

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Tese

Efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades energéticas em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e composição da tíbia, na fase de 28 a 35 dias de idade

Henrique Müller Dallmann

Pelotas, 2019

Henrique Müller Dallmann

Efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades energéticas em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e composição da tíbia, na fase de 28 a 35 dias de idade

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Área do conhecimento: Nutrição Animal).

Orientador: Fernando Rutz

Coorientadores: Paulo Roberto Dallmann

Valdir Silveira de Avila

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

D144e Dallmann, Henrique Müller

Efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades energéticas em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e composição da tíbia, na fase de 28 a 35 dias de idade / Henrique Müller Dallmann ; Fernando Rutz, orientador ; Valdir Silveira de Avila, Paulo Roberto Dallmann, coorientadores. — Pelotas, 2019.

70 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Enzimas. 2. Fitato. 3. Fósforo. 4. Tíbia. 5. Superdosagem. I. Rutz, Fernando, orient. II. Avila, Valdir Silveira de, coorient. III. Dallmann, Paulo Roberto, coorient. IV. Título.

CDD : 636.51

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Henrique Müller Dallmann

Efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades energéticas em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e composição da tíbia, na fase de 28 a 35 dias de idade

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 25/02/2019

Banca examinadora:

.....
Ph. D. Fernando Rutz (Orientador)
Doutor em Nutrição e Alimentação Animal pela *University of Kentucky*.

.....
Dr. Nelson José Laurino Dionello
Doutor em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas.

.....
Dr. Victor Fernando Büttow Roll
Doutor em Produção Animal pela *Universidad de Zaragoza*.

.....
Dra. Aline Arassiana Piccini Roll
Doutora em Nutrição Animal pela Universidade Federal de Pelotas.

.....
Dra. Carmen Lucia Garcez Ribeiro
Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas.

Agradecimentos

A Deus, por ter me presenteado com a vida e a família que tenho; e por me dar forças para seguir em frente e poder vencer mais essa etapa.

À minha família, que sempre me incentiva e me apoia incondicionalmente em todos os momentos. Essa conquista também é de vocês.

À minha namorada, Taiani, pela força e incentivos nas horas de dificuldades e incertezas e por todo o apoio e compreensão, bem como pelo carinho e companheirismo do dia-a-dia. Obrigado por fazer parte dessa etapa importante da minha vida.

Ao meu amigo e orientador, professor Fernando Rutz, pela atenção, ensinamentos e confiança em mim depositada durante todo o período da minha vida acadêmica, sendo um verdadeiro exemplo de profissional e de caráter a ser seguido.

À Embrapa Suínos e Aves de Concórdia/SC, em especial aos pesquisadores Valdir Silveira de Avila e Everton Luis Krabbe e todos os demais pesquisadores, analistas e colaboradores, que contribuíram e se dedicaram ao máximo, tornando possível a execução deste trabalho.

Aos colegas de Coordenação de Produção Agropecuária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Câmpus Ibirubá, por todo auxílio e compreensão, para eu poder conciliar trabalho e doutorado.

Aos professores que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional.

Muito obrigado!

Resumo

DALLMANN, Henrique Müller. **Efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades energéticas em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e composição da tíbia, na fase de 28 a 35 dias de idade.** 2019. 70f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

A fitase é uma enzima capaz de eliminar as propriedades antinutricionais do fitato, pela hidrólise e desdobramento do mioinositolfosfato e liberação do fósforo para ser absorvido, melhorando o metabolismo dos nutrientes e reduzindo a excreção do fósforo, nitrogênio e outros nutrientes no meio ambiente. No entanto, a fragilidade operacional desta enzima em condições extremas de pH e temperatura são as principais limitações do uso da fitase nas rações animais. Neste trabalho foram alojados 576 frangos, machos, da linhagem *Cobb500*, em gaiolas metabólicas de metal, onde o alimento e a água foram fornecidos à vontade. As dietas continham níveis crescentes de energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio - EMAn (2950, 3050, 3150 e 3250 kcal/kg) e diferentes níveis de fitase (sem fitase, 500 e 1000 FTU/kg), distribuídas em blocos casualizados, com 12 tratamentos, 8 repetições de 6 aves cada. Para os dados de desempenho foram avaliados: peso vivo, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. Para as características físicas e deposição mineral das tíbias, foram avaliados: força, área, comprimento, matéria seca, cálcio, fósforo, magnésio, zinco e cinzas. A dieta com inclusão de 500 FTU/kg de fitase e com nível energético de 3150 kcal/kg de EMAn/kg apresentou os melhores resultados de desempenho no período estudado. A suplementação de fitase em níveis de 500 e 1000 FTU/Kg influenciou negativamente a deposição de cálcio, fósforo, matéria seca e cinzas, além das variáveis força e área das tíbias. Não houve diferença nas variáveis de comprimento do osso e nos níveis de magnésio e zinco presentes nas tíbias.

Palavras-chave: enzimas; fitato; fósforo; tíbia; superdosagem

Abstract

DALLMANN, Henrique Müller. **Effects of different levels of phytase and energy densities on broiler diets on performance and composition of the tibia from 28 to 35 days old**. 2019. 70f. Thesis (Doctor of Animal Science) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Phytase is an enzyme able of eliminating the antinutritional properties of phytate by hydrolyzing and unfolding myoinositolphosphate and releasing phosphorus to be absorbed, improving nutrient metabolism and reducing the excretion of phosphorus, nitrogen and other nutrients into the environment. However, the operational fragility of this enzyme under extreme conditions of pH and temperature are the main limitations of phytase use in animal feed. In this work, 576 male broilers from the *Cobb500* strain were housed in metabolic cages. Feed and water were supplied ad libitum. The diets contained increasing levels of apparent metabolizable energy corrected for nitrogen balance - AMEn (2950, 3050, 3150 and 3250 kcal/kg) and different levels of phytase (control, 500 and 1000 FTU/kg phytase) distributed in randomized blocks design, with 12 treatments, 8 replicates of 6 birds each. For the performance data, live weight, feed intake, weight gain and feed conversion were evaluated. For the physical characteristics and mineral deposition of the tibia, strength, area, length, dry matter, calcium, phosphorus, magnesium, zinc and bone ash were evaluated. A diet with 500 FTU/kg of phytase and an energy level of 3150 kcal AMEn/kg presented the best performance of broiler chickens. Phytase supplementation at levels of 500 and 1000 FTU/kg negatively influenced calcium, phosphorus, dry matter and ash deposition, as well as strength and area variables of broiler chickens. There was no difference in the bone length variables and in the magnesium and zinc content levels present in the tibia.

Key-words: enzymes; phytate; phosphorus; tibia; superdosing

Lista de Tabelas

Projeto de Pesquisa

Tabela 1	Composição dos tratamentos experimentais.....	24
----------	---	----

Relatório do Trabalho de Campo

Tabela 1	Composição nutricional das dietas experimentais.....	32
----------	--	----

Artigo 1

Tabela 1	Composição nutricional das dietas experimentais.....	38
----------	--	----

Tabela 2	Composição dos tratamentos experimentais.....	39
----------	---	----

Tabela 3	Médias, erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F para as variáveis de desempenho de frangos de corte, recebendo dietas com níveis crescente de EMAn e fitase, de 28 a 35 dias.....	41
----------	---	----

Artigo 2

Tabela 1	Composição nutricional das dietas experimentais.....	50
----------	--	----

Tabela 2	Composição dos tratamentos experimentais.....	50
----------	---	----

Tabela 3	Níveis de Matéria Seca (MS), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Fósforo (P), Zinco (Zn) e Cinzas (Cz) nas tíbias de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fitase e densidade energética, na fase de 28 a 35 dias.....	52
----------	--	----

Tabela 4	Índices de força, comprimento e área das tíbias de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fitase e densidade energética, na fase de 28 a 35 dias.....	53
----------	--	----

Sumário

1	Introdução	9
2	Revisão da Literatura	10
2.1	Fósforo	10
2.2	Ácido Fítico (Fitato)	11
2.3	Fitase	12
2.4	Superdosagem de fitase	15
2.5	Metabolismo de Cálcio e Fósforo e suas interações com o Tecido Ósseo	16
3	Projeto de Pesquisa	19
3.1	Caracterização do Problema	20
3.2	Objetivos	22
3.2.1	Objetivo Geral	22
3.2.3	Objetivos Específicos	22
3.3	Metas	23
3.4	Metodologia e Estratégia de Ação	23
3.4.1	Animais Experimentais e Manejo	23
3.4.2	Tratamentos	24
3.4.3	Programa de Alimentação e Coleta de Dados	24
3.4.4	Variáveis Analisadas	25
3.4.4.1	Desempenho zootécnico	25
3.4.4.2	Integridade Óssea	25
3.4.5	Delineamento Experimental e Análise Estatística	25
3.6	Resultados e Impactos Esperados	25
3.6.1	Indicadores de Resultados ao Final do Projeto	26
3.6.2	Repercussão e/ou Impactos dos Resultados	26
3.7	Cronograma	26
3.8.	Outros Projetos Executados pelos Membros da Equipe	27
3.9	Aspectos Éticos	27
3.10.	Referências Bibliográficas	29
4	Relatório do Trabalho de Campo	31
4.1	Local	31

4.2 Período Experimental.....	31
4.3 Animais	31
4.4 Dietas Experimentais	31
4.5 Delineamento Experimental	32
4.6 Aspectos Éticos	33
4.7 Coleta de Dados	33
4.7.1 Desempenho	33
4.7.2 Abate das Aves.....	33
4.7.2.1 Características da Tíbia	33
4.8 Análise Estatística.....	34
4.9 Resultados	34
5. Artigo 1	35
6. Artigo 2.....	46
7 Considerações Finais	59
Referências	60

1 Introdução

O Brasil ocupa a liderança mundial na exportação de carne de frango e a segunda posição na produção de frangos de corte do mundo (ABPA, 2018). Isto se deve principalmente ao melhoramento genético, ao estudo da ambiência, às novas formulações de dietas, fundamentadas, principalmente, dentro do contexto da otimização dos seus ingredientes e ao uso de aditivos. Além disso, os vários estudos visando estabelecer valores nutricionais mais adequados para cada fase da criação, as melhorias do conhecimento aplicado à nutrição têm contribuído para aumentar o peso de abate, melhorar a eficiência alimentar, uniformizar os lotes, diminuir o tempo de criação, além de melhorar a qualidade e o rendimento da carcaça (ROSTAGNO et al., 2011). De forma geral, no Brasil, as rações para frangos de corte representam em média 70% dos custos de produção (EMBRAPA, 2019). Suas fórmulas quase que exclusivamente são compostas de ingredientes de origem vegetal que, em sua maioria, possuem compostos antinutricionais para os animais não-ruminantes. Estes animais não produzem ou produzem pequenas quantidades de enzimas em seu sistema digestório, capazes de digerir esses compostos, o que traz a necessidade da suplementação com enzimas exógenas (GHOSH et al., 2016).

Naturalmente, em ingredientes de origem vegetal utilizados nas dietas de frangos de corte, o fósforo (P) permanece complexado na forma de fitato. O fitato geralmente é responsável por aproximadamente dois terços do total de P presente em grãos e plantas (MAENZ, 2001; VIEIRA et al., 2016). É necessário que o fitato seja hidrolisado pela enzima fitase para liberar P. Embora a atividade da fitase endógena esteja presente na mucosa do trato digestório das aves domésticas (MAENZ & CLASSEN, 1998), o fitato é pouco aproveitado pelos frangos de corte. Consequentemente, é necessário incluir fósforo na dieta dos animais para atingir níveis de crescimento e produção ideais. Isso eventualmente leva as aves a não utilizarem uma alta proporção de fósforo da dieta e excretarem esse elemento nas fezes. A fitase exógena pode ser incluída em dietas para hidrolisar fitato no trato gastrointestinal (TGI), que pode disponibilizar mais fósforo fítico para absorção das aves e permitir a redução da suplementação de fósforo sem comprometer o desempenho e diminuir a excreção de fósforo nas fezes dos animais, diminuindo

assim o impacto ambiental nocivo do fósforo (JONDREVILLE et al., 2007; MOHAMMED et al., 2010; LALPANMAWIA et al., 2014).

A suplementação da enzima fitase nas dietas melhora a disponibilidade de fitato e de outros minerais, incluindo Cálcio (Ca), Manganês (Mn) e Zinco (Zn) (JALAL & SCHEIDELER, 2001; GHOSH et al., 2016). Além disso, a suplementação de fitase pode aumentar a disponibilidade de outros nutrientes, como proteínas, aminoácidos (RUTHERFURD et al., 2004) e energia (NEWKIRK & CLASSEN, 2001) em frangos de corte. A capacidade da fitase em melhorar a disponibilidade de nutrientes dietéticos em aves depende da composição da dieta, do conteúdo mineral, das condições endógenas (como o pH do TGI), das fontes de fitase e da idade da ave (GHOSH et al., 2016).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar as características físicas e deposição mineral das tíbias e o desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fitase e densidades energéticas, especificamente dos 28 aos 35 dias de idade, período considerado estratégico por ser o de alto consumo de ração e devido a escassez de estudos sobre o assunto nessa fase de produção.

2 Revisão da Literatura

2.1 Fósforo

O fósforo é o mineral de maior participação nos custos da ração (DE LIMA, et al., 2010). Além disso, o seu excesso nas dietas causa maior excreção deste mineral no meio ambiente, o que aumenta a poluição. Porém, a deficiência de fósforo acarreta em redução no crescimento, baixa uniformidade dos lotes, maior incidência de problemas locomotores e distúrbios metabólicos em frangos de corte. Dentre as principais funções do fósforo no desempenho de frangos de corte, destacam-se, sua essencialidade para a construção da estrutura óssea; sua participação no desenvolvimento de membranas celulares; sua presença na composição dos ácidos nucléicos, na diferenciação celular; sua ação na transferência de energia (na forma de Adenosina Trifosfato - ATP); além de seu efeito no controle do apetite e na eficiência alimentar destas aves (FUKAYANA et al., 2008).

O fósforo é eliminado em grande quantidade pelas excretas das aves, juntamente com o nitrogênio, esses dois elementos acabam poluindo o solo e a água, o que representa efeito nocivo para o ambiente. Outro fator importante, é que somente em torno de 33% do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal é absorvido pelas aves, os outros 67% são excretados. Esta perda prejudica o possível melhor desempenho das aves (GOMIDE et al., 2011).

2.2 Ácido Fítico (Fitato)

O fitato (Hexa-Fosfato de Inositol) é um ácido, composto orgânico naturalmente presente na maioria dos grãos de cereais (MAENZ, 2001). O fósforo ligado ao fitato normalmente não é disponível para a utilização dos animais não ruminantes, incluindo frangos de corte (OATWAY et al., 2001; OLUKOSI et al., 2010; WOYENGO & NYACHOTI, 2013). Como o fitato é pouco utilizado pelos não ruminantes, a necessidade de fósforo na dieta não é satisfeita apenas com o fósforo fítico presente nos ingredientes de origem vegetal. Dessa forma, é necessário acrescentar fósforo na dieta para atender às necessidades desse elemento e permitir aos animais alcançarem um ótimo desempenho.

O fitato também foi identificado como um fator antinutricional, pois pode se complexar com o fósforo e se ligar a outros minerais (cátions bivalentes) como o cálcio, o zinco, o cobre, o ferro, o magnésio, o manganês, e outros; pode impossibilitar também a absorção de proteínas, aminoácidos como a lisina, a histidina, a arginina, e outros; além do amido e energia metabolizável contida nos alimentos, impedindo suas absorções no TGI e tornando-os indisponíveis aos animais (URBANO et al., 2000; MAZZUCO & BERTECHINI, 2014). Estes complexos são hidrolisados por uma enzima chamada fitase, de produção endógena quase nula nas aves, principalmente nas fases iniciais de criação. Desta forma, ressalta-se a necessidade de sua suplementação exógena nas formulações de dietas para frangos de corte (BEDFORD & PARTRIDGE, 2010).

Muitas estratégias, como adição de fitase às dietas e o uso de ingredientes com baixo teor de fitato, foram desenvolvidos na tentativa de melhorar a disponibilidade de fósforo em não ruminantes. Para a disponibilidade aos frangos, o fitato deve ser hidrolisado em inositol e fósforo inorgânico no trato digestivo (SANDBERG, 2002). Embora as aves sejam capazes de degradar o fitato em fósforo

inorgânico, a atividade endógena de fitase no TGI e a atividade intrínseca de fitase nos alimentos de frangos de corte são muito baixas para hidrolisar efetivamente a molécula de fitato (MAENZ et al., 1999).

Devido ao não aproveitamento eficiente do fósforo pelos animais, as empresas fabricantes de ração veem-se obrigadas a formular dietas com maiores teores desse elemento, o que faz com que ocorra redução em suas reservas na natureza. Assim, a busca por soluções para atender corretamente às necessidades de cálcio e fósforo no organismo de frangos de corte é constante, principalmente, devido às características fisiológicas em função do rápido crescimento e a consequente redução em sua idade de abate. Ressaltam-se, com isso, a importância do uso de alimentos de melhor qualidade e, a utilização de aditivos, como enzimas exógenas, que possibilitem aos frangos de corte aproveitarem os nutrientes contidos nos alimentos, como por exemplo, a fitase (DONATO et al., 2011).

2.3 Fitase

A utilização da enzima fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) vem sendo difundida na melhoria do desempenho de frangos de corte, o que ocasiona uma diminuição nos custos com a alimentação e redução da poluição ambiental, devido à menor excreção de fósforo e de outros minerais não aproveitados por estas aves (DONATO et al., 2011).

