2	169,2

\*\*\* P-valor  $\leq$  0,001; \*\* P-valor  $\leq$  0,01; \* P-valor  $\leq$  0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e o coeficiente linear Pd.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

O efeito quadrático (coeficiente linear e quadrático de Pd) dos níveis dietéticos de Pd sobre a qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras está apresentado na Tabela 6. De acordo com esses resultados, as variáveis PC, EC, GE e Ctb não foram influenciadas de forma quadrática pelos níveis dietéticos de Pd. Os coeficientes linear e quadrático de Pd não foram diferentes de zero, com valor de P para o coeficiente quadrático Pd\*Pd igual a 0,6377 para PC, 0,5524 para EC, 0,5899 para GE e 0,4715 para Ctb. Conseqüentemente, pode-se afirmar que não existe evidências de relação quadrática das variáveis de qualidade óssea e da

casca de ovos com os níveis de Pd da dieta. A correlação observada entre o intercepto e o coeficiente quadrático Pd\*Pd foi igual a 0,529 para PC, 0,467 para EC, 0,215 para GE e 0,672 para Ctb, indicando que a ausência de efeito do Pd\*Pd tem uma relação fraca com os valores dessas variáveis respostas. Além disso, por se tratar de correlações positivas, foi possível observar que quanto maior os resultados dessas variáveis respostas, maior será o efeito quadrático do Pd.

**Tabela 6.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares com fósforo disponível (Pd) e fósforo disponível quadrático (Pd\*Pd) porcentagem da casca (PC), espessura casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tíbia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras

Variável	Intercepto (Valor ± EP)	Coefficiente linear (Pd) (Valor ± EP)	Coefficiente quadrático (Pd*Pd) (Valor ± EP)	Correlação <sup>a</sup>	AIC <sup>b</sup>	BIC <sup>c</sup>
PC, %	10,40 ± 0,79 ***	-0,161 ± 0,34	0,028 ± 0,06	0,529	50,4	56,1
EC, mm	0,387 ± 0,02 ***	0,0014 ± 0,005	-0,0004 ± 0,0007	0,467	-297,4	-287,3
GE, g/cm <sup>3</sup>	1,0852 ± 0,003 ***	0,0003 ± 0,0005	-5,0x10 <sup>-5</sup> ± 9,0x10 <sup>-5</sup>	0,215	-150,2	-146,4
Ctb, %	51,445 ± 2,70 ***	1,302 ± 1,32	-0,151 ± 0,21	0,672	166,0	173,3

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05.

<sup>a</sup> Correlação entre o intercepto e o coeficiente quadrático Pd\*Pd.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

De acordo com resultados do efeito linear e quadrático dos níveis dietéticos de Pd sobre a qualidade óssea e da casca de ovos com modelo de base de teste, disponíveis nas Tabelas 10 e 11, respectivamente, foi definido a melhor relação entre as variáveis PC, EC, GE, Ctb e os níveis dietético de Pd (Figura 2). Posteriormente, foi realizada a inclusão das covariáveis candidatas uma de cada vez no modelo de base de teste para definição do modelo final.

As variáveis PC, EC, GE e Ctb não foram influenciadas de forma linear e quadrática pelos níveis de Pd da dieta (Tabelas 10 e 11). De acordo com os indicadores de qualidade de ajuste, o modelo linear para PC (AIC = 44,75 e BIC = 49,5) e Ctb (AIC = 163,2 e BIC = 169,2), tiveram melhor ajuste em relação ao modelo quadrático: PC (AIC = 50,4 e BIC = 56,1) e Ctb (AIC = 166,0 e BIC = 173,3). No entanto, o modelo quadrático teve o melhor ajuste para EC (AIC = -311,7 e BIC = -303,6) e GE (AIC = -168,8 e BIC = -165,4), quando comparado com o modelo linear: EC (AIC = -297,4 e BIC = -287,3) e GE (AIC = -150,2 e BIC = -146,4). Nestes casos, foi feita a escolha pelo modelo linear (Figura 2), principalmente, pelo fato de que as variáveis não foram influenciadas pelos níveis de Pd de forma linear e quadrática. Além

disso, levou-se em conta que houve qualidade de ajuste superior do modelo linear para PC e Ctb.

Durante a inclusão das covariáveis nos modelos de base de teste para qualidade óssea e da casca de ovos foi verificado que EM, PB, Lis, Met+cis, IF e tipo de linhagem foram significativas em pelo menos uma das variáveis dependentes. Posteriormente, foi verificado se a inclusão das covariáveis significativas melhoravam os ajustes dos modelos base de teste usando o BIC. Para PC, as covariáveis significativas foram Met+cis ( $P = 0,0311$ ) e IF ( $P = 0,0085$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Met+cis (25,1) e IF (48,2) com o valor do modelo de base de teste com Ca (49,5), verificou-se que Met+cis e IF foram capazes de melhorar o ajuste do modelo. No entanto, foi feita a opção de não incluir Met+Cis no modelo final, já que o número de observações para essa covariável no conjunto de dados era muito baixo. Deste modo, foi incluída apenas IF no modelo final. Para EC, nenhuma das covariáveis foi significativa e, por isso, não foram incluídas no modelo final.