A fitase é uma enzima que hidrolisa o fitato no trato digestivo em fosfatos de inositol e fósforo inorgânico (WYSS et al., 1999). Existem duas classes primárias de fitases de acordo com a posição do grupo fosfato no anel de mio-inositol. A primeira é a 3-fitase, que hidrolisa o grupo fosfato da posição do carbono 3 (C3). A segunda é a 6-fitase, que age primeiro na posição do carbono 6 (C6) (ZYLA et al., 2004).

A atividade da fitase é naturalmente muito baixa no trato digestivo de animais não ruminantes (MAENZ & CLASSEN, 1998). Portanto, a enzima fitase é incluída em dietas para maximizar a hidrólise da molécula de fitato. A suplementação de fitase em dietas pode diminuir os efeitos antinutricionais associados ao fitato, devido à sua capacidade de hidrólise do fitato e liberar as enzimas digestivas e os nutrientes ligados à molécula (BEDFORD, 2000). A utilidade da fitase e a sua capacidade de liberar fósforo ligado ao fitato e melhorar a biodisponibilidade do

fósforo em rações para aves é bem reconhecida (COWIESON et al., 2006; SELLE & RAVINDRAN, 2007; MAZZUCO & BERTECHINI, 2014; GHOSH et al., 2016).

A suplementação de fitase pode melhorar a utilização de outros nutrientes da dieta. (ZHANG et al., 2000). Os principais efeitos benéficos da suplementação de fitase na avicultura, são: melhorias na digestibilidade dos nutrientes e aumentos nos valores da energia digestível, da proteína, do fósforo e do cálcio das dietas. Pois a molécula de fitato possui, em sua estrutura, grupos ortofosfatos altamente ionizáveis, que podem também se unir às enzimas digestivas e às proteínas dietéticas, o que reduz a digestibilidade dos carboidratos e dos aminoácidos (COWIESON & RAVINDRAN, 2007).

A presença do fitato também interfere na digestão proteica, pois quando ligadas ao fator antinutricional do fitato, as proteínas da dieta se tornam menos susceptíveis às proteases endógenas. Isso pode ocorrer tanto pela inibição da atividade dessas proteases devido a complexação da molécula de fitato com a própria enzima que é uma proteína, quanto pela remoção de cofatores (minerais) necessário para atuação das enzimas proteolíticas (ENGLMAIEROVÁ et al., 2017).

A presença do fitato nas rações piora a metabolização de energia e a digestibilidade de aminoácidos não só pela relação direta que esse composto possui com os nutrientes, ou pela inibição de algumas enzimas digestivas, mas também pelo excesso de perdas endógenas. Dessa forma, sugere-se que os efeitos da enzima fitase sobre o aproveitamento de aminoácidos e energia devam-se também à redução das perdas endógenas causadas pela presença do fitato que é um importante agressor da mucosa intestinal de frangos (SELLE et al., 2012).

Na digestão de gorduras, principal fonte energética das rações, o complexo cálcio-fitato pode reagir com ácidos graxos formando sabões insolúveis no lúmen intestinal (KAHINDI et al., 2017). Os mecanismos que descrevem os efeitos da fitase sobre a utilização de energia não são totalmente conhecidos. Sabe-se que a melhora na digestibilidade das proteínas é em parte, responsável pelo aumento da energia disponível (AKTER et al., 2017). Porém, dados de Petry et al. (2010) mostraram que a fitase promoveu aumento na utilização de energia independente dos efeitos sobre a digestão de aminoácidos. A enzima fitase neste caso age liberando o complexo fitato-mineral e impedindo a formação de sabões metálicos, o que possibilita uma melhor utilização da energia derivada dos lipídeos (SELLE et al., 2009).

Vários fatores podem influenciar a eficácia da fitase, incluindo fatores relacionados à dieta; fatores relacionados aos animais e fatores relacionados à própria fitase (ZYLA et al., 2011). Devido à variação na composição, nível e localização do fitato, bem como a contribuição da fitase intrínseca em algumas oleaginosas e cereais, a taxa de hidrólise de fósforo fítico pela fitase exógena pode diferir bastante nos componentes à base de vegetais das dietas (AKTER et al., 2017). Ou seja, a liberação de fósforo devido à adição de fitase varia em diferentes ingredientes da ração. Por exemplo, a adição de fitase pode aumentar o fósforo disponível no milho, farelo de soja, trigo, cevada, farelo de arroz desengordurado e canola de 30,8 para 59,0%, 34,9 para 72,4%, 30,7 para 46,8%, 32,2 a 71,3%, 33,2 a 48,0% e 36,7 a 55,8%, respectivamente (LESKE & COON, 1999).

A capacidade da fitase em melhorar a disponibilidade de nutrientes dietéticos em aves também depende do conteúdo mineral das dietas, principalmente cálcio e fósforo, que podem influenciar na eficácia da fitase na hidrólise do fitato no trato digestivo (SANDBERG et al., 1993). Algumas pesquisas demonstraram que altas concentrações de cálcio na dieta diminuem a disponibilidade de fósforo fítico em poedeiras e em frangos de corte (SCHEIDELER & SELL, 1987; VAN DER KLIS et al., 1997; MAZZUCO & BERTECHINI, 2014; KAHINDI et al., 2017). O tamanho das partículas de calcário também pode ter um efeito sobre a eficácia da fitase devido à alta solubilidade do Ca no calcário fino (MANANGI & COON, 2007). O aumento da relação entre Ca e P pode ter um impacto negativo sobre as atividades da fitase, enquanto que, reduzindo a relação Ca:P na dieta de 2:1 para 1,2:1 a eficácia da fitase aumenta em torno de 16% e melhora a digestibilidade e o desempenho (PLUMSTEAD et al. 2008). Além disso, o alto teor de ferro na dieta pode inibir a eficácia da fitase e, posteriormente, reduzir a utilização de nutrientes e o desempenho geral dos frangos de corte (AKTER et al., 2017).

A inclusão da enzima fitase oferece uma possibilidade de redução dos efeitos de fatores antinutricionais presentes em quase todos os alimentos usados atualmente. Além disso, a fitase pode proporcionar economia de recursos pela diminuição dos ingredientes onerosos (JUNQUEIRA et al., 2010).

Dois seriam os principais métodos de utilização quando se considera a incorporação da fitase às dietas de aves. O primeiro consiste em suplementar as dietas, na forma “*on top*”, com uma formulação já existente, sem alterar os níveis nutricionais, o que busca melhorar o desempenho dos frangos de forma econômica.

O segundo consiste em alterar a formulação das dietas, o que reduz os custos por tonelada de ração, neste caso, a adição de fitase servirá para restaurar o valor nutricional da dieta padrão. Assim as dietas com níveis de fósforo disponível, cálcio, energia metabolizável e aminoácidos reduzidos, seriam suplementadas com a enzima fitase, na busca pelo mesmo desempenho de uma dieta com os maiores teores desses nutrientes. Com base neste raciocínio, se a suplementação com fitase for eficaz, os parâmetros produtivos seriam pelo menos os mesmos, utilizando menos ingredientes (DONATO et al., 2011).

2.4 Superdosagem de fitase

Como alternativa para otimização da absorção do fósforo e da utilização dos demais nutrientes, um novo método de utilização de fitase exógena em frangos de corte vem ganhando espaço nos últimos anos, é o conceito de superdosagem (*superdosing*) registrado por Liu et al., 2014. Superdosagem é a adição de doses elevadas de fitase suficientes para destruir rapidamente a maior parte do fitato presente na dieta. Como o fitato é um antinutriente, a quebra deste elemento propiciará uma melhora no desempenho dos animais. Esses efeitos são maiores do que os esperados a partir da simples liberação de nutrientes devido a fitase normalmente recomendada e acrescentada. Este método de utilização de fitase não segue a aplicação de uma matriz dependente da dose e concentra-se basicamente em otimizar o desempenho animal.

A dosagem convencional de fitase recomendada na maioria dos não ruminantes é de aproximadamente 500 FTU/kg. No entanto, os benefícios em termos de desempenho, resistência óssea, digestibilidade de gordura e estado antioxidante foram encontrados com dietas contendo níveis mais elevados de fitase (1000 a 2000 FTU/kg) (BEDFORD & PARTRIDGE, 2010). Além disso, a utilização de superdosagem de fitase vem ganhando interesse não só devido a maior liberação de fósforo disponível para a absorção, mas também devido a menor concentração residual de fitato (SELLE et al., 2012).

A utilização de superdosagem de fitase vem sendo difundida por melhorar a disponibilidade de nutrientes em dietas de frangos de corte. As elevadas doses de fitase podem resultar em maior liberação de fosfato ou restauração dos níveis de cálcio e fósforo e eliminação proporcional com menor concentração de fitato residual

no intestino. A quantidade de enzima necessária para se obter este efeito irá naturalmente variar, dependendo da capacidade da enzima degradar o fitato, a concentração deste elemento na dieta e, em particular, para degradar o fitato com os valores de pH baixos, encontrados no trato digestivo proximal (COWIESON et al. 2011).

Mais recentemente, o conceito de superdosagem demonstrou melhorias adicionais no ganho de peso e taxa de conversão alimentar em comparação com as doses padrão, devido principalmente à destruição da maior parte do fitato, além do fornecimento de fósforo. É possível que uma grande parte do benefício da superdosagem da fitase seja conseguida através da produção de mio-inositol que é subsequentemente absorvida e utilizada em várias funções biológicas dos animais (LEE & BEDFORD, 2016). Embora a maioria dos animais seja capaz de sintetizar mio-inositol a partir de D-glucose-6-fosfato em vários tecidos, sua importância para a sobrevivência e crescimento celular é evidente (HOLUB, 1986). Embora os benefícios da superdosagem de fitase estejam se tornando bem reconhecidos na indústria de rações, os mecanismos subjacentes desses benefícios ainda precisam ser elucidados.

2.5 Metabolismo de Cálcio e Fósforo e suas Interações com o Tecido Ósseo

Os minerais, de forma geral, estão envolvidos em quase todas as vias metabólicas do organismo animal, com importantes funções no crescimento, na reprodução, no metabolismo energético, entre outras funções fisiológicas vitais. Dentre os principais minerais, podemos citar o cálcio e o fósforo (BERTECHINI, 2012).

Tanto o cálcio, como o fósforo, realizam uma função muito importante no metabolismo animal, principalmente no que diz respeito à formação óssea, assim, uma deficiência ou excesso desses minerais na dieta impossibilita a expressão do máximo desempenho animal (MACARI et al., 2002). O osso é constituído de 22% de matriz orgânica, 9% de água e 69% de materiais inorgânicos. A matriz orgânica tem como componente predominante o colágeno (90%), que participa no processo de mineralização óssea, sendo os 10% restantes referentes à substância amorfa (BANKS, 1991). O sistema ósseo desempenha para o animal várias funções importantes, tais como proteção mecânica de tecidos e órgãos, suporte estrutural

para o corpo, atuação como sistema de alavancas transformando as contrações musculares em movimentos úteis, e alojamento da medula óssea. Ainda, serve de reserva metabólica de cálcio e de fósforo ao organismo, os quais podem ser mobilizados durante alterações da homeostase (PIZAURO JÚNIOR, 2002).

Uma suplementação mineral inadequada durante a fase de crescimento terá como consequência um desequilíbrio na homeostase mineral e desenvolvimento inapropriado dos ossos das aves, ou seja, calcificação anormal dos ossos (MUNIZ et al., 2007). No entanto, o cálcio em excesso pode agir como antagonista dificultando a absorção de alguns minerais tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros. O principal sintoma de deficiência de cálcio e de fósforo é, além de um menor desempenho das aves, o aparecimento de ossos e bicos frágeis (ARAÚJO et al., 2008).

A resposta das aves para o cálcio dietético e a exigência de cálcio é modificada pela taxa de crescimento (LI et al., 2012). O período de intensa formação óssea ocorre entre os 4 e 18 dias, para prover um adequado suporte esquelético para o crescimento da ave (WILLIAMS, 2000). A demanda de cálcio aumenta nesta idade e depois diminui (NIE et al., 2013).

As deficiências do conteúdo de cálcio e/ou de fósforo ou a inadequada relação entre esses minerais podem dificultar o crescimento do osso e levar à maior incidência de anomalias nas pernas. Uma redução no cálcio plasmático estimula a secreção de paratormônio (PTH), que atua diretamente nos rins na reabsorção de cálcio e no aumento da síntese de vitamina D ativa ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). Com o aumento da reabsorção de cálcio nos ossos, há um aumento da absorção desse mineral no intestino e aumento nas concentrações plasmáticas, levando à liberação de calcitonina, que atuará inibindo o processo de forma a manter a homeostase no organismo (XIE et al., 2009).

No metabolismo ósseo, o PTH age ativando os osteoclastos, a partir dos osteoblastos, os quais possuem receptores para este hormônio. Por sua vez, a calcitonina tem efeito antagônico inibindo a ação dos osteoclastos, por meio da diminuição de células progenitoras. O $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumenta a absorção de cálcio e fosfato atuando juntamente com o PTH (BAYNES & DOMINICZAK, 2000). A mobilização do cálcio do osso ocorre quando o fornecimento ou a concentração, tanto de cálcio quanto de fósforo for inadequado para atender aos requerimentos nutricionais das aves (JULIAN, 2005).

A liberação do cálcio ósseo é acompanhada pela de fósforo, aumentando significativamente o nível de fósforo no sangue, o qual é mais do que suficiente para suprir as necessidades da ave (MAGALHÃES, 2007). Se a concentração de cálcio no sangue diminui, rapidamente o cálcio é então mobilizado dos ossos para que seu nível na corrente sanguínea seja normalizado (VARGAS Jr. et al., 2004). Fisiologicamente, isso pode ser explicado pelo fato que, quando o cálcio é fornecido em níveis baixos na ração, há maior síntese da proteína ligadora de cálcio, aumentando a eficiência de absorção e melhorando o aproveitamento do cálcio. No entanto, essa melhora ocorre até determinado nível, a partir do qual a elevação dos teores de cálcio reduz a absorção, comprovando que, sob baixa disponibilidade, há maior eficiência de utilização desse mineral (DELL'ISOLA & BAIÃO, 2001).

A eficiência de transporte intestinal de cálcio é dependente das proteínas ligadoras de cálcio, assim como dos transportadores de cálcio e da bomba de cálcio, além de ser modulada pela idade, pela vitamina D₃ e pelo cálcio da ração (BROWN et al., 2005). A absorção de cálcio e de fósforo que ocorre no intestino delgado, depende de fatores como a fonte, a proporção e os níveis de cálcio e de fósforo, pH intestinal e vitamina D. Sendo que, quanto maior a necessidade maior é a absorção, até determinado nível de ingestão. Esta absorção é facilitada pelo baixo pH, pois este se faz necessário para a solubilidade destes elementos químicos (PASTORE et al., 2012).

3 Projeto de Pesquisa

Efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades energéticas em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e composição de tibia, na fase de 28 a 35 dias de idade

Equipe:

M.Sc. Henrique Müller Dallmann (Doutorando, PPGZ-UFPEL, Médico Veterinário, Técnico-Administrativo em Educação, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – Câmpus Ibirubá)

Dr. Valdir Silveira de Avila (Engenheiro Agrônomo, Pesquisador, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia/SC)

Dr. Everton Luis Krabbe (Engenheiro Agrônomo, Pesquisador. Embrapa Suínos e Aves, Concórdia/SC)

Dr. Paulo Roberto Dallmann (Professor, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Sul-Riograndense – Câmpus Pelotas “Visconde da Graça”)

Ph.D. Fernando Rutz (Professor Orientador, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas)

Henrique Müller Dallmann

Pelotas, 2019

3.1 Caracterização do Problema

O Brasil ocupa a liderança mundial na exportação de carne de frango e a segunda posição na produção de frangos do mundo (ABPA, 2018). Isto se deve principalmente ao melhoramento genético, ao estudo da ambiência, às novas formulações de dietas, fundamentadas, principalmente, dentro do contexto da otimização dos seus ingredientes e ao uso de aditivos. As rações para frangos de corte representam a maior parte dos custos de produção. Suas fórmulas quase que exclusivamente (cerca de 90%) são compostas de ingredientes de origem vegetal que, em sua maioria, possuem compostos antinutricionais para os animais não-ruminantes. Estes animais não produzem, em seu sistema digestório, enzimas capazes de digerir esses compostos, o que traz a necessidade da suplementação com enzimas exógenas (ROSTAGNO et al., 2011).

Um dos principais fatores antinutricionais nas rações de frangos de corte é o ácido fítico ou fitato (Hexa-Fosfato de Inositol), que se complexa com o fósforo e com cátions bivalentes, como o cálcio, o zinco, o cobre, o ferro, o magnésio, o manganês, e outros; além de aminoácidos e carboidratos, os quais se tornam indisponíveis para o animal. Estes complexos são hidrolisados por uma enzima chamada fitase, de produção endógena quase nula nas aves, principalmente nas fases iniciais de criação. Desta forma, ressalta-se a necessidade de sua suplementação exógena nas formulações de dietas para frangos de corte (BEDFORD & PARTRIDGE, 2010).

Devido ao não aproveitamento eficiente do fósforo pelos animais, as empresas fabricantes de ração veem-se obrigadas a formular dietas com maiores teores desse elemento, o que faz com que ocorra redução em suas reservas na natureza. Assim, a busca por soluções para atender corretamente às necessidades de cálcio e fósforo no organismo de frangos de corte é constante (DONATO et al., 2011).

O fósforo é o mineral de maior participação nos custos da ração (DE LIMA, et al., 2010). Além disso, o seu excesso nas dietas causa maior excreção deste mineral ao meio ambiente, o que aumenta a poluição. Porém, a deficiência de fósforo acarreta redução no crescimento, baixa uniformidade dos lotes, maior incidência de problemas locomotores e distúrbios metabólicos em frangos de corte. Dentre as principais funções do fósforo no desempenho de frangos de corte, destacam-se, sua

essencialidade para a construção da estrutura óssea; sua participação no desenvolvimento de membranas celulares; sua presença na composição dos ácidos nucléicos, na diferenciação celular; sua ação na transferência de energia (na forma de ATP); além de seu efeito no controle do apetite e na eficiência alimentar destas aves (FUKAYANA et al., 2008).

O fósforo é eliminado em grande quantidade pelas excretas das aves, juntamente com o nitrogênio, esses dois elementos acabam poluindo o solo e a água, o que representa efeito nocivo para o ambiente. Outro fator importante, é que somente 33% do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal é absorvido pelas aves, os outros 67% são excretados (GOMIDE et al., 2011).

A utilização da enzima fitase vem sendo difundida na melhoria do desempenho de frangos de corte, o que ocasiona uma diminuição nos custos com a alimentação e redução da poluição ambiental, devido à menor excreção de fósforo e de outros minerais não aproveitados por estas aves (DONATO et al., 2011)

A inclusão de fitase oferece uma possibilidade de redução dos efeitos relacionados aos fatores antinutricionais, como o fitato, presentes em quase todos os alimentos usados atualmente (JUNQUEIRA et al., 2010). A molécula de fitato possui, em sua estrutura, grupos ortofosfatos altamente ionizáveis, que podem também se unir às enzimas digestivas e às proteínas dietéticas, o que reduz a digestibilidade dos carboidratos e dos aminoácidos (KORNEGAY, 2007). Os principais efeitos benéficos da suplementação de fitase nas dietas avícolas, são: melhorias para a digestibilidade dos nutrientes e aumentos nos valores da energia digestível, da proteína, do fósforo e do cálcio das dietas (DONATO et al., 2011).

Como alternativa para otimização da absorção do fósforo e otimização da utilização dos demais nutrientes, um novo método de utilização de fitase exógena em frangos de corte vem ganhando espaço nos últimos anos, é o conceito de superdosagem (*superdosing*) registrado por Liu et al., 2014. Superdosagem é a adição de doses elevadas de fitase suficientes para destruir rapidamente a maior parte do fitato presente na dieta. Este método de utilização de fitase não segue a aplicação de uma matriz dependente da dose e concentra-se basicamente em otimizar o desempenho animal. A dosagem atual recomendada para a fitase, na maioria dos não ruminantes, é de aproximadamente 500 FTU/kg. No entanto, os benefícios em termos de desempenho, resistência óssea, digestibilidade de gordura

e estado antioxidante foram encontrados com dietas contendo níveis mais elevados de fitase (1000 a 2000 FTU/kg) (BEDFORD & PARTRIDGE, 2010).

Como o fitato é um antinutriente, a quebra deste elemento propiciará uma melhora no desempenho dos animais. Esses efeitos são maiores do que os esperados a partir da simples liberação de nutrientes, devido a inclusão de fitase normalmente recomendada e acrescentada nas dietas. Este método de utilização de fitase não segue a aplicação de uma matriz dependente da dose e concentra-se basicamente em otimizar o desempenho animal. As elevadas doses de fitase podem resultar em maior liberação de fosfato ou restauração dos níveis de cálcio e fósforo e eliminação proporcional com menor concentração de fitato residual no intestino. A quantidade de enzima necessária para se obter este efeito irá naturalmente variar, dependendo da capacidade da enzima degradar o fitato, a concentração deste elemento na dieta e, em particular, para degradar o fitato com os valores de pH baixos, encontrados no trato digestivo proximal (COWIESON et al. 2011).

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo Geral

Avaliar formas de magnificação dos resultados obtidos através do uso de níveis crescentes de fitase em dietas peletizadas de frangos de corte. Serão avaliados os benefícios do uso de dois níveis de fitase em diferentes densidades energéticas da dieta, mensurando os reflexos no desempenho das aves, composição e resistência de tibia, especificamente no período de 28 a 35 dias, período considerado estratégico por ser o de alto consumo de ração e devido a escassez de estudos sobre o assunto nessa fase de produção. Sendo possível determinar qual a melhor dose de fitase em determinado nível energético da dieta, reduzindo também os níveis de eliminação de fósforo para o meio ambiente.

3.2.3 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito das dietas com diferentes níveis de fitase e densidades energéticas sobre o desempenho zootécnico em frangos de corte no período de 28 a 35 dias de idade;

- Analisar a integridade óssea, determinando a resistência óssea à quebra e análise de minerais das tíbias no período de 28 a 35 dias de idade;
- Observar quais são os efeitos da adição da enzima fitase em diferentes densidades energéticas nas dietas experimentais sobre as variáveis analisadas.

3.3 Metas

Ao final do experimento, espera-se conhecer os ganhos ou perdas para o desempenho zootécnico de frangos de corte, relacionado ao efeito das dietas testes.

Ao analisar a integridade, resistência e composição óssea, espera-se contrastar os resultados e verificar qual o efeito da fitase sobre estes parâmetros.

3.4 Metodologia e Estratégia de Ação

O experimento será composto por um ensaio a ser desenvolvido na sala de Metabolismo e no Laboratório de Análises Físico-Químicas (LAFQ) da EMBRAPA, no Centro Nacional de Pesquisa em Suínos e Aves (CNPISA) em Concórdia/SC.

O procedimento para a realização de ensaios de desempenho de frangos de corte na EMBRAPA/CNPISA seguirá o protocolo descrito no POP4-PESQ-DFC-001 - Determinação de Desempenho com frangos de corte (versão vigente) da instituição.

3.4.1 Animais Experimentais e Manejo

Serão alojados 576 frangos de corte, machos, da linhagem *Cobb500*, alojados em baterias de arame galvanizado (0,90 x 0,90 x 0,25 m), distribuídos em 12 tratamentos com 8 repetições e 6 aves cada, correspondendo a uma unidade experimental. Os animais serão criados desde o primeiro dia de vida consumindo dietas recomendadas para a linhagem e fornecidos níveis crescentes de energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn) e dois níveis de fitase no período de 28 a 35 dias de idade.

Cada gaiola estará equipada com comedouro metálico do tipo calha e bebedouros do tipo *nipple*. A iluminação da sala, temperatura e umidade serão de

acordo com o POP4-PESQ-EMA-01 em utilização na EMBRAPA/CNPISA, sendo realizados a aferição e os registros diariamente (*datalogger*).

3.4.2 Tratamentos

Os tratamentos consistirão de dietas formuladas para atender as exigências nutricionais, de acordo com as recomendações de Rostagno, et al. (2011), com a inclusão de diferentes níveis da enzima fitase em diferentes densidades energéticas na fase de 28 a 35 dias de idade, conforme a Tab. 1.

Tabela 1 - Composição dos tratamentos experimentais

Tratamento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
EMAn (kcal/kg)	2950	2950	2950	3050	3050	3050	3150	3150	3150	3250	3250	3250
Fitase (FTU/Kg)	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000

3.4.3 Programa de Alimentação e Coleta de Dados

As dietas serão formuladas a base de milho e farelo de soja, suplementadas com calcário e fosfato bicálcico para atender as exigências de cálcio e fósforo. Óleo de soja, aminoácidos sintéticos, premix mineral, premix vitamínico e sal serão utilizados para atender as exigências nutricionais das aves. Serão também utilizados agentes anticoccidiano e sequestrante de micotoxina.

A enzima fitase será adicionado *on top* nas dietas (de acordo com os tratamentos) antes do procedimento de mistura, na forma de pó.

A composição da matéria prima e o perfil nutricional das dietas seguirá as exigências para frangos de corte macho (desempenho médio), extraídos a partir das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos, sugerida por Rostagno, et al. (2011) e comparados com análise laboratorial. Possíveis ajustes na matriz nutricional poderão ser adotados.

A ração será produzida na forma de *pellet*. Para a fase de 1 a 14 dias as dietas serão trituradas pós peletização. De 15 a 35 dias as dietas serão fornecidas na forma de *pellet* integro.

Peso médio, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar serão determinados aos 28 e 35 dias. Aos 35 dias, as aves serão sacrificadas e coletadas

as tíbias (das duas pernas) de duas aves por gaiola, para determinação das características físicas, resistência a quebra e teor de minerais.

3.4.4 Variáveis Analisadas

3.4.4.1 Desempenho Zootécnico: Serão avaliadas as variáveis peso vivo, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, entre 28 e 35 dias de idade.

3.4.4.2 Integridade Óssea: Aos 35 dias de idade serão abatidos alguns animais (duas aves/unidade experimental) e destes retiradas as tíbias, para determinação da resistência óssea à quebra e análise da composição mineral dos ossos.

3.4.5 Delineamento Experimental e Análise Estatística

Será utilizado o delineamento em blocos casualizados para peso aos 28 dias e localização das gaiolas, onde as aves serão distribuídas em baterias compondo 12 tratamentos com 8 repetições e 6 aves cada, correspondendo a uma unidade experimental, totalizando 576 aves.

A metodologia estatística utilizada será a Análise de Variância, através do procedimento MIXED do programa estatístico SASTM (2012). Serão testados os efeitos fixos de bloco e tratamento. A comparação entre as médias será realizada pelo teste *t-Student*, protegido pelo teste F global ($p \leq 0,05$).

3.6 Resultados e Impactos Esperados

Com a realização deste projeto, espera-se obter informações importantes sobre a eficiência da fitase junto as dietas experimentais em questão, para a alimentação de frangos de corte. É esperado que sejam obtidas informações que possam vir a beneficiar o meio científico, a indústria e os produtores, demonstrando os benefícios das análises realizadas, além de estar trabalhando com nutrição de precisão, onde busca-se o máximo de aproveitamento das dietas com um mínimo de excreção de nutrientes e máximo desempenho.

Espera-se poder disseminar ao meio acadêmico-científico, através de resumos, artigos em revistas, palestras, seminários e aulas, informações relevantes

para a formação e preparação dos profissionais das áreas agropecuárias e afins, sobre as exigências do mercado nacional e internacional com relação à produção e nutrição animal.

3.6.1 Indicadores de Resultados ao Final do Projeto

O projeto poderá destacar os benefícios de usar fitase, com melhor aproveitamento dos alimentos na fase de alto consumo de frangos de corte (28 a 35 dias). Estes resultados poderão sugerir medidas estratégicas para diminuir os custos de produção, garantir o máximo desempenho animal, além reduzir o impacto ambiental com a excreção de fósforo.

3.6.2 Repercussão e/ou Impactos dos Resultados

Levar ao meio científico os conhecimentos adquiridos com a execução deste projeto, podendo revelar os efeitos da utilização da enzima fitase em diferentes densidades energéticas nas dietas de frangos de corte no período de grande consumo de alimentos, de 28 a 35 dias de idade, além de proporcionar avanços no conhecimento no que diz respeito a novos conceitos na nutrição animal.

3.7 Cronograma

Revisão Bibliográfica: março de 2015 a fevereiro de 2019.

Execução do Experimento a campo: 03/11/2015 a 07/12/2015.

Realização das análises das amostras em laboratório: dezembro de 2015 a agosto de 2016.

Elaboração de artigos/resumos científicos: dezembro de 2015 a fevereiro de 2019.

3.8. Outros Projetos Executados Pelos Membros da Equipe

AVILA, V. S.; DALLMANN, H. M.; BRUM, P. A. R.; COSTA, P. T. C.; COLDEBELLA, A.; DALLMANN, P. R.; MAIER, J. C.; RUTZ, F. Efeito do uso de um núcleo energético-proteico no desempenho de frangos de corte. **Comunicado Técnico Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves**, v. 489, p. 15, 2011.

DALLMANN, H. M.; AVILA, V. S.; BRUM, P. A. R.; COSTA, P. T. C.; COLDEBELLA, A.; DALLMANN, P. R.; MAIER, J. C.; RUTZ, F. Desempenho de frangos de corte alimentados com ingredientes de alta digestibilidade nas fases de criação pré-inicial e inicial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 944 - 951, 2010.

DALLMANN, H. M.; AVILA, V. S.; BRUM, P. A. R.; COSTA, P. T. C.; DALLMANN, P. R.; RUTZ, F. Inclusão de ingredientes de alta digestibilidade na dieta de frangos de corte. I Desempenho. **Anais... 47ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2010, Salvador, BA. Salvador: UFLA, 2010.

DALLMANN, H. M.; AVILA, V. S.; COSTA, P. T. C.; COLDEBELLA, A.; DALLMANN, P. R.; RUTZ, F. Inclusão de ingredientes de alta digestibilidade na dieta de frangos de corte. II Características de carcaça. **Anais... 47ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2010, Salvador, BA. Salvador: UFLA, 2010.

3.9 Aspectos Éticos

Este experimento seguirá as Boas Práticas de Produção e será aprovado pelo CEUA (Comitê de Ética em Uso Animal) da Embrapa Suínos e Aves antes de ser executado.

Trata-se de um experimento onde somente serão realizadas práticas de interesse zootécnico, sem que ocorra qualquer tipo de tratamento que implique dor ou sofrimento aos animais.

Durante o planejamento experimental, questões relacionadas ao bem-estar animal, tais como: número de aves por metro quadrado (densidade), condições ambientais apropriadas de criação para a espécie (ventilação, temperatura) e fornecimento de água e alimento, serão atendidas conforme a determinação do Protocolo de Bem-Estar de Frangos de Corte e Protocolo de Boas Práticas de Produção de Frangos da Embrapa. Como o projeto envolve a utilização de animais, os aspectos éticos serão contemplados através do (a):

- Manutenção da saúde e bem-estar das aves, sendo evitadas situações de estresse;
- Treinamento dos funcionários, para que tenham conhecimentos básicos do comportamento animal, e também, para que estejam cientes dos procedimentos relevantes em situações de emergência que representem perigo à saúde humana, segurança dos alimentos ou saúde e bem-estar das aves;

- Higienização de equipamentos e instalações de produção;
- Registro de ocorrências durante a execução;
- Isolamento do aviário de forma que não haja o acesso de outros animais e visitantes;
- Controle de insetos e roedores que representam riscos de infecções;
- Disponibilização de espaço suficiente nas gaiolas para que as aves expressem o seu comportamento natural;
- Aferição e registro da temperatura e umidade máximas e mínimas dentro do aviário;
- Manuseio da temperatura e do nível de ventilação do aviário de forma apropriada ao sistema de criação, idade, peso e estado fisiológico das aves, evitando assim a alterações de temperatura fora da zona de conforto térmico;
- Cuidado com o manuseio das aves que serão pesadas periodicamente;
- Fornecimento de água limpa, potável, que não ofereça riscos à saúde e de forma que o consumo seja à vontade;
- Análise bromatológica dos ingredientes utilizados para a preparação da ração;
- Armazenamento das rações em local adequado e sobre estrados de madeira;
- Fornecimento de alimentação e nutrição adequadas a cada fase de criação;
- Cumprimento do protocolo de vacinações realizado de acordo com os desafios de enfermidades aviárias da região, respeitando-se as recomendações do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) e normativas posteriores;
- Registro da administração de vacinas e/ou medicamentos (caso seja necessário) contendo o nome do produto, número do lote/partida, número de aves tratadas, quantidade utilizada, período de carência;
- Retirada diária de aves mortas e/ou eliminadas do interior do aviário, sendo destinadas à compostagem;
- Aves com problemas no crescimento ou que apresentam alguma patologia individual que as cause sofrimento, serão retiradas do lote;
- Criação de aves de mesma origem e idade no galpão, operando no sistema todos dentro-todos fora;
- Utilização de pedilúvio na entrada do aviário;

- Manutenção da unidade de produção livre de lixo e resíduos, armazenando-os em local adequado até o seu descarte;
- Respeito à legislação ambiental vigente.

Aos 35 dias de idade, algumas aves serão eutanasiadas através do método de deslocamento cervical (CFMV, 2012), para coleta e análise das tíbias, com a presença e supervisão de Médico Veterinário Responsável Técnico.

A eutanásia das aves será realizada no setor de necropsia da EMBRAPA/CNPISA. As demais aves, deste experimento, serão transferidas para outro galpão até atingirem idade e peso para abate.

Em nenhum momento o projeto utilizará técnicas experimentais que possam implicar em dor, sofrimento ou angústia aos animais. Os animais serão inspecionados pelo menos duas vezes ao dia e, além disso, somente pessoas capacitadas participarão do projeto.

3.10. Referências Bibliográficas

ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório Anual 2018**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-aneais/2018>>. Acesso em 23/01/2019.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. 2010. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd edition. London, UK, 319p.

CFMV (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA). Resolução nº 1000 de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Brasília: **Diário Oficial República Federativa do Brasil**, 2012. p.124-125.

COWIESON, A. J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, 67:225–236, 2011.

DE LIMA, M. R.; PERAZZO COSTA, F. G.; GIVISIEZ, P. E. N. et al. Reduction of the nutritional values of diets for hens through supplementation with phytase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, p.2207-2213, 2010.

DONATO, D. C. Z.; ALBUQUERQUE, R.; GARCIA, P. D. S. R. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio suplementadas com fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.10, p.2161-2166, 2011.

FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.4, p.629-635, 2008.

GOMIDE, E. M.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G. et al. Rações com níveis reduzidos de proteína bruta, cálcio e fósforo com fitase e aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.11, p.2405-2414, 2011

JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; LIGEIRO, E. C. et al. Avaliação técnica e econômica da matriz nutricional da enzima fitase em rações contendo farelo de girassol para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, p.2200-2206, 2010.

KORNEGAY, E. T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: Bedford, M. R. and G. G. Partridge (eds) **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. p. 237-271, 2007.