Para GE, as covariáveis significativas foram EM ( $P = 0,0006$ ), PB ( $P = 0,0014$ ), Lis ( $P = 0,0091$ ) e Linhagem (M) ( $P = 0,0001$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de EM (-157,7), PB (-160,2), Lis (-114,8) e Linhagem (M) (-170,9) com o valor do modelo de base de teste com Ca (-165,4), verificou-se que apenas Linhagem (M) não foi capaz de melhorar o ajuste do modelo. Em relação a covariável Lis, foi feita a opção de não a incluir no modelo final, já que o número de observações no conjunto de dados era muito baixo. Deste modo, para GE apenas EM e PB foram incluídas no modelo final. Para Ctb, a única covariável significativa foi Met+cis ( $P = 0,0024$ ). Comparando os valores de BIC dos modelos com a inclusão de Met+cis (124,6) com o valor do modelo de base de teste com Ca (169,2), verificou-se que Met+cis foi capaz de melhorar o ajuste do modelo. No entanto, foi feita a opção de não incluir Met+Cis no modelo final porque o número de observações para essa covariável no conjunto de dados era muito baixo. Deste modo, nenhuma covariável foi incluída no modelo final para Ctb.

Os efeitos não significativos das covariáveis candidatas relacionadas aos ensaios incluídas nos modelos de base de teste para PC, EC, GE e Ctb, sugerem que essas covariáveis não foram capazes de fornecer uma explicação abrangente para variabilidade entre os ensaios. Isto pode ser interpretado como causa dos níveis das covariáveis pouco variáveis entre os ensaios e/ou pelo fato de uma determinada covariável apresentar um efeito limitado, ou mesmo, nenhum efeito na variável resposta.

Os efeitos dos níveis dietéticos de Pd na qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras estimados com os modelos finais estão apresentados na Tabela 7. O

fósforo é detectado nas camadas mais externas da casca do ovo (Dennis et al., 1996; Cusack et al., 2003). Assim, é possível que os íons de fosfato possam inibir a precipitação do carbonato de Ca, contribuindo na finalização do processo de calcificação da casca. No entanto, sua participação no processo de formação da casca ainda é pouco conhecida (Lin e Singer, 2005). Apesar de não participar diretamente da formação da casca, o fósforo é essencial para períodos de calcificação óssea ativa e de reabastecimento de fosfato de cálcio nos ossos medulares (Leeson e Summers, 2008). Além disso, a redução do fósforo plasmático pode levar ao aumento da atividade do 1,25-dihidroxicolecalciferol, o qual induz a maior absorção intestinal e reabsorção óssea de Ca promovendo o aumento da concentração de Ca no útero para a formação da casca (Ligeiro, 2007). De acordo com os resultados da meta-análise os níveis de Pd da dieta não foram capazes de influenciar a qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras. Conseqüentemente, foi possível afirmar que a PC, EC, GE e Ctb não estão ligadas ao nível de Pd da dieta (Figura 2). Os resultados sugerem que os níveis de Pd usados nos trabalhos não foram capazes de comprometer as funções do fósforo e suas inter-relações com o Ca no metabolismo das aves, ao ponto de resultar em prejuízos à qualidade da casca e da tibia.

O modelo final para PC incluiu Pd e IF como efeito fixo (Tabela 7). O coeficiente de IF estimado foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0085. A variável PC não foi influenciada linearmente pelos níveis de Pd da dieta (Figura 2), o coeficiente linear Pd estimado não foi diferente de zero, com valor de P igual 0,9434. O modelo final para EC incluiu apenas Pd como efeito fixo (Tabela 7). Contudo, a variável EC não foi influenciada linearmente pelos níveis de Pd da dieta (Figura 2), o coeficiente linear Pd não foi diferente de zero, com valor de P igual 0,0584.

O modelo final para GE incluiu além do Pd, a EM e PB como efeito fixo (Tabela 7). Os coeficientes de EM e PB não foram diferentes de zero, com valor P igual a 0,2328 para ME e 0,5138 para PB. A variável GE não foi linearmente influenciada pelos níveis de Pd da dieta (Figura 2) e o valor de P para o coeficiente linear Pd estimado foi igual a 0,9539. O modelo final para Ctb incluiu apenas Pd como efeito fixo (Tabela 7). No entanto, a variável Ctb não foi influenciada linearmente pelos níveis de Pd da dieta (Figura 2), o coeficiente linear Pd estimado não foi diferente de zero, com valor de P igual a 0,0525.

As estimativas dos parâmetros, RMSE e  $R^2$  dos modelos para as variáveis de qualidade óssea e da casca de ovos estão relatados na Tabela 7. Os coeficientes lineares Pd não significativos fornecem evidências da ausência de relação linear entre os níveis de Pd na dieta e as variáveis PC, EC, GE e Ctb. Para as variáveis respostas de qualidade óssea e da



casca de ovos observou-se uma relação forte entre os valores preditos e observados: PC ( $R^2 = 0,99$ , RMSE = 0,20), EC ( $R^2 = 0,99$ , RMSE = 0,004), GE ( $R^2 = 0,997$ , RMSE = 0,0003) e Ctb ( $R^2 = 0,985$ , RMSE = 0,82) (Ahmadi e Rodehutsord, 2012). Os gráficos dos resíduos (observado menos predito) versus os valores previstos não evidenciou viés de predição linear ou não-linear para os modelos. Além disso, foi possível verificar nos gráficos quantil-quantil que os pontos dos resíduos tendem a estar ao longo da linha de referência, indicando que os resíduos têm uma distribuição de probabilidade aproximadamente normal (Figura anexo 2).