LIU, S. Y.; CADOGAN, D.J.; PÉRON, A. et al. Effects of Phytase supplementation on growth performance nutriente utilisation and digestive dynamics in broilers chickens. **Animal Feed Science and Technology** v197. 164-175., 2014.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T. DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 186p

SAS INSTITUTE INC. **System for Microsoft Windows**, Release 9.4, Cary, NC, USA, 2002-2012. (CD-ROM).

4 Relatório do Trabalho de Campo

4.1 Local

O trabalho a campo foi realizado na sala de metabolismo da EMBRAPA Suínos e Aves – Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), na cidade de Concórdia, Santa Catarina. E as análises laboratoriais foram conduzidas no Laboratório de Análises Físico-Químicas (LAFQ) da mesma instituição.

4.2 Período Experimental

O estudo iniciou no dia 03/11/2015, com o alojamento das aves em gaiolas metabólicas com dimensões de 0,90 x 0,90 x 0,25 m (Comprimento x Largura x Altura) no local supracitado, compreendendo nesse período, o de adaptação ao local e a dieta, estendendo-se até 07/12/2015, totalizando 35 dias, sendo considerado o período experimental, dos 28 a 35 dias de idade. As gaiolas eram equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo *nipple*. As variáveis ambientais, temperatura e umidade relativa do ar foram registradas e ajustadas diariamente, conforme o manual da linhagem.

4.3 Animais

Foram alojadas 576 aves, machos, da linhagem *Cobb500*, com um dia de idade, provenientes de um incubatório comercial localizado no município de Concórdia (SC). As aves foram imunizadas *in ovo* contra Gumboro, Marek e Bouda Aviária, e no incubatório contra bronquite infecciosa.

4.4 Dietas Experimentais

As dietas foram compostas a base de milho e farelo de soja, suplementadas com calcário e fosfato bicálcico para atender as exigências de cálcio e fósforo. Óleo de soja, aminoácidos sintéticos, premix mineral, premix vitamínico e sal foram utilizados para atender as exigências nutricionais das aves. Foram também utilizados agentes anticoccidiano e sequestrante de micotoxina.

A enzima fitase foi adicionada *on top* nas dietas (de acordo com os tratamentos), na forma de pó, juntamente com os demais ingredientes, durante o procedimento de mistura das rações.

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais

Tratamento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Milho	57,14	57,14	57,14	54,89	54,89	54,89	52,63	52,63	52,63	50,38	50,38	50,38
Farelo de Soja	37,55	37,55	37,55	37,90	37,90	37,90	38,25	38,25	38,25	38,60	38,60	38,60
Óleo Soja	0,898	0,898	0,898	2,808	2,808	2,808	4,717	4,717	4,717	6,627	6,627	6,627
Fosfato Bicálcico	0,199	0,199	0,199	0,201	0,201	0,201	0,204	0,204	0,204	0,206	0,206	0,206
Calcário	0,808	0,808	0,808	0,805	0,805	0,805	0,802	0,802	0,802	0,800	0,800	0,800
Sal	0,479	0,479	0,479	0,480	0,480	0,480	0,480	0,480	0,480	0,481	0,481	0,481
Premix Vitamínico	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Mineral	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
DL-Metionina	0,262	0,262	0,262	0,265	0,265	0,265	0,267	0,267	0,267	0,270	0,270	0,270
L-Lisina	0,195	0,195	0,195	0,188	0,188	0,188	0,182	0,182	0,182	0,175	0,175	0,175
L-Treonina	0,074	0,074	0,074	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073
Anticoccidiano	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Adsorvente	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Caulin	1,500	1,495	1,490	1,500	1,495	1,490	1,500	1,495	1,490	1,500	1,495	1,490
Fitase	0,000	0,005	0,010	0,000	0,005	0,010	0,000	0,005	0,010	0,000	0,005	0,010
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

A composição da matéria prima e o perfil nutricional das dietas seguiram as exigências para frangos de corte macho (desempenho médio), extraídos a partir das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos, sugeridas por Rostagno et al., (2011) e comparados com análise laboratorial.

A ração foi produzida na forma de *pellet*. Para a fase de 1 a 14 dias as dietas foram trituradas pós peletização. De 15 a 35 dias as dietas foram fornecidas na forma de *pellet* integro.

O alimento e a água foram fornecidos *ad libitum*.

A fitase utilizada foi uma enzima comercial, produzida a partir da fermentação de *Aspergillus oryzae*.

4.5 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi constituído em blocos casualizados (peso das aves aos 28 dias), distribuídos em 12 tratamentos com 8 repetições e 6 aves cada, que corresponde a uma unidade experimental, totalizando 576 aves.

No início do experimento as aves foram pesadas individualmente e distribuídas de acordo com o peso inicial, permitindo que todos os tratamentos tivessem repetições com aves de peso uniforme.

4.6 Aspectos Éticos

O projeto foi protocolado sob o nº 014/2015 no Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Suínos e Aves – Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), onde foi aprovado na reunião do dia 29/10/2015, realizada na sede da instituição, em Concórdia/SC.

4.7 Coleta de Dados

4.7.1 Desempenho

As variáveis de desempenho foram avaliadas entre 28 e 35 dias de idade, onde as aves foram pesadas para obter o peso médio corporal (PMC) e ganho de peso médio (GPM). A ração fornecida e as sobras também foram pesadas diariamente nesse período, para determinar o consumo médio de ração (CMR) e a conversão alimentar (CA), a partir do CMR/GPM.

4.7.2 Abate das Aves

Aos 35 dias de idade duas aves por unidade experimental foram separadas e abatidas por deslocamento cervical. Delas foram retiradas as tíbias (das duas pernas), onde foram determinadas as seguintes variáveis: resistência a quebra (força, comprimento e área) e teores de Cinzas, Matéria Seca, Magnésio, Zinco, Cálcio e Fósforo.

4.7.2.1 Características da Tíbia

O teste de resistência óssea foi conduzido usando um texturômetro em laboratório. Os ossos foram posicionados sob dois suportes com espaço entre eles de 40 mm.

A resistência à quebra é representada pelo valor de força e está relacionada entre fatores como: tamanho e à composição mineral do osso. A relação entre a força e o comprimento (tamanho do osso) representa a rigidez do osso. As medidas de força e a rigidez estão relacionadas ao estresse (fratura) e tensão do osso. O estresse representa a resistência à deformação, enquanto a tensão representa a percentagem de deformação (RATH et al., 1999).

Após a análise física, as tíbias foram secas em estufas à 105°C (IAL, 2008) e submetidas à mufla para obtenção das cinzas e Matéria Seca (MS); e para determinação do conteúdo de Magnésio (Mg), Zinco (Zn), Cálcio (Ca) e Fósforo (P), conforme metodologia de AOAC (2000).

4.8 Análise Estatística

A metodologia estatística utilizada foi a Análise de Variância, através do procedimento MIXED do programa estatístico SAS™ (2012). Foram testados os efeitos fixos de bloco e tratamento. A comparação entre as médias foi realizada pelo teste *t-Student*, protegido pelo teste F global ($p \leq 0,05$).

4.9 Resultados

Os resultados obtidos no estudo serão encaminhados na forma de artigos para publicação no periódico científico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (*Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*), classificado como Qualis B1, conforme apresentados na sequência.

5. Artigo 1 – versão preliminar¹

¹Formatado conforme as normas do periódico “Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia”

DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE FITASE E DENSIDADES ENERGÉTICAS, NA FASE DE 28 A 35 DIAS DE IDADE

Henrique Müller Dallmann¹, Valdir Silveira de Avila², Everton Luis Krabbe³, Leticia Santos
Lopes⁴, Diego Surek⁵, Taiani dos Santos de Toledo⁶, Paulo Roberto Dallmann⁷ e Fernando
Rutz⁸

¹ Médico Veterinário, Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFPel

^{2, 3} Pesquisador, Embrapa Suínos e Aves

^{4,5} Analista, Embrapa Suínos e Aves

⁶ Zootecnista, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFPel

⁷ Professor, IFSul Câmpus Pelotas – “Visconde da Graça”

⁸ Professor, Departamento de Zootecnia, UFPel

Resumo: A fitase é uma enzima capaz de eliminar as propriedades antinutricionais do fitato, pela hidrólise e desdobramento do mioinositolfosfato e liberação do fósforo para ser absorvido, melhorando o metabolismo dos nutrientes e reduzindo a excreção do nitrogênio, do fósforo e outros nutrientes no meio ambiente. Neste trabalho foram alojados 576 frangos, machos, da linhagem *Cobb500*, em gaiolas metabólicas de metal, onde o alimento e a água foram fornecidos à vontade. As dietas continham níveis crescentes de energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio - EMAn (2950, 3050, 3150 e 3250 kcal/kg) e diferentes níveis de fitase (sem fitase, 500 e 1000 FTU/kg), distribuídas em blocos casualizados, com 12 tratamentos, 8 repetições de 6 aves cada. Foram avaliados: peso vivo, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar ao final do período de 28 a 35 dias de idade. A dieta com inclusão de 500 FTU/kg de fitase e com nível energético de 3150 kcal/kg de EMAn/kg apresentou os melhores resultados de desempenho de frangos de corte no período estudado.

Palavras-chave: aditivos, enzimas, fitato, fósforo, superdosagem

Abstract: Phytase is an enzyme able of removing antinutritional properties of phytate, hydrolizing and breaking down of mioinositolphosphate, improving nutrient metabolism, and

35 reducing the excretion of nitrogen and phosphorus in the environment. In this study 576
36 broiler, male, *Cobb500* were housed, in metabolic cages, with free access to feed and water.
37 The diets contained increasing levels of apparent metabolizable energy corrected for nitrogen
38 balance - AMEn (2950, 3050, 3150 and 3250 kcal/kg) and different levels of phytase (control-
39 no phytase added, 500 and 1000 FTU/kg), distributed in a randomized block design, with 12
40 treatments and 8 replicates per treatment, six birds each. Body weight, feed intake, weight
41 gain and feed conversion ratio were analyzed for period of 28 to 35 days old. The diet with
42 inclusion of 500 FTU/ kg of phytase and energy level of 3150 kcal/Kg AMEn showed the best
43 results of broiler performance.

44 **Keywords:** additives, enzymes, phosphorus, phytate, superdosing

45

46 **Introdução**

47

48 O fósforo (P) é o mineral essencial de maior custo para o sistema produtivo de aves.
49 Esse mineral está envolvido na integridade do esqueleto; é uma molécula chave na formação
50 de bicamadas fosfolipídicas e gera as ligações de alta energia para o trifosfato de adenosina
51 (ATP) (Bedford e Partridge, 2010). O fósforo está naturalmente contido na molécula de fitato
52 localizada nos componentes de grãos e oleaginosas que constituem as dietas fornecidas às
53 aves, mas tem baixa disponibilidade. No ciclo reprodutivo das plantas, o fitato atua como
54 reservatório de fósforo e previne a perda desse mineral até a germinação; portanto, a molécula
55 é muito estável (Viveros et al., 2002).

56 Em dietas à base de vegetais, dois terços do fósforo (cerca de 60 a 70%) estão ligados
57 ao fitato, que não só é menos disponível para os animais não ruminantes, como também é
58 capaz de se complexar com nutrientes (como Cálcio (Ca), Zinco (Zn), Ferro (Fe), Magnésio
59 (Mg), Cobre (Cu), amido, lipídios e certos aminoácidos), tornando-os menos aproveitáveis,
60 resultando na redução da eficiência na utilização desses nutrientes, aumentando o custo da
61 alimentação e levando à poluição ambiental (Pirgozliev et al., 2011). Estes complexos são
62 hidrolisados por uma enzima chamada fitase, de produção endógena quase nula nas aves,
63 principalmente nas fases iniciais de criação. Desta forma, é importante sua suplementação via
64 dieta para frangos de corte (Bedford e Partridge, 2010).

65 Durante as últimas décadas, fontes de fitase exógenas vêm sendo utilizadas com
66 sucesso pela indústria para liberar fósforo e outros nutrientes. Tais efeitos sobre a
67 digestibilidade e desempenho dos nutrientes também são bem estudados e conhecidos
68 (Viveros et al., 2002; Cowieson et al., 2009). Uma das características da enzima fitase é a de

69 atuar no fitato, liberando o fósforo e outros minerais, os quais fazem parte de sua molécula.
70 Desta forma, viabiliza-se o melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta. A fitase é uma
71 enzima produzida por várias espécies de bactérias e fungos. Essa enzima reduz a viscosidade
72 da digesta no trato gastrointestinal aumentando a digestibilidade total da ração, melhorando
73 consideravelmente o metabolismo dos nutrientes, reduzindo sua presença na excreta das aves
74 e, conseqüentemente, a excreção do nitrogênio e do fósforo no meio ambiente (Hurrell, 2003).

75 A fitase é utilizada convencionalmente na dose de 500 FTU/Kg de ração em frangos
76 de corte, que geralmente é a dose recomendada pelas indústrias (Selle e Ravindran, 2007;
77 Cowieson et al., 2009; Pirgozliev et al., 2011; Lalpanmawia et al., 2014). O conceito de
78 superdosagem, que é a adição de doses elevadas de fitase suficientes para destruir
79 rapidamente grande parte do fitato presente na dieta, surge como uma novidade na utilização
80 da enzima. Esses efeitos são maiores do que o esperado a partir da simples liberação de
81 nutrientes quando a fitase é utilizada em doses convencionais (Cowieson et al. 2011).

82 Os benefícios potenciais de doses mais altas de fitase (>500 FTU/kg), para atingir a
83 degradação do fitato da dieta e a geração de mio-inositol, ganharam interesse científico e
84 industrial. As altas doses de fitase podem resultar em maior liberação de fosfato ou
85 restauração da liberação proporcional de Ca:P com menos fitato residual no intestino
86 (Cowieson et al., 2011). Esses benefícios vão além da capacidade da fitase simplesmente
87 liberar fósforo e incluem-se a remoção dos efeitos antinutricionais do fitato resultando em
88 melhor eficiência alimentar (Pirgozliev et al., 2011; Dos Santos et al., 2013; Walk et al.,
89 2013), uma resposta melhorada do sistema imunológico (Liu et al., 2014), melhora do estado
90 antioxidante (Karadas et al., 2010; Liu et al., 2014), expressão gênica associada ao
91 crescimento (Woyengo e Nyachoti, 2013), e ainda menor teor de umidade dos excrementos,
92 que é de extrema importância na produção de aves em sistemas intensivos. Assim, a liberação
93 de anéis de inositol também pode beneficiar o desempenho e crescimento das aves (Delezie et
94 al., 2015).

95 Tem sido postulado que o modo de ação do mio-inositol e seus derivados, que são
96 liberados devido à aplicação de uma superdosagem de fitase, ser principalmente através do
97 seu papel como um mimético de insulina, transferência de impulsos nervosos, liberação de
98 cálcio intracelular do retículo endoplasmático, glicogenólise hepática, agregação plaquetária,
99 osteogênese, etc. (Croze e Soulage, 2013). No entanto Chung et al. (2013) relataram que o
100 impacto da fitase na disponibilidade de outros minerais além do fósforo não está totalmente
101 definido. Além disso, afirmaram que pode ser difícil substituir completamente a fonte de

123 A enzima fitase foi adicionada *on top* nas dietas (de acordo com os tratamentos) antes
 124 do procedimento de mistura, na forma de pó. A fitase utilizada foi uma enzima comercial,
 125 produzida a partir da fermentação de *Aspergillus oryzae*.

126 A composição da matéria prima e o perfil nutricional das dietas seguiram as
 127 exigências para frangos de corte macho (desempenho médio), extraídos a partir das Tabelas
 128 Brasileiras para Aves e Suínos, sugeridos por Rostagno et al., (2011) e comparados com
 129 análise laboratorial. A ração foi produzida na forma de *pellet*. Para a fase de 1 a 14 dias as
 130 dietas foram trituradas pós peletização, de 15 a 35 dias as dietas foram fornecidas na forma de
 131 *pellet* integro (4,75 mm).

132 O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (peso inicial das
 133 aves aos 28 dias). No início do experimento as aves foram pesadas individualmente e
 134 distribuídas de acordo com o peso inicial, permitindo que todos os tratamentos
 135 tivessem repetições com aves de peso uniforme.

136 Os animais foram distribuídos em 12 tratamentos, 8 repetições com 6 aves cada. Os
 137 tratamentos consistiram de dietas com níveis crescentes de energia metabolizável aparente
 138 corrigida para balanço de nitrogênio - EMAn (2950, 3050, 3150 e 3250 kcal/kg) peletizadas e
 139 contendo diferentes níveis de fitase (sem fitase, 500 e 1000 FTU/kg) entre si, conforme
 140 demonstrado na Tab. 2.

141

142 Tabela 2 - Composição dos tratamentos experimentais

Tratamento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
EMAn (kcal/kg)	2950	2950	2950	3050	3050	3050	3150	3150	3150	3250	3250	3250
Fitase (FTU/kg)	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000

143

144 As dietas experimentais foram administradas de 28 a 35 dias de idade das aves. As
 145 variáveis de desempenho também foram avaliadas nesse período de vida, onde as aves foram
 146 pesadas para obter o peso médio corporal (PMC) e ganho de peso médio (GPM). A ração
 147 fornecida e as sobras também foram pesadas diariamente nesse período, para determinar o
 148 consumo médio de ração (CMR) e a conversão alimentar (CA), a partir do CMR/GPM.

149 A metodologia estatística utilizada foi a Análise de Variância, através do
 150 procedimento MIXED do programa estatístico SASTM (2012). Foram testados os efeitos fixos
 151 de bloco para EMAn, fitase e a interação EMAn×Fitase. A comparação entre as médias foi
 152 realizada pelo teste *t-Student*, protegido pelo teste F global ($p \leq 0,05$).