**Tabela 7.** Parâmetros estimados com modelos mistos lineares finais com fósforo disponível (Pd) e covariáveis candidatas para porcentagem de casca do ovo (PC), espessura de casca (EC), gravidade específica do ovo (GE) e porcentagem de cinzas na tibia (Ctb) obtidos na meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível em galinhas poedeiras

Variável	PC, %	EC, mm	GE, g/cm <sup>3</sup>	Ctb, %
	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)	(Valor ± EP)
Intercepto	19,646 ± 2,28 ***	0,3913 ± 0,01 ***	0,85121 ± 0,07 ***	52,778 ± 1,99 ***
Pd	-0,0035 ± 0,05	-0,00145 ± 0,0008	0,0000068 ± 0,0001	0,3405 ± 0,17
EM	—	—	0,000068 ± 0,00004	—
PB	—	—	0,00025 ± 0,0003	—
IF	-0,1613 ± 0,04 ***	—	—	—
Resumo do ajuste				
n observações	26	58	19	35
n ensaios	7	19	6	12
RMSE	0,197	0,0041	0,0003	0,824
R <sup>2</sup>	0,988	0,994	0,997	0,985
AIC <sup>a</sup>	42,5	-311,7	-146,0	163,2
BIC <sup>b</sup>	48,2	-303,6	-141,7	169,2

\*\*\* P-valor ≤ 0,001; \*\* P-valor ≤ 0,01; \* P-valor ≤ 0,05;

<sup>1</sup> A unidade do intercepto e linhagem (M) correspondem a mesma unidade que a respectiva variável dependente. A unidade de Pd e PB correspondem a g/kg e de EM corresponde a kcal/kg. A unidade de IF corresponde a semanas.

<sup>a</sup> Raiz do erro quadrático médio.

<sup>b</sup> AIC: Critério de informação de Akaike.

<sup>c</sup> BIC: Critério de informação Bayesiano de Schwarz.

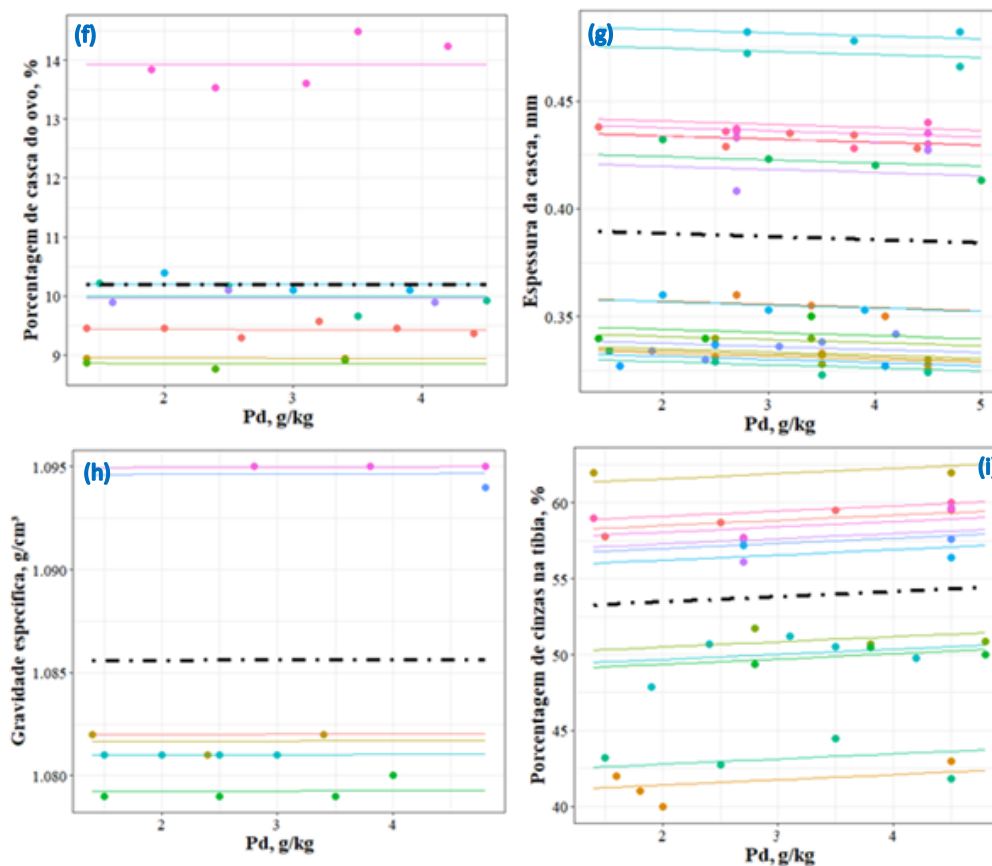


Figura 2. Porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tíbia (i) em função do nível de Pd na dieta de galinhas poedeiras. As observações e a predição para cada ensaio são representadas por pontos e linhas coloridas, respectivamente. A linha tracejada representa os efeitos fixos para o intercepto e nível de Pd do modelo linear misto.

Na meta-análise não foi possível recomendar um nível ótimo de Pd para a melhor qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras, uma vez que essas variáveis não foram influenciadas pelos níveis de Pd da dieta (Figura 2). Consequentemente, pode-se esperar que o nível de 3,82 g/kg Pd promova o melhor desempenho de galinhas poedeiras sem comprometer as respostas qualidade óssea e da casca de ovos.

As recomendações dos níveis de Pd para poedeiras no período de postura encontradas na literatura científica estão entre 0,15 e 0,45%, variando entre os estudos, de acordo com as variáveis avaliadas e suas interações com os fatores que alteram as exigências das aves, tais como, variáveis analisadas, níveis de cálcio, idade da ave, fonte de fósforo, temperatura ambiente, ingredientes da dieta, fase de produção, linhagem e idade das aves. (Sohail e Roland, 2002; Snow et al., 2004). Alguns trabalhos indicam níveis de Pd entre 4,5 e 3,0 g/kg, para se obter melhor desempenho, principalmente, da produção e massa de ovos (Usayran et al., 2001). No entanto, um nível muito alto de Pd, acima de 0,40-0,45%, pode interferir na

absorção intestinal de Ca, resultando em uma redução na qualidade da casca dos ovos (HOSSAIN e Bertechini, 1998; Usayran et al., 2001; Waldroup et al., 2005).

Atualmente reduzir o nível de Pd oferecido às galinhas, sem afetar negativamente a sua saúde ou a produtividade é crucial para a produção de ovos sustentável (Ahmadi e Rodehutscord, 2012). A redução dos níveis de Pd para valores entre 1,5 a 2,0 g/kg da dieta também tem sido recomendada, uma vez que, não tem mostrado efeito negativo no desempenho, qualidade da casca e ovos (Keshavarz, 2000; Keshavarz, 2003a). No entanto, em alguns casos os níveis dietéticos de Pd muito baixos podem afetar negativamente o consumo e prejudicar os parâmetros produtivos e a qualidade interna e externa dos ovos (Faria et al., 2000; Usayran et al., 2001). Neste contexto, uma parte dos estudos sustentam os benefícios de utilizar níveis intermediários de Pd entre 3,5 e 2,5 g/kg, que estão mais próximos aos recomendados pelas tabelas nutricionais (Sakomura et al., 1995; Leeson e Caston, 1996; Sohail et al. 2001; Skrivan et al., 2010; Araújo et al., 2010).

#### **4.4. CONCLUSÕES**

A abordagem meta-analítica permitiu definir a relação entre os níveis dietéticos de Pd e variáveis de desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos em galinhas poedeiras. Os resultados desta meta-análise reforçam o fato de que o Pd está intimamente relacionado ao desempenho de galinhas poedeiras, influenciando as variáveis consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos e massa de ovos.

Dietas contendo um nível médio de Pd igual 3,82 g/kg promove a máxima resposta de desempenho em galinhas poedeiras. Além disso, pode-se esperar que esse nível de Pd não comprometa as respostas para qualidade óssea e da casca de ovos.

É necessário uma melhoria e padronização em relação aos tipos de variáveis dependentes e suas unidades de medida para qualidade óssea e da casca de ovos, principalmente, no que diz respeito as respostas de resistência, força, análises histológicas e estruturais da casca do ovo e dos ossos, para que permitam a aplicação de meta-análise em avaliações nutricionais.

#### 4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMADI, H.; RODEHUTSCORD, M. A Meta-Analysis of Responses to Dietary Nonphytate Phosphorus and Phytase in Laying Hens. **Poultry Science**, v. 91, n. 8, p. 2072–2078, 2012.

ARAÚJO, L. F.; JUNQUEIRA, O. M.; ARAÚJO, C. S. da S.; SAVIETTO, D.; ALBUQUERQUE, R. de; BARBOSA, L. C. G. S. Níveis de fósforo disponível e tamanho de partícula do fosfato bicálcico na dieta de poedeiras comerciais de 24 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1223–1227, 2010.

BERTECHINI, A. G. Exigências de Minerais para Aves. In: SAKOMURA, N. K. (Ed.). **Nutrição de não-ruminantes**. 1. ed ed. Jaboticabal: FUNEP, 2014. p. 678.

BORENSTEIN, M.; HEDGES, L. V.; HIGGINS, J. P. T.; ROTHSTEIN, H. R. **Introduction to meta-analysis**. Chichester, U.K: John Wiley & Sons, 2009.

COSTA, F. G. P.; OLIVEIRA, C. F. S; DOURADO, L. R. B.; *et al.* Níveis de cálcio em dietas para poedeiras semipesadas após o pico de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 624–628, 2008.

CUSACK, M.; FRASER, A.; STACHEL, T. Magnesium and Phosphorus Distribution in the Avian Eggshell. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 134, n. 1, p. 63–69, jan. 2003.

DENNIS, J. E.; XIAO, S.-Q.; AGARWAL, M.; FINK, D. J.; HEUER, A. H.; CAPLAN, A. I. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from white leghorn chickens (*Gallus gallus*). **Journal of Morphology**, v. 228, n. 3, p. 287–306, 1996.

FARIA, D. E.; JUNQUEIRA, O. M.; SAKOMURA, N. K.; SANTANA, Á. E. Efeito de diferentes níveis de sódio e fósforo sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 458–466, abr. 2000.

FARIA, D. E.; JUNQUEIRA, O. M.; SAKOMURA, N. K.; SANTANA, Á. E. Efeito de diferentes níveis de manganês e fósforo sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. p. 105–112, 1999.

GORDON, R. W.; ROLAND, D. A. Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 76, n. 8, p. 1172–1177, 1997.

GRANJA PLANALTO DO BRASIL. Manual de manejo das poedeiras Dekalb White 2009. 38p. Disponível em: [www.granjaplanalto.com.br](http://www.granjaplanalto.com.br)

HOSSAIN, S. M.; BERTECHINI, A. G. Effect of Varying Manganese and Available Phosphorus Levels in the Diet on Egg Production and Eggshell Quality of Layers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 71, n. 3–4, p. 303–308, abr. 1998.