153 O projeto foi protocolado sob o n° 014/2015 no Comitê de Ética no Uso de Animais
 154 (CEUA) da Embrapa Suínos e Aves – Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves

155 (CNPSA), onde foi aprovado na reunião do dia 29/10/2015, na sede da instituição, em
156 Concórdia/SC.

157

158 **Resultados e Discussão**

159

160 São apresentados na Tab. 3 os resultados obtidos para o desempenho no período
161 experimental, onde é possível observar que houve diferença estatística para as variáveis de
162 peso médio aos 35 dias, ganho de peso médio entre 28 e 35 dias, consumo médio de ração e
163 conversão alimentar no período.

164 A variável peso médio foi afetada tanto pelo nível energético da dieta quanto na
165 ausência de fitase, não havendo interação entre energia e fitase. Houve efeito do nível de
166 fitase apenas nas dietas com maior EMAn (3250 Kcal/kg) com a melhor resposta para o nível
167 de 1000 FTU/kg. Entretanto os melhores resultados para ganho de peso médio no período
168 foram observados nos tratamentos com menor nível energético (2950 kcal/kg) e maior nível
169 de inclusão de fitase (1000 FTU/kg) e também nos tratamentos com nível energético de 3150
170 kcal/kg e de 500 FTU/kg de fitase. Esses mesmos tratamentos apresentaram o maior consumo
171 médio de ração no período estudado. Notou-se que com nível de 500 FTU/kg de fitase houve
172 uma melhora gradual da conversão alimentar à medida que ocorria uma elevação do nível de
173 EMAn, sendo que as melhores conversões se situaram entre 3150 e 3250 kcal/kg.

174 Em geral, na literatura especializada têm-se demonstrado o efeito positivo da
175 suplementação desta enzima sobre o desempenho das aves em níveis que variam de 250
176 FTU/kg a 2000 FTU/kg da dieta. Esta diferenciação nos níveis utilizados ocorre em função de
177 inúmeros fatores, entre eles: culturas de microrganismos utilizadas para a produção da
178 enzima; estabilidade e atividade da enzima sobre o fitato; e concentração de ácido fítico nos
179 ingredientes da dieta (Fukayama et al., 2008; Laurentiz et al., 2009). Porém, Cowieson et al.
180 (2011), ao adicionarem diferentes níveis de fitase, não notaram nenhum efeito sobre o
181 desempenho de frangos de corte.

182 De forma semelhante a este estudo, Shirley e Edwards (2003) concluíram que dietas
183 para frangos de corte, contendo diferentes níveis (0 a 1500 FTU/kg) de fitase aumentou
184 significativamente o peso corporal das aves. Da mesma forma Sohail e Roland (1999)
185 obtiveram resultados onde o tratamento com fitase aumentou significativamente o peso
186 corporal de frangos aos 21 dias de idade. De Souza et al. (2015) realizaram um estudo para
187 determinar o efeito da fitase na dieta sobre o desempenho. Eles descobriram que a dieta que
188 foi suplementada com fitase, apresentou melhores resultados. Frangos que foram alimentados

189 com dieta suplementada com fitase apresentaram melhoria no consumo de ração, ganho de
190 peso e conversão alimentar.

191

192 Tabela 3 - Médias, erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F para as variáveis de desempenho
193 de frangos de corte, recebendo dietas com níveis crescente de EMAn e fitase, de 28 a 35 dias

Variável	EMAn	Fitase (FTU/kg)			Valor de P
	(kcal/kg)	0	500	1000	
Peso Médio aos 35 dias (g)	2950	2409,58± 10,97 ^A	2406,25± 39,39	2458,33± 32,97	0,5262
	3050	2421,25± 35,94 ^A	2385,00± 38,45	2400,83± 39,00	0,7782
	3150	2361,50± 33,95 ^{AB}	2424,58± 17,71	2332,08± 31,63	0,1893
	3250	2287,71± 47,02 ^{Bb}	2311,25± 54,13 ^b	2413,92± 28,68 ^a	0,0374
	Pr > F	0,0454	0,1395	0,1094	
Consumo Médio (g)	2950	1136,98± 24,24 ^{Ab}	1199,75± 18,5 ^{Aab}	1270,54± 24,77 ^{Aa}	0,0067
	3050	1111,83± 26,88 ^A	1130,09± 40,19 ^A	1113,33± 20,62 ^B	0,8844
	3150	1024,67± 31,98 ^{Bb}	1141,46± 19,75 ^{Aa}	1044,46± 26,91 ^{Bb}	0,0121
	3250	1005,50± 34,21 ^B	1018,46± 43,63 ^B	1088,17± 19,10 ^B	0,1006
	Pr > F	0,0033	0,0004	<0,0001	
Ganho de Peso Médio (g)	2950	757,92±21,77 ^b	789,17±25,10 ^b	873,33±24,82 ^{Aa}	0,0167
	3050	786,67±26,61	759,58±34,96	765,83±16,78 ^B	0,7844
	3150	721,50±29,86 ^b	805,42±20,35 ^a	690,83±29,54 ^{Bb}	0,0175
	3250	693,13±33,47	731,67±44,95	755,17±11,74 ^B	0,3101
	Pr > F	0,1160	0,2843	0,0003	
Conversão Alimentar	2950	1,503±0,022	1,527±0,034 ^A	1,458±0,016	0,2102
	3050	1,417±0,018	1,496±0,039 ^A	1,455±0,017	0,1428
	3150	1,425±0,021 ^b	1,420±0,019 ^{Bb}	1,521±0,031 ^a	0,0203
	3250	1,460±0,036	1,406±0,032 ^B	1,442±0,027	0,3762
	Pr > F	0,1246	0,0065	0,2043	

194 Médias seguidas por letras distintas maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem significativamente
195 pelo teste *t-Student* ($p \leq 0,05$)

196

197 Da mesma forma, Onyango et al. (2005) relataram aumento no ganho de peso corporal
198 com suplementação de fitase a 500 e 1000 FTU/kg. Assim como Cowieson et al. (2006)
199 também relataram melhorias no ganho de peso corporal de frangos.

200 Pirgozliev et al. (2011) relataram aumento no consumo de ração à medida que o nível
201 de fitase aumentou de 250, 500 e 2500 FTU/kg, que por sua vez aumentou o ganho de peso
202 corporal. No entanto, diferentemente do que foi constatado no presente estudo, Chung et al.
203 (2013) relataram que não houve efeito ($p > 0,05$) sobre o consumo de ração e ganho de peso de
204 frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com fitase (1500 e 3000 FTU/kg).

205 A diferença significativa encontrada para a variável consumo de ração pode ser
206 explicada pelas diferentes densidades energéticas das dietas, tendo a EMAn um efeito
207 regulador no consumo de alimentos, refletindo também na variável ganho de peso.

208 O efeito promotor do crescimento no presente estudo pode ser parcialmente atribuído
209 ao aumento do consumo de ração e melhor aproveitamento do fósforo e do inositol. Shirley e
210 Edwards (2003) relataram que uma dose graduada de fitase (0 a 2000 FTU/kg) aumentou o
211 consumo de ração. No entanto, Pirgozliev et al. (2011) observaram que o consumo de ração
212 da dieta controle, sem fitase, não diferiu significativamente com as dietas suplementadas com
213 nível graduado de fitase a 250, 500, 1500 FTU/kg. Os mesmos autores relataram melhor
214 conversão alimentar de dietas com suplementação de fitase em 500 FTU/kg em comparação
215 com a dieta sem fitase.

216 Assim como pode ser observado neste estudo, a literatura sugere que, embora a
217 suplementação com fitase nem sempre melhore a energia metabolizável da dieta, ela
218 normalmente melhora a ingestão de alimentos e conseqüentemente o ganho de peso de
219 frangos de corte (Pirgozliev et al., 2011).

220 Provavelmente devido ao período de vida dos animais no presente estudo, não tenha
221 sido possível observar resultados mais significativos nas variáveis de desempenho, pois
222 segundo De Souza et al. (2015) nos primeiros dias de vida, que configura o estágio inicial de
223 crescimento, os frangos de corte demonstram maiores índices proporcionais de crescimento
224 corporal, o que pode favorecer resultados mais enfáticos nessa fase inicial.

225 Walk et al., (2013), levantaram a hipótese de que as melhorias na eficiência alimentar
226 foram associadas à destruição quase completa do fitato e à remoção de seus efeitos
227 antinutricionais, promovendo uma digestão mais eficiente. Isto é corroborado por trabalhos
228 demonstrando que o fitato presente na dieta reduz a digestibilidade de aminoácidos e a
229 atividade enzimática endógena em frangos de corte e interfere na digestibilidade mineral
230 através da quelação com cátions (Cowieson et al., 2006; Liu et al., 2014). Mesmo os níveis
231 normais de fitato encontrados em dietas à base de milho e farelo de soja podem ter um efeito
232 negativo no desempenho do crescimento e na eficiência alimentar (Liu et al., 2014).

233 De forma similar a este trabalho, De Souza et al. (2015) realizaram um estudo para
234 determinar o efeito da fitase na dieta sobre o desempenho. Eles descobriram que a dieta que
235 foi suplementada com fitase, apresentou melhor desempenho. Frangos que foram alimentados
236 com dieta suplementada com fitase apresentaram 4,40, 11,04 e 7,14% de melhoria no
237 consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, respectivamente.

238 A fitase microbiana pode aumentar consistentemente a capacidade metabolizável da
239 energia de dietas de frangos de corte, e como mostrado por Pirgozliev et al. (2011), eles têm
240 um impacto sobre o conteúdo energético líquido da dieta. Os autores sugerem que o efeito
241 positivo da fitase na utilização de energia decorre do acúmulo de maior digestibilidade de
242 proteína, gordura e amido. Além disso, as proteínas endógenas, como a mucina, apresentam a
243 sua necessidade de síntese minimizadas (um processo que exige energia).

244

245 **Conclusões**

246

247 Os melhores índices de desempenho de frangos de corte no período de 28 a 35 dias de
248 idade, foram observados em dietas com EMAn de 3150 Kcal/kg e com a inclusão de 500
249 FTU/kg de fitase.

250

251 **Referências**

252

253 BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. 2010. Enzymes in farm animal nutrition. 2nd edition.
254 London, UK, 319p.

255

256 CHUNG, T.K.; RUTHERFURD, S.M.; THOMAS, D.V.; MOUGHAN, P.J. Effect of two
257 microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-
258 phosphorus diets for broilers. *British Poultry Science* 54, 362–373. 2013.

259

260 COWIESON, A.J.; HRUBY, M.; PIERSON, E.E.M. Evolving enzyme technology: impact on
261 commercial poultry nutrition. *Nutrition Research Review*, 19: 90–103. 2006.

262

263 COWIESON, A.J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M.R. Super-dosing effects of phytase in
264 poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*; 67:225–236, 2011.

265

266 COWIESON, A.J.; BEDFORD, M.R.; SELLE, P.H. et al. Phytate and microbial phytase:
267 implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's Poultry Science*
268 *Journal*, 65, p 401-18, 2009.

269

270 CROZE, M.L.; SOULAGE, C.O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in
271 metabolic diseases. *Biochimie* 95, 1811– 1827. 2013.

272

273 DE SOUSA, J.P.L; ALBINO, L.F.T.; VAZ, R.G.M.V.; RODRIGUES, K.F. The effect of
274 dietary phytase on broiler performance and digestive and bone and blood biochemistry
275 characteristics. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 17, Campinas. 2015.

276

277 DELEZIE, E.; MAERTENS, L.; HUYGHEBAERT, G. et al. Impacts of calcium and
278 phosphorus concentration, their ratio, and phytase supplementation level on growth
279 performance, foot pad lesions, and hock burn of broiler chickens. *Journal Applied of Poultry*
280 *Research*, v. 24, p.115–126, 2015.

- 281
282 DOS SANTOS, T.T.; SRINONGKOTE, S.; BEDFORD, M.R.; WALK, C.L. Effect of high
283 phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available
284 phosphorus. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 26 (2), pp. 227-232, 2013.
285
286 FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO L.R.B. et al. Efeito da suplementação
287 de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade 319 dos nutrientes em frangos de corte.
288 *Revista Brasileira de Zootecnia*; 37: 629-635, 2008.
289
290 HURRELL, R.F. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral
291 bioavailability. *Journal of Nutrition*. v.133, p.2973S–2977S, 2003.
292
293 KARADAS, F.; PIRGOZLIEV, V.; PAPPAS, A.C.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R.
294 Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the
295 liver of growing broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*; 94:519–526.
296 2010.
297
298 LALPANMAWIA, H.; ELANGO VAN, A.V.; SRIDHAR, M.; SHET, D. Efficacy of phytase
299 on growth performance, nutrient utilization and bone mineralization in broiler chicken.
300 *Animal Feed Science Technology*, 192: 81–89. 2014.
301
302 LAURENTIZ, A. C.; JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; ASSUENA, V.; CASARTELLI,
303 E. M.; COSTA, R. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com
304 redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. *Ciência Animal Brasileira*, v. 8,
305 n. 2, p. 207-216, abr./jun. 2009.
306
307 LIU, S. Y.; CADOGAN, D.J.; PÉRON, A. et al. Effects of Phytase supplementation on
308 growth performance nutriente utilisation and digestive dynamics in broilers chickens. *Animal*
309 *Feed Science Technology*; v197. 164-175, 2014.
310
311 ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli*
312 phytase in diets of broiler chicks. *Poultry Science*, v.84, p.248-255, 2005.
313
314 PIRGOZLIEV, V.; BEDFORD, M.R.; ACAMOVIC, T.; MARES, P.; ALLYMEHR, M. The
315 effects of supplementary bacterial phytase on dietary energy and total tract amino acid
316 digestibility when fed to young chickens. *British Poultry Science*; 52:245-254. 2011.
317
318 ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. Tabelas brasileiras para aves e
319 suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: Universidade
320 Federal de Viçosa, 2011. 186p
321
322 SAS INSTITUTE INC. System for Microsoft Windows, Release 9.4, Cary, NC, USA, 2002-
323 2012. (CD-ROM)
324
325 SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science*
326 *Technology*, 135, 1–41. 2007.
327
328 SHIRLEY, R.B.; EDWARDS, J.A. Graded levels of phytase past industry standards improves
329 broilers performance. *Poultry Science*, v.82, p.671-680, 2003.
330
331

331 SOHAIL, S.S.; ROLAND D.A. Influence of supplemental phytase on performance of broilers
332 four to six weeks of age. Poultry Science; 78:550–555. 1999.
333

334 VIVEROS, A; BRENES, A; ARIJA, I. et al. Effects of microbial phytase supplementation on
335 mineral utilization and serum enzymes activities in broiler chicks fed different levels of
336 phosphorus. Poultry Science 2002; 81:1172-1183.
337

338 WALK, C.L.; BEDFORD, M.R.; SANTOS T.T. et al. Extra-phosphoric effects of superdoses
339 of a novel microbial phytase. Poultry Science; 92:719–725. 2013.
340

341 WOYENGO, T.A.; NYACHOTI, C.M. Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs
342 and poultry – current knowledge and directions for future research. Canadian Journal of
343 Animal Science, 93: 9–21. 2013.
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376

6. Artigo 2 – versão preliminar¹

¹Formatado conforme as normas do periódico “Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia”

EFEITOS DE DIFERENTES NÍVEIS DE FITASE E DENSIDADES ENERGÉTICAS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SOBRE ÀS CARACTERÍSTICAS DA TÍBIA, NA FASE DE 28 A 35 DIAS DE IDADE

Henrique Müller Dallmann¹, Valdir Silveira de Avila², Everton Luis Krabbe³, Vicky Lilge Kowski⁴, Gizelle Cristina Bedendo⁵, Victor Fernando Büttow Roll⁶, Taiani dos Santos de Toledo⁷, Paulo Roberto Dallmann⁸ e Fernando Rutz⁹

1 Médico Veterinário, Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFPel

2, 3 Pesquisador, Embrapa Suínos e Aves

4,5 Analista, Embrapa Suínos e Aves

6, 9 Professor, Departamento de Zootecnia, UFPel

7 Zootecnista, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFPel

8 Professor, IFSul Campus Pelotas - “Visconde da Graça”

Resumo: Neste trabalho foram alojados 576 frangos, machos, da linhagem *Cobb500*, em gaiolas metabólicas de metal, onde o alimento e a água foram fornecidos à vontade. As dietas continham níveis crescentes de energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio - EMAn (2950, 3050, 3150 e 3250 kcal/kg) e diferentes níveis de fitase (sem fitase, 500 e 1000 FTU/kg), distribuídas em blocos casualizados, com 12 tratamentos, 8 repetições de 6 aves cada. Foram avaliadas força, área e comprimento da tibia, além de matéria seca, cálcio, fósforo, magnésio, zinco e cinzas dos ossos. A suplementação de fitase em níveis de 500 e 1000 FTU/Kg influenciou negativamente a deposição de cálcio, fósforo, matéria seca e cinzas, além das variáveis força e área das tibias de frangos de corte. Não houve diferença nas variáveis de comprimento do osso e nos níveis de magnésio e zinco presentes nas tibias.