HY-LINE DO BRASIL. Manual de manejo comercial da Hy-line Brown 2014. 38p. Disponível em: [www.hyline.com.br](http://www.hyline.com.br)

HY-LINE DO BRASIL. Manual de manejo comercial da Hy-line W-36 2015. 36p. Disponível em: [www.hyline.com.br](http://www.hyline.com.br)

KAZEMPOUR, F.; JAHANIAN, R. Effects of different organic acids on performance, ileal microflora, and phosphorus utilization in laying hens fed diet deficient in non-phytate phosphorus. **Animal Feed Science and Technology**. v.223, p. 110-118, 2017.

KESHAVARZ, K. Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. **Poultry science**, v. 79, n. 5, p. 748–763, 2000.

KESHAVARZ, K. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and eggshell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. **Poultry science**, v. 82, n. 9, p. 1415–1422, 2003a.

KIM, J. H.; PITARGUE, F. M.; JUNG, H. *et al.* Effect of superdosing phytase on productive performance and egg quality in laying hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. v. 30, n. 7, p. 994–998, 21 abr. 2017.

LEANDRO, G. Meta-analysis in medical research: the handbook for the understanding and practice of meta-analysis. **BMJ books : Blackwell Pub**. Malden, Mass. 2005.

LEESON, S.; CASTON, L. J. Response of Laying Hens to Diets Varying in Crude Protein or Available Phosphorus. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 5, n. 3, p. 289–296, 1 set. 1996.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Feeding programs for laying hens. In: **Commercial poultry nutrition**. 3. ed., digitally repr ed. Guelph, Ontario: University Books, 2008. p. 398.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D.; CASTON, L. Response of brown-egg strain layers to dietary calcium or phosphorus. **Poultry Science**. v. 72, n. 8, p. 1510–1514, 1993.

LIGEIRO, E. C. **Efeito da utilização da fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos, avaliação econômica e excreção de fósforo e nitrogênio de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo ingredientes alternativos**. 2007. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2007.

LIN, Y.-P.; SINGER, P. C. Inhibition of Calcite Crystal Growth by Polyphosphates. **Water Research**, v. 39, n. 19, p. 4835–4843, nov. 2005.

LOHMANN DO BRASIL. Guia de manejo Lohmann LSL. 2014. 42p. Disponível em: [www.itz.com.br](http://www.itz.com.br)

LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R.; ANDRETTA, I.; CARVALHO, A. D.; HAUSCHILD, L. Meta-análise em pesquisas científicas-enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 285–294, 2007.

- MACHADO, A. L. C. **Níveis de fósforo disponível na dieta de poedeiras**. 2010. Dissertação de Mestrado em Zootecnia. UFMG, Belo Horizonte, MG, 2010.
- MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A.; VINING, G. G. Introduction to linear regression analysis. **John, Wiley and Sons, Inc.**, New York, 612p, 2006.
- MURATA, L. S.; ARIKI, J.; SANTANA, A. P.; DE MORAES JARDIM FILHO, R. Níveis de cálcio e granulometria do calcário sobre o desempenho e a qualidade da casca de ovos de poedeiras comerciais. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 103–110, 2009.
- NIE, W.; YANG, Y.; YUAN, J.; WANG, Z.; GUO, Y. Effect of Dietary Nonphytate Phosphorus on Laying Performance and Small Intestinal Epithelial Phosphate Transporter Expression in Dwarf Pink-Shell Laying Hens. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 34, 2013.
- NRC. **Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994**. Washington, D.C.: National Academies Press, 1994.
- PELICIA, K. **Efeito dos níveis de cálcio, fósforo e granulometria de calcário na dieta de poedeiras comerciais no primeiro e segundo ciclo de produção**. 2008. 104 f. Tese de Doutorado em Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2008.
- PINHEIRO, J. C.; BATES, D. M. Model building for nonlinear mixed-effects models. **Dept. Statistics, Univ. Wisconsin, Madison**. 1998.
- PROCHASKA, J. F.; CAREY, J. B. Influence of dietary lysine on egg production and liquid egg composition. **Poultry Science**, v. 72, Supp. 1, p. 186, 1993.
- R CORE TEAM, 2017.R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation 568 for Statistical Computing**, Vienna, Austria.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; *et al.* Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4 ed. Viçosa, MG: Horacio Santiago Rostagno, 2017.
- SAKOMURA, N. K.; SERAFIM, G. S.; PINHEIRO, J. W.; RESENDE, K. T.; JUNQUEIRA, O. M. Exigências nutricionais de fósforo para galinhas poedeiras. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p. 936–951, 1995.
- SAS (Statistical Analysis System). University Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2014.
- SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J. J.; ST-PIERRE, N. R. Meta-Analyses of Experimental Data in Animal Nutrition. **Animal**, v. 2, n. 08, p. 1203–1214, ago. 2008.
- SCHEIDELER, S. A.; AL-BATSHAN, H. Basics of calcium, phosphorus nutrition in layers studied. **Feedstuffs**, v. 66, n. 14, p. 6–15, 1994