Palavras-chave: enzimas, fósforo, fitato, tibia, superdosagem

Abstract: A total of 576 male broilers from the *Cobb500* strain were housed in metabolic cages where food and water were supplied ad libitum. The diets contained increasing levels of apparent metabolizable energy corrected for nitrogen balance - EMAn (2950, 3050, 3150 and 3250 kcal/kg) and different levels of phytase (control - no phytase added, 500 and 1000 FTU/kg phytase) distributed in randomized blocks, with 12 treatments, 8 replicates of 6 birds

35 each. Strength, area and length of tibia, as well as dry matter, calcium, phosphorus,
36 magnesium, zinc and bone ash were evaluated. Phytase supplementation at levels of 500 and
37 1000 FTU/kg negatively influenced calcium, phosphorus, dry matter and ash deposition, as
38 well as strength and area variables of broiler chickens. There was no difference in the length
39 of the bone and in the levels of Magnesium and zinc present in the tibias.

40 **Keywords:** enzymes, phosphorus, phytate, tibia, superdosing

41

42 **Introdução**

43

44 Vários estudos sobre frangos de corte são desenvolvidos nas áreas de genética, manejo
45 e nutrição; visando aumentar a produtividade e reduzir os custos de produção através do
46 desenvolvimento máximo do potencial genético do animal. A nutrição adequada é baseada no
47 princípio de que o animal está recebendo uma quantidade adequada de nutrientes, como
48 proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais, em particular, para participar de todos
49 os processos bioquímicos do corpo (Sechinato et al., 2006).

50 A suplementação de macro minerais na ração de aves é frequentemente modificada de
51 acordo com o melhoramento genético, bem como novos conhecimentos das características
52 físicas e químicas das fontes que influenciam a biodisponibilidade desses macro minerais para
53 os animais (Bertechini, 2012). Entre os minerais requeridos pelos frangos de corte, o fósforo e
54 o cálcio são os mais importantes, não apenas porque são necessários para uma taxa de
55 crescimento ótima, mas também para a mineralização óssea. O fósforo participa dos processos
56 metabólicos e da absorção de nutrientes, além de ser o mineral mais caro no custo final da
57 ração (Gomes et al., 2004).

58 O fósforo (P) é um mineral essencial para o crescimento e desenvolvimento do
59 esqueleto das aves e, se deficiente, resulta em efeitos deletérios como deformidades
60 esqueléticas e comprometimento de processos metabólicos; e, em última análise, má
61 utilização de nutrientes e desempenho reduzido. Como o fósforo desempenha um papel
62 importante no metabolismo de nutrientes primários, sua deficiência resulta em problemas de
63 saúde e desempenho de frangos de corte (Panda et al., 2007).

64 A busca por soluções para atender corretamente às necessidades de cálcio (Ca) e
65 fósforo no corpo do animal é constante, especialmente devido ao seu rápido crescimento e
66 consequente redução na idade de abate. Assim, enfatiza a importância do uso de rações de
67 melhor qualidade e o uso de aditivos que possibilitem que os frangos aproveitem ao máximo
68 os nutrientes dos alimentos (Brandão et al., 2007). Em dietas formuladas para aves, o

69 suprimento de fósforo disponível por fontes vegetais não é suficiente para atender as
70 exigências nutricionais adequadas para o desempenho animal e mineralização óssea. Assim,
71 há necessidade de suplementação com fósforo de fontes na forma inorgânica, destacando as
72 diferenças nos valores de biodisponibilidade entre estas fontes (Rostagno et al., 2011).

73 O fitato é a principal forma de fósforo encontrada nos grãos de cereais e sementes
74 oleaginosas utilizados nas dietas para frangos de corte. Aproximadamente 60-70% do fósforo
75 encontrado em ingredientes de dietas utilizadas na avicultura está na forma de fitato (Yu et al.,
76 2012). Esse fósforo fítico será disponibilizado ao animal na presença da enzima fitase. A
77 produção de fitase endógena por aves é quase nula e o fósforo complexado em forma de
78 fitato, que é considerado a maior reserva desse elemento em plantas, torna-se indisponível
79 para os animais, por isso a fitase exógena administrada via ração tem sido utilizada como uma
80 fonte de suplementação de fósforo, atuando na hidrólise de fitatos presentes em grãos e
81 liberando P para assimilação dos animais. Alguns microrganismos produzem fitase, mais
82 frequentemente fungos e bactérias (Conte et al., 2002).

83 Nutricionalmente, o uso de enzimas exógenas, como fitase, por exemplo, permite que
84 os nutrientes sejam mais bem aproveitados pelo animal, por isso haveria um aumento no uso
85 de fósforo, aminoácidos e energia, reduzindo o custo final da formulação da ração (Tejedor et
86 al., 2001). A fitase nas dietas de aves melhora a saúde do intestino, como indicado pela
87 redução das secreções do trato gastrointestinal (TGI), que conseqüentemente melhora a
88 eficiência da utilização de energia. Muitos estudos mostraram que a fitase exógena pode ser
89 usada para aumentar a disponibilidade de fósforo e reduzir sua excreção (Panda et al., 2007).

90 Nos últimos anos, tem-se dedicado cada vez mais atenção ao efeito de doses não
91 convencionais de fitases, normalmente acima de 500 FTU/kg de ração. Além disso, o uso de
92 doses mais altas de fitase vem ganhando interesse, não apenas devido à maior liberação de P,
93 mas também deixando menos fitato residual e geração de mioinositol. O uso de superdoses de
94 fitase mostrou melhorar a disponibilidade de nutrientes nas dietas de aves (Lalpanmawia et
95 al., 2014). As altas doses de fitase podem resultar em maior liberação de fósforo e/ou
96 restaurar a liberação proporcional de Ca:P com menos fitato residual no intestino, podendo
97 interferir no conteúdo mineral ósseo. A redução dos níveis de cálcio abaixo da exigência
98 também pressiona a eficiência da utilização do fósforo digestível, pois, por definição, alguns
99 dos P digeridos se tornarão excessivos se o Ca se tornar cada vez mais deficiente. Vários
100 trabalhos sugerem que a relação Ca:P é importante na descrição da resposta à fitase
101 (Cowieson et al., 2011).

102 A fragilidade óssea em frangos de corte não é apenas uma questão econômica, mas
103 uma questão de bem-estar. A resistência óssea reflete a mineralização óssea, ou seja, aves que
104 apresentam baixo teor de matéria mineral também apresentarão resistência óssea menor.
105 Como o cálcio e o fósforo são os minerais em maior proporção na matriz óssea, a maior
106 disponibilidade desses minerais pela adição da fitase reflete na melhora da porcentagem de
107 cinzas e na resistência à quebra dos ossos (Laurentz et al., 2009).

108 O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes níveis de fitase e densidades
109 energéticas nas dietas de frangos de corte, sobre as características físicas e deposição mineral
110 das tíbias, especificamente dos 28 aos 35 dias de idade, período considerado estratégico por
111 ser o de alto consumo de ração e devido a escassez de estudos sobre o assunto nessa fase de
112 produção.

113

114 **Material e Métodos**

115

116 O trabalho foi conduzido na Embrapa Suínos e Aves, em Concórdia/SC, na sala de
117 metabolismo, onde foram alojados 576 frangos, machos, da linhagem *Cobb500*, em gaiolas
118 metabólicas de metal, equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo *nipple*, onde o
119 alimento e a água foram fornecidos à vontade. O ambiente possuía temperatura, umidade
120 relativa do ar e iluminação controlados, conforme o manual da linhagem.

121 As dietas foram compostas a base de milho e farelo de soja, suplementadas com
122 calcário e fosfato bicálcico para atender as exigências de cálcio e fósforo. Óleo de soja,
123 aminoácidos sintéticos, premix mineral, premix vitamínico, e sal foram utilizados para
124 atender as exigências nutricionais das aves. Foram também utilizados agentes anticoccidiano
125 e sequestrante de micotoxina, conforme Tab. 1.

126 A enzima fitase foi adicionada *on top* nas dietas (de acordo com os tratamentos) antes
127 do procedimento de mistura, na forma de pó. A fitase utilizada foi uma enzima comercial,
128 produzida a partir da fermentação de *Aspergillus oryzae*.

129 A composição da matéria prima e o perfil nutricional das dietas seguiram as
130 exigências para frangos de corte macho (desempenho médio), extraídos a partir das Tabelas
131 Brasileiras para Aves e Suínos, sugeridos por Rostagno et al., (2011) e comparados com
132 análise laboratorial. A ração foi produzida na forma de *pellet*. Para a fase de 1 a 14 dias as
133 dietas foram trituradas pós peletização, de 15 a 35 dias as dietas foram fornecidas na forma de
134 *pellet* integro (4,75 mm).

135 O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (peso inicial das
136 aves aos 28 dias). No início do experimento as aves foram pesadas individualmente e
137 distribuídas de acordo com o peso inicial, permitindo que todos os tratamentos
138 tivessem repetições com aves de peso uniforme.

139

140 Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais

Tratamento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Milho	57,148	57,148	57,148	54,893	54,893	54,893	52,639	52,639	52,639	50,384	50,384	50,384
Farelo de Soja	37,554	37,554	37,554	37,903	37,903	37,903	38,251	38,251	38,251	38,600	38,600	38,600
Óleo Soja	0,898	0,898	0,898	2,808	2,808	2,808	4,717	4,717	4,717	6,627	6,627	6,627
Fosfato Bicálcico	0,199	0,199	0,199	0,201	0,201	0,201	0,204	0,204	0,204	0,206	0,206	0,206
Calcário	0,808	0,808	0,808	0,805	0,805	0,805	0,802	0,802	0,802	0,800	0,800	0,800
Sal	0,479	0,479	0,479	0,480	0,480	0,480	0,480	0,480	0,480	0,481	0,481	0,481
Premix Vitamínico	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Mineral	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
DL-Metionina	0,262	0,262	0,262	0,265	0,265	0,265	0,267	0,267	0,267	0,270	0,270	0,270
L-Lisina	0,195	0,195	0,195	0,188	0,188	0,188	0,182	0,182	0,182	0,175	0,175	0,175
L-Treonina	0,074	0,074	0,074	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073
Anticoccidiano	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Adsorvente	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Caulin	1,500	1,495	1,490	1,500	1,495	1,490	1,500	1,495	1,490	1,500	1,495	1,490
Fitase	0,000	0,005	0,010	0,000	0,005	0,010	0,000	0,005	0,010	0,000	0,005	0,010
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

141

142 Os animais foram distribuídos em 12 tratamentos, 8 repetições com 6 aves cada. Os
143 tratamentos consistiram de dietas com níveis crescentes de energia metabolizável aparente
144 corrigida para balanço de nitrogênio - EMAn (2950, 3050, 3150 e 3250 kcal/kg) peletizadas e
145 contendo diferentes níveis de fitase (sem fitase, 500 e 1000 FTU/kg) entre si, conforme
146 demonstrado na Tab. 2. As dietas experimentais foram administradas de 28 a 35 dias de idade
147 das aves.

148

149 Tabela 2 - Composição dos tratamentos experimentais

Tratamento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
EMAn (Kg/Kcal)	2950	2950	2950	3050	3050	3050	3150	3150	3150	3250	3250	3250
Fitase (FTU/Kg)	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000	0	500	1000

150

151 Aos 35 dias de idade duas aves por unidade experimental foram separadas e abatidas
152 por deslocamento cervical. Delas foram retiradas as tíbias (das duas pernas), onde foram

153 determinadas as seguintes variáveis: resistência a quebra (força, comprimento e área) e teores
154 de Cinzas (Cz), Matéria Seca (MS), Magnésio (Mg), Zinco (Zn), Cálcio (Ca) e Fósforo (P).

155 O teste de resistência óssea foi conduzido usando um texturômetro. Os ossos foram
156 posicionados sob dois suportes com espaço entre eles de 40 mm. Após a análise física, as
157 tíbias foram secas em estufas à 105°C (IAL, 2008) e submetidas à mufla para obtenção das
158 cinzas e matéria seca (MS); e para determinação do conteúdo de cinzas, magnésio (Mg), zinco
159 (Zn), cálcio (Ca) e fósforo (P), conforme metodologia de AOAC (2000), realizadas no
160 Laboratório de Análise Físico-Químicas (LAFQ) da instituição.

161 A metodologia estatística utilizada foi a Análise de Variância, utilizando o pacote
162 estatístico “R”. Para comparação dos tratamentos foi utilizado o procedimento “LSM- *least*
163 *squares means*” sendo as médias comparadas através do teste Tukey. Foram testados os
164 efeitos fixos de bloco para EMAn, fitase e a interação EMAn×fitase. Um valor de
165 probabilidade de $P < 0,05$ foi descrito como sendo estatisticamente significativo.

166 O projeto foi protocolado sob o nº 014/2015 no Comitê de Ética no Uso de Animais
167 (CEUA) da Embrapa Suínos e Aves – Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves
168 (CNPISA), onde foi aprovado na reunião do dia 29/10/2015, na sede da instituição, em
169 Concórdia/SC.

170

171 **Resultados e Discussão**

172

173 Segundo Sohail & Roland (1999), as características ósseas são os parâmetros mais
174 sensíveis para avaliar o efeito da fitase em relação às características de desempenho. No
175 presente estudo foi possível observar que houve diferença significativa ($P < 0,05$) para os
176 efeitos das diferentes doses de fitase nas variáveis força e área da tíbia, assim como para os
177 níveis de Matéria Seca (MS), Cinza (CZ), Cálcio (Ca) e Fósforo (P) depositados nos ossos das
178 aves. No entanto, os tratamentos não causaram efeitos significativos nas variáveis de
179 comprimento do osso, nos níveis de Magnésio (Mg) e Zinco (Zn) presentes nas tíbias.
180 Também não foi observado nenhum efeito causado pelas diferentes densidades energéticas e
181 interação entre as densidades energéticas e os níveis de fitase nas variáveis analisadas (Tab. 3
182 e 4).

183 Diferentemente do que é possível constatar na grande maioria das pesquisas sobre o
184 assunto, no presente trabalho, os níveis crescentes de fitase na dieta causaram um efeito
185 negativo na deposição mineral (Ca e P), níveis de cinzas, matéria seca e conseqüentemente
186 nos índices de força e área das tíbias. Ou seja, a dieta controle, sem adição de fitase

187 apresentou melhor nível de mineralização óssea quando comparada às dietas com fitase nos
188 níveis de 500 e 1000 FTU/kg de ração.

189 Vários podem ser os motivos que expliquem esses resultados, entre eles a idade das
190 aves utilizadas no experimento, tendo em vista que com o passar do tempo os animais podem
191 ter maiores índices de enzima fitase endógena, além de maior adaptabilidade do trato
192 gastrointestinal. Fato esse sugerido por Bedford e Partridge (2010), onde afirmam que
193 qualquer enzima funcionará melhor em pintinhos jovens que não tenham um sistema
194 enzimático totalmente desenvolvido. Na mesma linha de raciocínio, Tiwari et al. (2010)
195 relataram a melhor resposta em aves jovens quando a fitase foi oferecida a pintos de corte,
196 assim como Bertechini (2012), demonstrou claramente a relação da idade quando a eficácia
197 da enzima fitase foi significativamente inferior ou nula em frangos de corte com mais de 21
198 dias de idade. Simplificando, as enzimas tendem a ser mais eficazes em aves jovens, pois, a
199 medida que as aves amadurecem e a digestibilidade geral melhora, a eficácia enzimática
200 exógena diminui. Logicamente, qualquer enzima funcionará melhor quando os níveis de
201 enzimas endógenas estão no seu nível mais baixo, isto é, no pintinho jovem. Posteriormente,
202 pode-se esperar que a eficácia da enzima diminua à medida que o trato gastro intestinal se
203 desenvolve (Klein, 2013).

204

Tabela 3 - Níveis de Matéria Seca (MS), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Fósforo (P), Zinco (Zn) e Cinzas (Zn) nas tíbias de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fitase e densidade energética, na fase de 28 a 35 dias

	Variáveis					
	MS (%)	Ca (mg/Kg)	Mg (mg/Kg)	P (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)	Cz (mg/Kg)
	Efeitos da Enzima Fitase (FTU/kg)					
0	50,07 ± 1,55 ^a	73873,27 ± 3944,03 ^a	1565,76 ± 119,49	33676,30 ± 1861,46 ^a	63,26 ± 5,48	21,56 ± 0,89 ^a
500	48,79 ± 2,50 ^b	70631,66 ± 4625,08 ^b	1568,43 ± 124,46	32327,75 ± 1698,60 ^b	61,53 ± 6,041	20,56 ± 0,94 ^b
1000	48,14 ± 1,57 ^b	69516,16 ± 5188,15 ^b	1525,25 ± 147,73	31679,00 ± 2392,66 ^b	61,81 ± 6,89	20,20 ± 1,06 ^b
Linear	P=0,02	P<0,001	P=0,644	P=0,132	P=0,422	P=0,048
	Efeitos da Energia Metabolizável (Kcal/kg)					
2950	48,24 ± 1,53	71643,00 ± 4511,79	1558,56 ± 122,76	32704,61 ± 1864,33	62,06 ± 6,24	20,97 ± 0,85
3050	48,99 ± 1,30	72369,67 ± 5213,37	1548,50 ± 132,27	32908,17 ± 2272,15	63,57 ± 6,41	20,86 ± 0,99
3150	49,02 ± 2,18	71799,57 ± 5348,02	1573,82 ± 123,68	32794,52 ± 1902,01	61,97 ± 5,73	20,89 ± 1,08
3250	48,63 ± 2,81	69369,88 ± 5348,02	1531,75 ± 149,70	31759,54 ± 2436,28	61,09 ± 6,35	20,32 ± 1,41
Linear	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Quadrático	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Valor de P					
Fitase	<0,001	<0,001	NS	<0,001	NS	<0,001
EMn	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Fitase X EMn	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

205 Embora a mineralização óssea das tíbias tenha sido inferior nas dietas com
206 suplementação de fitase, isso não significa que a enzima não tenha atuado nas dietas, pois a
207 liberação do fósforo presente no fitato provavelmente causou um desequilíbrio na relação de
208 Ca:P, havendo uma reação compensatória, mobilizando Ca e P dos ossos para garantir a

209 homeostase. Possivelmente a justificativa para explicar os dados encontrados no presente
 210 estudo deve-se à atividade catalítica da fitase que pode ser inibida pelo seu próprio produto
 211 final, o fósforo inorgânico, indicando que o aumento das concentrações dietéticas de fósforo
 212 disponível pode resultar na diminuição da hidrólise da fitato, pela fitase (Kleyn, 2013). Nesse
 213 mesmo sentido, Wu et al, (2004) observaram uma melhora na digestibilidade do fósforo ileal
 214 de 7,4 a 23,7% quando o fósforo disponível foi reduzido de 4,5 para 3,0g/kg. Além disso,
 215 segundo os autores, a eficiência da absorção do fósforo do intestino é negativamente
 216 correlacionada com as concentrações disponíveis na dieta.

217

218 Tabela 4 - Índices de força, comprimento e área das tíbias de frangos de corte alimentados com dietas contendo
 219 diferentes níveis de fitase e densidade energética, na fase de 28 a 35 dias

	Variáveis		
	Força (Kgf)	Comprimento (mm)	Área (Kg.mm)
	Efeitos da enzima fitase (FTU/Kg)		
0	33,41 ± 4,89 ^a	4,85 ± 1,87	39359,38 ± 8397,25 ^a
500	30,03 ± 5,50 ^b	4,89 ± 2,18	33984,50 ± 8173,75 ^b
1000	30,31 ± 4,01 ^b	4,29 ± 1,47	35619,94 ± 7349,07 ^{ab}
Linear	P=0,0285	P=0,377	P=0,0363
	Efeitos da Energia Metabolizável (kcal/kg)		
2950	31,64 ± 4,25	4,63 ± 1,69	38272,43 ± 6772,68
3050	32,06 ± 5,15	4,59 ± 1,81	36089,68 ± 10070,51
3150	30,67 ± 4,63	4,19 ± 1,25	34092,19 ± 7323,28
3250	30,45 ± 5,99	5,26 ± 2,44	36566,04 ± 8160,24
Linear	NS	NS	NS
Quadrático	NS	NS	NS
	Valor de P		
Fitase	P=0,0150	NS	P=0,0253
EMn	NS	NS	NS
Fitase X EMn	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

220

221 A resistência à quebra é representada pelo valor de força e está relacionada a alguns
 222 fatores como: tamanho e à composição mineral do osso. A relação entre a força e o
 223 comprimento (tamanho do osso) representa a rigidez do osso. As medidas de força e a rigidez
 224 estão relacionadas ao estresse (fratura) e tensão do osso. O estresse representa a resistência à
 225 deformação, enquanto a tensão representa a percentagem de deformação (Rath et al., 1999).

226 A fitase microbiana aumenta os níveis dietéticos de P não-fítico, e é de se esperar que
 227 a adição de fitase a dietas inadequadas a esse respeito impulse as respostas de desempenho.
 228 Claramente, a implicação é que a adição de fitase a dietas que já contêm níveis de fósforo
 229 não-fítico relativamente altos poderia gerar um excesso de fósforo contraproducente.

230 Mesmo consumindo rações com níveis adequados de fósforo, porém, com níveis
 231 insuficientes de cálcio, as aves aumentam a taxa de reabsorção óssea para suprir a exigência

232 em cálcio, resultando na mobilização de fosfato ósseo, o qual será excretado na urina e nesta
233 situação ocorre um aumento na excreção de fósforo. Contudo, elevados níveis de cálcio na
234 ração podem alterar a utilização de fósforo, como resultado da alteração da relação
235 cálcio/fósforo. Elevada quantidade de cálcio no intestino e alta relação cálcio/fósforo na ração
236 leva ao aumento do pH intestinal, reduzindo a absorção de fósforo, zinco e manganês,
237 causando desequilíbrio desses nutrientes (Oderkirk, 1998).

238 A fitase microbiana induz a liberação de P e Ca com o potencial de causar impacto no
239 equilíbrio catiônico-aniônico efetivo. Se, de fato, a fitase liberar mais Ca que P, isso geraria
240 um aumento líquido nos níveis catiônicos da dieta, o que seria prejudicial. Se a quantidade de
241 fósforo usada em dietas for muito generosa, isso será limitante e conseqüentemente haverá
242 pouca ou nenhuma resposta à fitase. Interações entre cálcio, fósforo, outros minerais e fitase
243 podem ocorrer (Rousseau et al., 2012).

244 De forma semelhante a este estudo, Walk et al. (2014) concluíram que aves que
245 receberam dietas com altos valores de fitase na ração, estavam relacionadas com o maior
246 valor de fósforo disponível, que pode ter inibido a utilização de minerais como: cálcio, zinco,
247 magnésio e ferro no intestino, sendo necessária a mobilização mineral óssea de Ca e P.
248 Segundo os autores, a fitase pode afetar de forma indireta a digestibilidade da proteína e a
249 disponibilidade de minerais, o que podem favorecer ou não a absorção intestinal.

250 Geralmente o P é mais completamente absorvido do que o Ca, embora o mecanismo
251 exato pelo qual ocorre a absorção ainda não seja totalmente compreendido. A quantidade de P
252 absorvida é dependente do nível de P na dieta, a fonte de P, a quantidade de Ca, a relação
253 Ca:P, o pH intestinal e os efeitos antagonistas de outros minerais como zinco e cobre. Além
254 disso, o uso da enzima fitase tem um impacto dramático sobre as necessidades de cálcio e
255 fósforo das aves (Kleyn, 2013).

256 Contrariando os dados do presente estudo, pesquisas de Cabahug et al. (1999) e Singh
257 et al. (2003), demonstraram que a suplementação de fitase melhorou o peso da tíbia e o teor
258 de cinzas nos ossos.

259 Porém Saima et al., (2009) e Walk et al. (2014), obtiveram resultados semelhantes a
260 este trabalho, onde os dados revelaram que a aplicação da enzima fitase mostrou diferença
261 significativa ($P < 0,05$) inferiores para os parâmetros de características da tíbia, cinzas minerais
262 (zinco, cálcio e fósforo) em tíbias de frangos de corte em todos os tratamentos de
263 suplementação de enzima fitase em comparação com o tratamento controle, sem enzima.

264 No entanto, Rutherford et al. (2012) e Guo et al. (2009) relataram que o peso da tíbia
265 foi significativamente maior no grupo suplementado com fitase. Rousseau et al. (2012)

266 relataram que o diâmetro tibial foi melhorado pela suplementação com fitase de 500 FTU/kg
267 em dietas de frangos de corte, mas sem melhora no comprimento do osso. Os mesmos autores
268 observaram que a suplementação de fitase em dietas, aumentou a cinza das tíbias e a retenção
269 de fósforo total nos ossos.

270 O aumento da cinza tibial é considerado um bom indicador da mineralização óssea.
271 Esse aumento pode estar relacionado ao aumento da retenção de Ca e P. Rutherford et al.
272 (2012) relataram que a suplementação de fitase de 1000 e 2000 FTU/kg na dieta aumentou a
273 concentração mineral e a densidade tibial em 35% e 24%, respectivamente. No entanto, Walk
274 et al. (2014) relataram que superdosagens de fitase em dietas de frangos de corte de até os 21
275 dias não alteraram a porcentagem de cinzas do tibia.

276 De forma semelhante a este estudo, Brenes et al., 2003, relataram que o conteúdo de
277 magnésio na tibia não foi afetado pela adição de fitase. Assim como Walk et al. (2014)
278 observou que a fitase não afetou a retenção de zinco em pintos de corte.

279 Da mesma forma ao presente trabalho, outras pesquisas também relataram efeitos
280 negativos da adição de fitase sobre a deposição de fósforo nas tíbias. Fukuyama et al. (2008),
281 avaliando a deposição de fósforo na tibia de frangos de corte aos 21 dias, verificaram que a
282 adição de 1000 FTU/kg de fitase influenciou negativamente na concentração desse mineral,
283 sendo que nesse nível a quantidade depositada no osso foi significativamente inferior à das
284 aves alimentadas com dieta sem adição de fitase. Laurentiz et al. (2009) observaram
285 diminuição na deposição de fósforo na tibia, quando as aves foram alimentadas com dietas
286 contendo fitase. Os resultados apresentados pelos autores demonstram que a adição de fitase
287 nas dietas não refletiu em melhor deposição de fósforo na tibia, provavelmente em virtude da
288 utilização desse mineral em outros processos vitais ao organismo das aves, como por
289 exemplo, o crescimento e deposição de tecido muscular.

290 Provavelmente os níveis dos minerais analisados no presente estudo, já eram capazes
291 de suprir as necessidades dos animais nas dietas sem fitase, sugerindo que melhores
292 resultados seriam encontrados com a utilização da fitase em dietas reformuladas.

293

294 **Conclusões**

295

296 A suplementação de fitase em níveis de 500 e 1000 FTU/Kg influenciou
297 negativamente a deposição de Cálcio, Fósforo, Matéria Seca e Cinzas, além das variáveis
298 força e área das tíbias de frangos de corte. Não houve diferença nas variáveis de comprimento
299 do osso e nos níveis de Magnésio e Zinco presentes nas tíbias. Também não houve efeito

300 causado pelas diferentes densidades energéticas e interação entre as densidades energéticas e
301 os níveis de fitase nas variáveis analisadas no período de 28 a 35 dias de idade.

302

303 **Referências**

304

305 AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 16th ed.
306 Method 972.15. 2000. Arlington, VA.

307

308 BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. 2010. Enzymes in farm animal nutrition. 2nd edition.
309 London, UK, 319p.

310

311 BERTECHINI, A.G. Nutrição de monogástricos. Lavras: Ed. UFLA, 2012. 373p.

312

313 BRANDÃO, P. A.; COSTA, F. G. P.; BRANDÃO, J. S.; SILVA, J. H. V. Efeito da adição de
314 fitase em rações de frangos de corte, durante as fases de crescimento e final. Ciência e
315 Agrotecnologia; 31(2):492-498. 2007.

316

317 BRENES, A., VIVEROS, A., ARIJA, I., CENTENO, C., PIZARRO, M., BRAVO, C. The
318 effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. Animal
319 Feed Science Technology; 110, 201-219. 2003.

320

321 CABAHUG, S.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.; BRYDEN, W. L. Response of broilers
322 chickens to microbial phytase as influenced by dietary phytic acid. British Poultry Science 40.
323 p. 660-666. 1999.

324

325 CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; FIGUEIRÊDO, A. V.; VITTI, D. M. S. S.; SILVA FILHO,
326 J. C. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo do farelo de arroz em frangos de corte.
327 Pesquisa Agropecuária Brasileira; 37(4):547-552. 2002.

328

329 COWIESON, A. J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. R. Super-dosing effects of phytase in
330 poultry. World's Poultry Science Journal; 67, 225–236. 2011.

331

332 FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B. et al. Efeito da
333 suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de
334 corte. Revista Brasileira de Zootecnia. v.37, n.4, p.629-635, 2008.

335

336 GOMES, P. C.; RUNHO, R. C.; D'AGOSTINI, P.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.;
337 LOPES, P. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 22
338 a 42 e 43 a 53 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA
339 DE ZOOTECNIA, Santa Maria, Anais... Santa Maria: RBZ, 2004, p. 1734-1746.

340

341 GUO, Y.; SHI, Y.; LI, F.; CHEN, J.; ZHEN, C.; HAO, Z. Effects of sodium gluconate and
342 phytase on performance and bone characteristics in broiler chickens. Animal Feed Science and
343 Technology, v.150, p.270-282, 2009.

344

345 IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). Métodos físico-químicos para análise de alimentos.
346 Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo:
347 Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

- 348
349 KLEYN, R. Enzymes in poultry nutrition. In: KLEYN, R. Chicken nutrition: a guide for
350 nutritionists and poultry professional. Leicestershire, 2013. p.251-272
351
- 352 LALPANMAWIA, H.; ELANGOVA, A. V.; SRIDHAR, M.; SHET, D. Efficacy of
353 phytase on growth performance, nutrient utilization and bone mineralization in broiler
354 chicken. *Animal Feed Science Technology*, 192: 81–89. 2014.
355
- 356 LAURENTIZ, A. C.; JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; DUARTE, K. F.; ASSUENA,
357 V.; SGAVIOLI, S. Desempenho, composição da cama, das tíbias, o fígado e das excretas de
358 frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo. *Revista*
359 *Brasileira de Zootecnia*, v.38, p. 1938-1947, 2009.
360
- 361 ODERKIRK, A. The role of calcium phosphorus and vitamin D3 in egg shell and bone
362 formation. *Poultry Science*, v.72, p.691-700. 1998.
363
- 364 PANDA, A. K.; RAO, S. V. R.; RAJU, M. V. L. N. et al. Performance of broiler chickens fed
365 low non phytate phosphorus diets supplemented with microbial phytase. *Journal Poultry*
366 *Science*, v.44, p.258-264, 2007.
367
- 368 RATH, N. C.; BALOG, J. M.; HUFF, W. E.; KULKARNI, G. B.; TIERCE, J. F. Comparative
369 differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven- and seventy-
370 two-week-old male and female broiler breeder chickens. *Poultry Science*; 78:1232-1239.
371 1999.
372
- 373 ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. DONZELE, J.L. et al. Tabelas brasileiras para aves e
374 suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: Universidade
375 Federal de Viçosa, 2011. 186p.
376
- 377 ROUSSEAU, X.; LÉTOURNEAU-MONTMINY, M. P.; MÊME, N. et al. Phosphorus
378 utilization in finishing broiler chickens: Effects of dietary calcium and microbial phytase.
379 *Poultry Science*. v.91, p.2829-2837, 2012.
380
- 381 RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; THOMAS, D. V. et al. Effect of a novel phytase on
382 growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and
383 amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. *Poultry Science*. v.91,
384 p.1118–1127, 2012.
385
- 386 SAIMA S.; KHAN, M. Z. U.; JABBAR, M. A.; QADEER, M. A. Efficacy of microbial
387 phytase at different levels on growth performance and mineral availability in broiler chicken.
388 *The Journal of animal and Plant Sciences*, v.19(2), p.58-62, 2009.
389
- 390 SECHINATO, A. S.; ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética
391 com micro minerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. *Brazilian Journal*
392 *Veterinary Research and Animal Science*; 43(2):159-166. 2006.
393
- 394 SINGH, P. K.; KHATTA, V. K. Effect of phytase supplementation on the performance of
395 broiler chickens fed wheat based diets. *Indian Journal of Animal Nutrition*, v.20, p.57-62,
396 2003.
397

398 SOHAIL, S. S.; ROLAND, D. A. Influence of supplemental phytase on performance of
399 broilers four to six weeks of age. *Poultry Science*; 78(4):550- 555. 1999.

400

401 TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; VIEITES, F. M. Efeito da adição
402 da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. *Revista Brasileira*
403 *de Zootecnia*; 30(3):802-808. 2001.

404

405 TIWARI, S. P.; GENDLEY, M. K.; PATHAK, A. K.; GUPTA, R. Influence of an enzyme
406 cocktail and phytase individually or in combination in VenCobb broiler chickens. *British*
407 *Poultry Science*, Abingdon, v. 51, n. 1, p. 92-100, 2010.

408

409 WALK, C. L.; SANTOS, T. T.; BEDFORD, M. R. Influence of superdoses of a novel
410 microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young
411 broilers. *Poultry Science*, v. 93, p. 1172-1177, 2014.

412

413 WU, Y. B.; RAVINDRAN, V.; HENDRIKS, W. H. et al. Evaluation of a microbial phytase,
414 produced by solid state fermentation, in broiler diets. II. Influence on phytate hydrolysis,
415 apparent metabolizable energy, and nutrient utilization. *Journal Applied Poultry Research*,
416 v.13, p.561-569, 2004.

417

418 YU, S.; COWIESON, A.; GILBERT, C.; PLUMSTEAD, P.; DALSGAARD, S. Interactions
419 of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers
420 with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. *Journal of Animal Science*, v. 90, p.
421 1824–1832, 2012.

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

1

1

7 Considerações Finais

A inclusão de diferentes níveis de fitase em dietas de frangos de corte com diferentes níveis de densidade energética apresentou os melhores resultados de desempenho nas dietas com inclusão de 500 FTU/kg de fitase e com nível energético de 3150 kcal/kg. Entretanto a suplementação de fitase em níveis de 500 e 1000 FTU/Kg influenciou negativamente a deposição de cálcio, fósforo, matéria seca e cinzas, além das variáveis força e área das tíbias de frangos de corte. Não houve diferença nas variáveis de comprimento do osso e nos níveis de magnésio e zinco presentes nas tíbias. Neste caso, sugere-se que possivelmente os níveis dos minerais analisados já seriam suficientes, sendo assim, capazes de suprir as necessidades dos animais nas dietas sem fitase. Dessa forma, sugere-se que melhores resultados poderiam ser encontrados com a utilização da fitase em dietas reformuladas.

Referências

ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório Anual 2018**. Disponível em:<<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2018>>. Acesso em 23 jan. 2019.

AKTER, M.; IJI, P. A.; GRAHAM, H. Increasing zinc levels in phytase-supplemented diets improves the performance and nutrient utilization of broiler chickens. **South African Journal Animal Science**, 47: 648–660. 2017.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official Methods of Analysis**. 16th ed. Method 972.15. 2000. Arlington, VA, USA.

ARAUJO, Marcelle Santana. **Composição química e energética e aminoácidos digestíveis de alguns alimentos para codornas japonesas**. 2008. 76f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2ed. São Paulo: Manole Ltda, 1991. 629p.

BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. **Bioquímica Médica**. São Paulo: Manole, 2000, 566p.

BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits. **Animal Feed Science Technology**, 86: 1–13. 2000.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd edition. London, UK, 2010, 319p.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Ed. UFLA, 2012. 373p.

BRANDÃO, P. A.; COSTA, F. G. P.; BRANDÃO, J. S.; SILVA, J. H. V. Efeito da adição de fitase em rações de frangos de corte, durante as fases de crescimento e final. **Ciência e Agrotecnologia**; 31(2):492-498. 2007.

BRENES, A.; VIVEROS, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C.; PIZARRO, M.; BRAVO, C. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. **Animal Feed Science Technology**, 110, 201-219. 2003.

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, 2005.

CABAHUG, S.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.; BRYDEN, W. L. Response of broilers chickens to microbial phytase as influenced by dietary phytic acid. **British Poultry Science**; 40. p. 660-666. 1999.

CFMV (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA). Resolução nº 1000 de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Brasília: **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2012. p.124-125.

CHUNG, T. K.; RUTHERFURD, S. M.; THOMAS, D. V.; MOUGHAN, P. J. Effect of two microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-phosphorus diets for broilers. **British Poultry Science** 54, 362–373. 2013.

CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; FIGUEIRÊDO, A. V.; VITTI, D. M. S. S.; SILVA FILHO, J. C. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo do farelo de arroz em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**; 37(4), 547-552, 2002.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R.; SELLE, P. H. et al. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, 65, p 401-18, 2009.

COWIESON, A. J.; HRUBY, M.; PIERSON, E. E. M. Evolving enzyme technology: impact on commercial poultry nutrition. **Nutrition Research Review**, 19: 90-103. 2006.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal Nutrition**, 98: 745–752. 2007.

COWIESON, A. J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. R. Super-dosing effects of phytase in poultry. **World's Poultry Science Journal** 67, 225–236. 2011.

CROZE, M. L.; SOULAGE, C. O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. **Biochimie** 95, 1811-1827. 2013.

DE LIMA, M. R.; PERAZZO COSTA, F.G.; GIVISIEZ, P.E.N. et al. Reduction of the nutritional values of diets for hens through supplementation with phytase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, p.2207-2213, 2010.

DE SOUSA, J. P. L.; ALBINO, L. F. T.; VAZ, R. G. M. V.; RODRIGUES, K. F. The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive and bone and blood biochemistry characteristics. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, 17, Campinas. 2015.

DELEZIE, E.; MAERTENS, L.; HUYGHEBAERT, G, et al. Impacts of calcium and phosphorus concentration, their ratio, and phytase supplementation level on growth performance, foot pad lesions, and hock burn of broiler chickens. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 24, p.115–126, 2015.

DELL'ISOLA, A. T. P.; BAIÃO, N. C. Cálcio e fósforo para galinhas poedeiras-Avicultura. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, n.34, p.65-92, 2001.

DONATO, D. C. Z.; ALBUQUERQUE, R.; GARCIA, P. D. S. R. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio suplementadas com fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.10, p.2161-2166, 2011.

DOS SANTOS, T. T.; SRINONGKOTE, S.; BEDFORD, M. R.; WALK, C. L. Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, 26 (2), p. 227-232. 2013.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). Central de Inteligência de Aves e Suínos. Custos. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/custos/icpfrango>>. Acesso em 23/01/2019.

ENGLMAIEROVÁ, M.; SKRIVAN, M.; SKRIVANOVA, E.; BUBANCOVA, I.; CERMAK, L.; VLCKOVA, J. Effects of a low-P diet and exogenous phytase on performance, egg quality, and bacterial colonisation and digestibility of minerals in the digestive tract of laying hens. **Czech Journal Animal Science**, 60: 542–549. 2017.

FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; NEME, R.; FERNANDES, J. B. K.; MARCATO, S. M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 37: 629-635. 2008.

GHOSH, A.; MANDAL, G. P.; ROY, A.; PATRA, A. K. Effects of supplementation of manganese with or without phytase on growth performance, carcass traits, muscle and tibia composition, and immunity in broiler chickens. **Livestock Science**, 191: 80–85. 2016.

GOMES, P. C.; RUNHO, R. C.; D'AGOSTINI, P.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LOPES, P. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 22 a 42 e 43 a 53 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Santa Maria, **Anais...** Santa Maria: RBZ, 2004, p. 1734-1746.

GOMIDE, E. M.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G. et al. Rações com níveis reduzidos de proteína bruta, cálcio e fósforo com fitase e aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.11, p.2405-2414, 2011.

GUO, Y.; SHI, Y.; LI, F.; CHEN, J.; ZHEN, C.; HAO, Z. Effects of sodium gluconate and phytase on performance and bone characteristics in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.150, p.270-282, 2009.

HOLUB, B. J. Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. **Annual Reviews of Nutrition** 6: 563-597. 1986.

HURRELL, R. F. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. **Journal of Nutrition**. v.133, p.2973–2977, 2003.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JALAL, M. A.; SCHEIDELER, S. E. Effect of supplementation of two different sources of phytase on egg production parameters in laying hens and nutrient digestibility. **Poultry Science**, 80: 1463–1471. 2001.

JONDREVILLE, C.; LESCOAT, P.; MAGNIN, M.; FEUERSTEIN, D.; GRUENBERG, B.; NYS, Y. Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soya-bean meal diets for chickens. **Animal**, 1: 804–811. 2007.

JULIAN, R. Patologias ósseas em aves. In: Conferência APINCO 2005. Campinas. **Anais...** Volume 2, Campinas: FACTA, 2005. P. 107-122.

JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; LIGEIRO, E. C. et al. Avaliação técnica e econômica da matriz nutricional da enzima fitase em rações contendo farelo de girassol para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, p.2200-2206, 2010.

KAHINDI, R. K.; PHILIP, A.; THACKER, S.; LEE, I.; KIM, I. H.; NYACHOTI, C. M. Performance and P utilization of broiler chickens fed low phytate barley and pea based diets with graded levels of inorganic P. **Annals of Animal Science**, 17: 205-215. 2017.

KARADAS, F.; PIRGOZLIEV, V.; PAPPAS, A. C.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the liver of growing broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 94:519-526. 2010.

KLEYN, R. Enzymes in poultry nutrition. In: KLEYN, R. **Chicken Nutrition: A guide for nutritionists and poultry professionals**. Leicestershire, 2013. p.251-272.

KORNEGAY, E. T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: Bedford, M. R. and G. G. Partridge (eds) **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. p. 237-271, 2007.

LALPANMAWIA, H.; ELANGO VAN, A. V.; SRIDHAR, M.; SHET, D. Efficacy of phytase on growth performance, nutrient utilization and bone mineralization in broiler chicken. **Animal Feed Science Technology**, 192: 81–89. 2014.

LAURENTIZ, A. C.; JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; DUARTE, K. F.; ASSUENA, V.; SGAVIOLI, S. Desempenho, composição da cama, das tíbias, o fígado e das excretas de frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p. 1938-1947, 2009.

LEE, S. A.; BEDFORD, M. R. Inositol - An effective growth promotor? **World's Poultry Science Journal**, 72: 743-759. 2016.

LESKE, K. L.; COON, C. N. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. **Poultry Science**, 78: 1151–1157. 1999.

LI, P.; PIAO, X.; RU, Y.; HAN, X.; XUC, L.; ZHANG, H. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, China, v. 25, n. 11, p. 1617-1626, 2012.

LIU, S. Y.; CADOGAN, D. J.; PÉRON, A. et al. Effects of Phytase supplementation on growth performance, nutrient utilisation and digestive dynamics in broilers chickens. **Animal Feed Science Technology** v.197. 164-175., 2014.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.

MAENZ, D. D. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds. In: **Enzymes in farm animal nutrition**. Bedford M.R., Partridge G.G. (eds). CAB International, Wallingford, UK, pp. 61–83. 2001.

MAENZ, D. D.; CLASSEN, H. L. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. **Poultry Science**, 77: 557–563. 1998.

MAENZ, D. D.; ENGELE-SCHAAN, C. M.; NEWKIR, K. R. W.; CLASSEN, H. L. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. **Animal Feed Science Technology**, 81: 177–192. 1999.

MAGALHÃES, A. P. C. **Qualidade de ovos comerciais de acordo com a integridade da casca, tipo de embalagem e tempo de armazenamento**. 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.

MANANGI, M. K.; COON, C. N. The effect of calcium carbonate particle size and solubility on the utilization of phosphorus from phytase for broilers. **International Journal Poultry Science**, 6: 85–90. 2007.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A. G. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 38: 7–14. 2014.

MOHAMMED, K. A.; TOSON, M. A.; HASSANIEN, H. H. M.; SOLIMAN, M. A. H.; ELNAGA, S. H. M. Effects of phytase supplementation on performance and egg quality of laying hens fed diets containing rice bran. **Egyptian Poultry Science**, 30: 649–659. 2010.

MUNIZ, E. B.; ARRUDA, A. M. V.; FASSANI, E. J.; TEIXEIRA, A. S.; PEREIRA, E. S. Avaliação de fontes de cálcio para frangos de corte. **Revista Caatinga**, Mossoró, Brasil, v.20, n.1, p.05-14, 2007.

NEWKIRK, R. W.; CLASSEN, H. L. The non-nutritional impact of phytate in canola meal fed to broiler chicks. **Animal Feed Science Technology**, 91: 115–128. 2001.

NIE, W. Y.; YANG, J.; YUAN, Z.; WANG, Y.; GUO, J. Effect of dietary nonphytate phosphorus on laying performance and small intestinal epithelial phosphate transporter expression in Dwarf pink-shell laying hens. **Journal Animal Science Biotechnology**. 4:34. 2013.

OATWAY, L.; VASANTHAN, T.; HELM, J. H. Phytic acid. **Food Review International**, 17: 419-431. 2001.

ODERKIRK, A. The role of calcium phosphorus and vitamin D3 in egg shell and bone formation. **Poultry Science**, v.72, p.691-700. 1998.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. et.al.. Broiler responses to supplementation of phytase and admixture of carbohydrases and protease in maize-soyabean meal diets with or without maize distillers' dried grain with solubles. **British Poultry Science**, 51: 434–443. 2010.

ONYANGO, E. M.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p.248-255, 2005.

PANDA, A. K.; RAO, S. V. R.; RAJU, M. V. L. N. et al. Performance of broiler chickens fed low non phytate phosphorus diets supplemented with microbial phytase. **Journal Poultry Science**, v.44, p.258-264, 2007

PASTORE, S. M.; GOMES, P. C.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T. et al. Calcium levels and calcium: available phosphorus rations in diets for white egg layers from 42 to 58 weeks of age. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.12, p.2424-2432, 2012.

PETRY, N.; EGLI, I.; ZEDER, C.; WALCZYK, T.; HURRELL, R. Polyphenols and phytic acid contribute to the low iron bioavailability from common beans in young women. **Journal of Nutrition**. v.140, p.1977-1982, 2010.

PIRGOZLIEV, V.; BEDFORD, M. R.; ACAMOVIC, T.; MARES, P.; ALLYMEHR, M. The effects of supplementary bacterial phytase on dietary, energy and total tract amino acid digestibility when fed to young chickens. **British Poultry Science**, 52:245-254. 2011.

PIZAURO Jr, J.M. Estrutura e Função do Tecido Ósseo. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.

PLUMSTEAD, P. W.; LEYTEM, A. B.; MAGUIRE, R. O.; SPEARS, J. W.; KWANYUEN, P.; BRAKE, J. Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. **Poultry Science**, 87: 449-458. 2008.

RATH, N. C.; BALOG, J. M.; HUFF, W. E.; KULKARNI, G. B.; TIERCE, J. F. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven- and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science** 78:1232– 1239. 1999.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 186p

ROUSSEAU, X.; LÉTOURNEAU-MONTMINY, M. P.; MÊME, N. et al. Phosphorus utilization in finishing broiler chickens: Effects of dietary calcium and microbial phytase. **Poultry Science**. v.91, p.2829-2837, 2012.

RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOREL, P. C. H.; MOUGHAN, P. J. Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate P, total P, and amino acids in a low-P diet for broilers. **Poultry Science**, 83: 61–68. 2004.

RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; THOMAS, D. V. et al. Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. **Poultry Science**. v.91, p.1118–1127, 2012.

SAIMA, S.; KHAN, M. Z. U.; JABBAR, M. A.; QADEER, M. A. Efficacy of microbial phytase at different levels on growth performance and mineral availability in broiler chicken. **The Journal of Animal and Plant Sciences**, v.19(2), p.58-62, 2009.

SANDBERG, A. S. *In vitro* and *in vivo* degradation of phytate. In: **Food Phytates**, Reddy N.K., Sathe S.K. CRC Press, USA, pp. 139–155. 2002.

SANDBERG, A. S.; LARSEN, T.; SANDSTROM, B. High dietary Ca levels decrease colonic phytate degradation in pig. **Journal Nutrition**, 123: 559–566. 1993.

SAS INSTITUTE INC. **System for Microsoft Windows**, Release 9.4, Cary, NC, USA, 2002-2012. (CD-ROM).

SCHEIDELER, S. E.; SELL, J. L. Utilization of phytate P in laying hens as influenced by dietary P and Ca. **Nutrition Reports International**, 35: 1073–1081. 1987.

SECHINATO, A. S.; ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com micro minerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**; 43(2):159-166. 2006.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; COWIESON, N. P.; RAVINDRAN, V. Protein-phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. **Nutrition Research** 25, 1-17. 2012.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science Technology**, 135, 1–41. 2007.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; PARTRIDGE, G. G. Beneficial effects of xylanase and/or Phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets. **Animal Feed Science Technology**, 153: 303–313. 2009.

SHIRLEY, R. B.; EDWARDS, J. A. Graded levels of phytase past industry standards improves broilers performance. **Poultry Science**, v.82, p.671-680, 2003.

SINGH, P. K.; KHATTA, V. K. Effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed wheat based diets. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v.20, p.57-62, 2003.

SOHAIL, S.S.; ROLAND, D. A. Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six weeks of age. **Poultry Science**. 78:550–555. 1999.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; VIEITES, F. M. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**; 30(3):802-808. 2001.

TIWARI, S. P.; GENDLEY, M. K.; PATHAK, A. K.; GUPTA, R. Influence of an enzyme cocktail and phytase individually or in combination in VenCobb broiler chickens. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 51, n. 1, p. 92-100, 2010.

URBANO, G.; LOPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P.; VIDAL-VALVERD, C.; TENORIO, E.; PORRES, J. The role of phytic acid in legumes: antinutrient or beneficial function. **Journal of Physiology and Biochemistry**, 56: 283–294. 2000.

VAN DER KLIS, J. D.; VERSTEEGH, H. A. J.; SIMONS, P. C. M.; KIES, A. K. The efficacy of phytase in corn–soybean meal-based diets for laying hens. **Poultry Science**, 76: 1535–1542. 1997.

VARGAS Jr., J. G.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S. et al. Níveis nutricionais de cálcio e de fósforo disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 13 a 20 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1263-1273, 2004.

VIEIRA, B. S.; BARBOSA, S. A. P. V.; TAVARES, J. M. N. et al. Phytase and protease supplementation for laying hens in peak egg production. **Semina: Ciências Agrárias**, 37: 4285–4294. 2016.

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I. et al. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzymes activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**; 81:1172-1183. 2002.

WALK, C. L., BEDFORD M. R., SANTOS T. T., PAIVA D., BRADLEY J. R., WLADECKI H., HONAKER C., MCELROY, A. P. Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**. 92:719–725. 2013.

WALK, C. L.; SANTOS, T. T.; BEDFORD, M. R. Influence of superdoses of a novel microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. **Poultry Science**, v. 93, p. 1172-1177, 2014.

WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; SOLOMON, S.; FARQUHARSON, C. Dietary effects on bone quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens. **Research in Veterinary Science**, v.69, p.81–87, 2000.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry – Current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**, 93: 9–21. 2013.

WU, Y. B.; RAVINDRAN, V.; HENDRIKS, W. H. et al. Evaluation of a microbial phytase, produced by solid state fermentation, in broiler diets. II. Influence on phytate hydrolysis, apparent metabolizable energy, and nutrient utilization. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, p.561-569, 2004.

WYSS, M.; BRUGGER, R.; KRONENBERGER, A.; REMY, R.; FIMBEL, R.; OESTRHELT, G.; LEHMANN, M.; VANN, A. P. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. **Applied and Environmental Microbiology**, 65: 367–373. 1999.

XIE, D.; CHEN, Y.; WANG, Z.; DONG, Y. Effects of monochromatic light on structure of small intestinal mucosa in broilers. **Scientia Agricultura Sinica**, Zhongguancun, v.42, n.3, p.1084-1090, 2009

YU, S.; COWIESON, A.; GILBERT, C.; PLUMSTEAD, P.; DALSGAARD, S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1824–1832, 2012.

ZHANG, Z. B.; MARQUARDT, R. R.; GUENTER, W.; CHENG, J.; HAN, Z. Predication of the effect of enzymes on chick performance when added to cereal-based diets: Use of a modified loglinear model. **Poultry Science**, 79: 1757–1766. 2000.

ZYLA, K.; MIKA, M.; STODOLAK, B.; WIKIERA, A.; KORELESKI, J.; SWIATKEWICZ S. Towards complete dephosphorylation and total conversion of phytases in poultry feeds. **Poultry Science**, 83: 1175–1186. 2004.

ZYLA, K.; MIKA, M.; SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J.; PIIRONEN, J. Effects of phytase on laying performance, egg shell quality and on P and Ca balance in laying hens fed P-deficient maize-soybean meal diets. **Czech Journal Animal Science**, 56: 406–413. 2011.