- SILVA, E. A. da. **Níveis de cálcio e relações cálcio: fósforo em rações para galinhas poedeiras leves**. 2014. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2014.
- SKRIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. Effect of different phosphorus levels on the performance and egg quality of laying hens fed wheat-and maize-based diets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. 10, p. 420–427, 2010.
- SNOW, J. L.; DOUGLAS, M. W.; KOELKEBECK, K. W.; BATAL, A. B.; PERSIA, M. E.; BIGGS, P. E.; PARSONS, C. M. Minimum phosphorus requirement of one-cycle and two-cycle (molted) hens. **Poultry science**, v. 83, n. 6, p. 917–924, 2004.
- SNOW, J. L.; RAFACZ, K. A.; UTTERBACK, P. L.; UTTERBACK, C. W.; LEEPER, R. W.; PARSONS, C. M. Hy-Line W-36 and Hy-Line W-98 laying hens respond similarly to dietary phosphorus levels. **Poultry science**, v. 84, n. 5, p. 757–763, 2005.
- SOHAIL, S. S.; BRYANT, M. M.; RAO, S. K.; ROLAND, D. A. Influence of Cage Density and Prior Dietary Phosphorus Level on Phosphorus Requirement of Commercial Leghorns. **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 769–775, jun. 2001.
- SOHAIL, S. S.; ROLAND, D. A. Influence of dietary phosphorus on performance of Hy-Line W36 hens. **Poultry science**, v. 81, n. 1, p. 75–83, 2002.
- ST-PIERRE, N. R. Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology1. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 4, p. 741–755, 2001.
- ST-PIERRE, N. R. Meta-analyses of experimental data in the animal sciences. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 343–358, 2007.
- SUMMERS, J. D. Reduced dietary phosphorus levels for layers. **Poultry Science**. v. 74, n. 12, p. 1977–1983, 1995.
- USAYRAN, N.; FARRAN, M. T.; AWADALLAH, H. H. O.; ASHKARIAN, V. M. Effects of Added Dietary Fat and Phosphorus on the Performance and Egg Quality of Laying Hens Subjected to a Constant High Environmental Temperature. **Poultry Science**, v. 80, p. 1695–1701, 2001.
- VALDÉS-NARVÁEZ, V. M.; MANUEL, C. G.; ARTURO, P. M. *et al.* Optimum level of apparent available phosphorus for Leghorn white hens (Hy-line W36) during the first laying cycle. **Técnica Pecuária en México**. v. 44, n. 1, 2006.
- VARGAS JÚNIOR, J. G. de; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; CUPERTINO, E. S.; CARVALHO, D. C. O.; NASCIMENTO, A. H. do. Níveis Nutricionais de Cálcio E Fósforo Disponível Para Aves de Reposição Leves E Semipesadas de 0 a 6 Semanas de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1919–1926, dez. 2003.
- VELLASCO, C. R.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; CALDERANO, A. A.; MELLO, H. H. de C.; PASTORE, S. M. Níveis de Cálcio E Relação Cálcio: Fósforo Em Rações Para Poedeiras Leves de 24 a 40 Semanas de Idade. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 206–216, jun. 2016.



VESTERINEN, H. M.; SENAA, E. S.; EGANA, K. J.; *et al.* Meta-analysis of data from animal studies: A practical guide. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 221, p. 92–102, jan. 2014.

VIEIRA, D. V. G.; BARRETO, S. L. T. de; VALERIANO, M. H.; JESUS, L. F. D. de; SILVA, L. F. F. da; MENCALHA, R.; BARBOSA, K. S.; MENDES, R. K. V.; CASSUCE, M. R.; MELO, T. de S. Exigências de Cálcio E de Fósforo Disponível Para Codornas Japonesas de 26 a 38 Semanas de Idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 1, p. 204–213, mar. 2012.

WALDROUP, P. W.; WATKINS, S. E.; HELLWIG, H. M. Influence of Sodium Source and Level on Performance of Second-Cycle Hens Fed Diets with Different Levels of Nonphytate Phosphorus. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 6, p. 399–407, 1 jun. 2005.

WANG, M. C.; BUSCHMAN, B. J. **Integrating results through meta-analytic review using SAS software**. Cary, NC: SAS Institute, 1999.

WICKHAM, H. **ggplot2 Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer, New York, 2009.

## ANEXOS ARTIGO 2

**Tabela anexo 1.** Resumo das referências utilizadas para a meta-análise do efeito dos níveis dietéticos de fósforo disponível no desempenho, qualidade óssea e da casca de ovos de galinhas poedeiras.

Ensaio	Autores	Ano de publicação	Exp. / Fator	Pd, mg/kg	Cor da Linhagem	País	Fonte
1	Leeson et al.	1993	I	2,50 / 3,00 / 3,50 / 4,00	Marrom	Canada	Poult Sci
2	Summers	1995	I	2,00 / 4,00	Branca	Canada	Poult Sci
3	Summers	1995	II	3,00 / 4,00	Branca	Canada	Poult Sci
4	Sakomura et al.	1995	I	1,40 / 2,00 / 2,60 / 3,20 / 3,80 / 4,40	Branca	Brasil	Rev Bras Zootec
5	Leeson e Caston	1996	I	2,70 / 3,40 / 4,10	Branca	Canada	J Appl Poult Res
6	Hossain e Bertechini	1998	I	2,5 / 3,5 / 4,5	Branca	Brasil	Ani Fe Sci Tech
7	Hossain e Bertechini	1998	II	2,5 / 3,5 / 4,5	Branca	Brasil	Ani Fe Sci Tech
8	Hossain e Bertechini	1998	III	2,5 / 3,5 / 4,5	Branca	Brasil	Ani Fe Sci Tech
9	Faria et al.	1999	I	1,40 / 3,40	Branca	Brasil	Rev Bras Zootec
10	Faria et al.	2000	II	1,40 / 2,40 / 3,40	Branca	Brasil	Rev Bras Zootec
11	Sohail et al.	2001	I	1,50 / 2,50 / 3,50 / 4,00	Branca	USA	Poult Sci
12	Usayran et al.	2001	I	2,00 / 3,00 / 4,00 / 5,00	Branca	Líbano	Poult Sci
13	Usayran et al.	2001	II	1,50 / 2,50 / 3,5 / 4,50	Branca	Líbano	Poult Sci

14	Sohail e Roland	2002	I	1,0 / 1,5 / 2,0 / 2,5 / 3,0 / 3,5 / 4,0 / 4,5 / 5,0	Branca	USA	Poult Sci
15	Snow et al.	2004	I	1,15 / 1,25 / 1,35 / 1,50 / 4,50	Branca	USA	Poult Sci
16	Snow et al.	2004	II	1,60 / 1,80 / 2,00 / 4,50	Branca	USA	Poult Sci
17	Snow et al.	2005	I	1,40 / 4,50	Branca	USA	Poult Sci
18	Snow et al.	2005	II	1,40 / 4,50	Branca	USA	Poult Sci
19	Valdés-Narváez et al.	2006	I	1,50 / 2,00 / 2,50 / 3,00	Branca	México	Tecn Pec Mex
20	Araújo et al.	2010	I	2,80 / 3,80 / 4,80	Marrom	Brasil	Rev Bras Zootec
21	Araújo et al.	2010	II	2,80 / 3,80 / 4,80	Marrom	Brasil	Rev Bras Zootec
22	Machado	2010	I	1,50 / 2,50 / 3,50 / 4,50	Branca	Brasil	Dissertação UFMG
23	Skrivan et al.	2010	I	2,00 / 3,00 / 3,90	Marrom	Rep. Checa	Cze J Ani Sci
24	Skrivan et al.	2010	II	1,60 / 2,50 / 4,10	Marrom	Rep. Checa	Cze J Ani Sci
25	Nei et al.	2013	I	1,90 / 2,40 / 3,10 / 3,50 / 4,20	Branca	China	J Ani Sci Biot
26	Kazempour e Jahanian	2017	I	2,70 / 4,50	Branca	Iran	Ani Fe Sci Tech
27	Kazempour e Jahanian	2017	II	2,70 / 4,50	Branca	Iran	Ani Fe Sci Tech
28	Kazempour e Jahanian	2017	III	2,70 / 4,50	Branca	Iran	Ani Fe Sci Tech
29	Kazempour e Jahanian	2017	IV	2,70 / 4,50	Branca	Iran	Ani Fe Sci Tech
30	Kim et al.	2017	I	2,60 / 3,80	Marrom	Coreia do Sul	Asi-Aust J Ani Sci

---

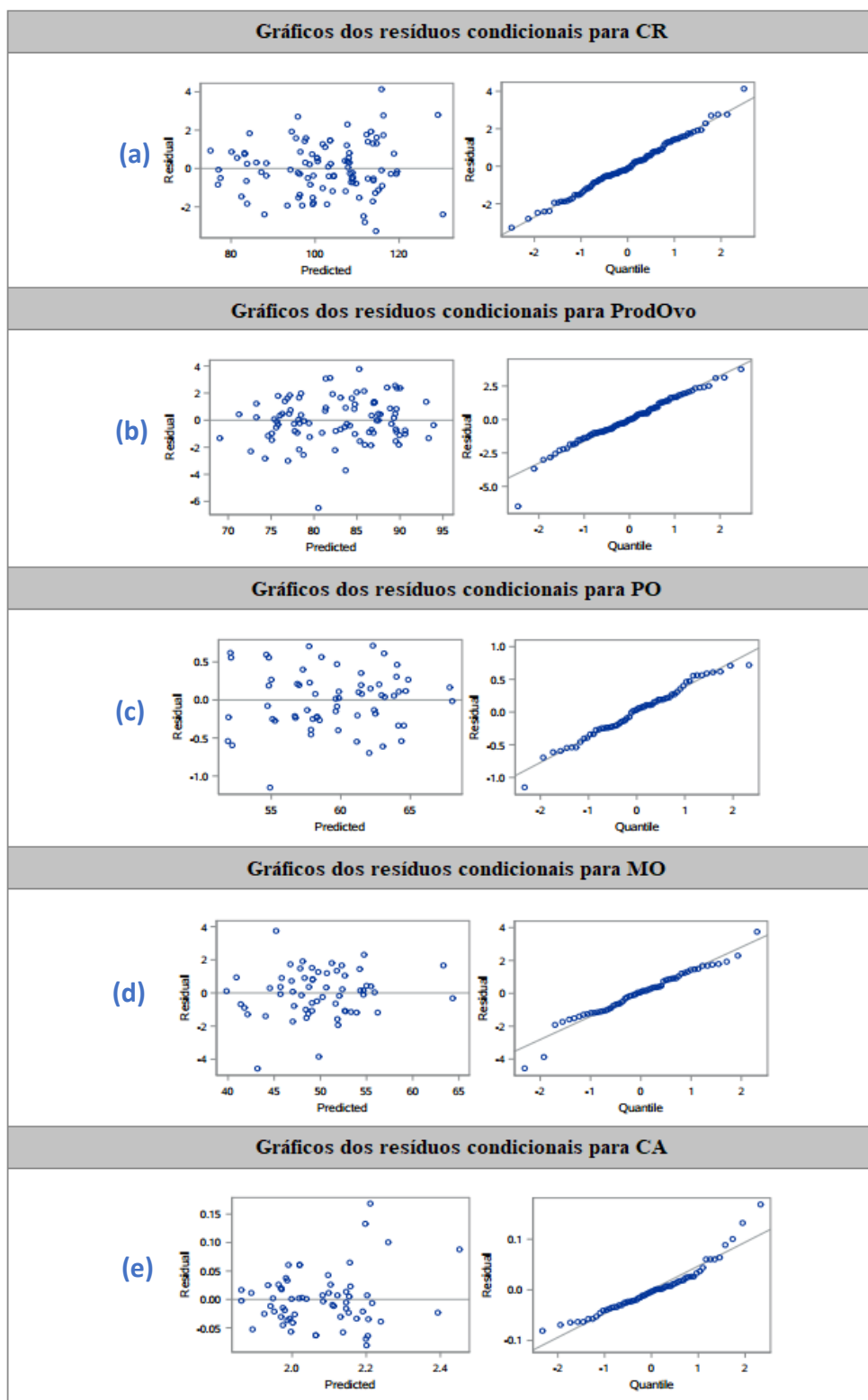


Figura anexo 1. Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para consumo de ração (a), produção de ovos (b), peso dos ovos (c), massa de ovos (d) e conversão alimentar (e). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos.

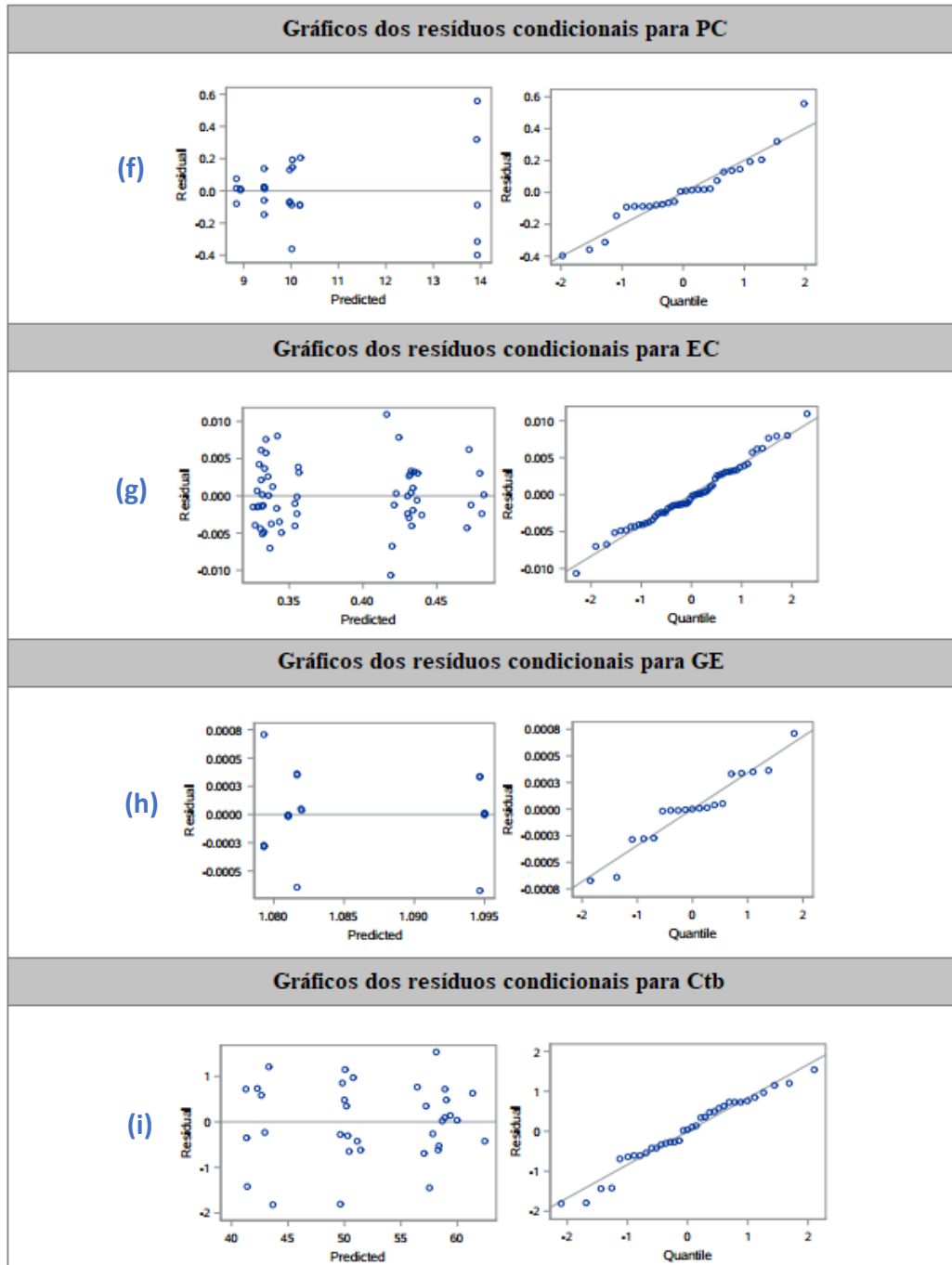


Figura anexo 2. Gráficos dos resíduos condicionais obtidos nos modelos lineares mistos finais para porcentagem de casca do ovo (f), espessura da casca (g), gravidade específica (h) e porcentagem de cinzas na tibia (i). À esquerda o gráfico dos resíduos versus os valores preditos e, à direita o gráfico quantil-quantil dos resíduos.