

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ZOOTECNIA

ROVALDO SCARIOT

**FITASE EM DIETAS DEFICIENTES EM FÓSFORO, CÁLCIO E SÓDIO PARA
FRANGOS DE CORTE**

Marechal Cândido Rondon

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ZOOTECNIA

ROVALDO SCARIOT

**FITASE EM DIETAS DEFICIENTES EM FÓSFORO, CÁLCIO E SÓDIO PARA
FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia, área de concentração Produção e Nutrição Animal, linha de pesquisa em Produção e Nutrição de Não-Ruminantes, Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Orientador: Prof^º. Dr^º. Jovanir Inês Müller Fernandes.

Marechal Cândido Rondon

2019

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Scariot, Rovaldo

FITASE EM DIETAS DEFICIENTES EM FÓSFORO, CÁLCIO E SÓDIO PARA FRANGOS DE CORTE / Rovaldo Scariot; orientador(a), Jovanir Inês Müller Fernandes, 2019.

77 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2019.

1. Desempenho Zootécnico. 2. Fitase. 3. Fitato. 4. Qualidade óssea. I. Inês Müller Fernandes, Jovanir . II. Título.


ROVALDO SCARIOT

Fitase em dietas deficientes em fósforo, cálcio e sódio para frangos de corte


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Mestre em Zootecnia”, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Não-Ruminantes”, APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:



Orientadora – Prof.^a Dr.^a Jovanir Inês Muller Fernandes
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina



Membro – Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Membro – Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Marechal Cândido Rondon, 28 de março de 2019.

Dedico esse trabalho à minha família,
alicerce da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar saúde, sabedoria e discernimento neste período de intenso estudo e trabalho.

À minha professora e orientadora, Dr^a. Jovanir I. M. Fernandes, pela oportunidade e apoio.

À minha família, pois tenho um lar abençoado, que me apoiou e incentivou o tempo todo nesta tripla jornada de estudante, pai e profissional ao mesmo tempo.

Aos professores, funcionários e estudantes da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina e Unioeste – PPZ de Marechal Candido Rondon-PR que contribuíram para a realização deste trabalho.

À empresa Quintia S.A. pela oportunidade, apoio e financiamento do experimento.

RESUMO

Foi conduzido um experimento para avaliar o efeito da *Superdosing* de fitase sobre o desempenho zootécnico, a digestibilidade de nutrientes, rendimento da carcaça e a qualidade óssea de frangos de corte submetidos à dieta com redução dos níveis nutricionais de fósforo, cálcio e sódio, e suplementada com a enzima fitase (dosagem recomendada pelo fabricante e *superdosing*). No desempenho zootécnico foram observados os padrões de produtividade em consumo de ração, peso médio, ganho de peso, conversão alimentar, qualidade óssea, rendimento da carcaça e cortes especiais e digestibilidade dos nutrientes ofertados nas dietas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos com nove repetições e 43 aves alojadas por box, divididos em: controle positivo (CP), com níveis nutricionais adequados, sem adição de enzima; controle negativo (CN), com redução dos níveis nutricionais de fósforo (0,15%), cálcio (0,16%) e sódio (0,03%); CN com adição de enzima fitase 500 FTU kg⁻¹ e CN com adição de enzima fitase 1000 FTU kg⁻¹. A suplementação de fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na resultou em melhor desempenho produtivo e rendimento de carcaça e de cortes comerciais de frangos de corte em comparação com aqueles que receberam dietas deficientes sem suplementação com fitase. A suplementação de 500 ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase à ração resultou em valores semelhantes ($p > 0,05$) de energia metabolizável aparente (AME) nas dietas com níveis reduzidos de P, Na e Ca, em comparação a dieta controle positivo. As aves suplementadas com fitase apresentaram redução ($p < 0,05$) na excreção de fitato, P e Ca em relação à dieta controle. As aves suplementadas com 500 ou 1000 FTU kg⁻¹ de ração e as aves do controle positivo apresentaram desempenho produtivo semelhante. A suplementação com fitase (500 FTU kg⁻¹ e 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na resultou em melhores índices ($p < 0,05$) de densitometria óssea aos 21 e 47 dias, em comparação às dietas deficientes não suplementadas. A menor ($p < 0,05$) relação osso:cartilagem foi observada nas tíbias dos frangos de corte que receberam a dieta deficiente aos 21 dias de idade. As aves que consumiram dietas suplementadas com fitase apresentaram maior resistência ($p < 0,05$) óssea à quebra, em relação ao controle negativo em todo o período do experimento, porém iguais aos das aves que receberam dietas com níveis nutricionais adequados. As aves suplementadas com *superdosing* de fitase apresentaram redução ($p < 0,05$) da elasticidade óssea de fêmur aos 21 e 47 dias, em comparação as aves do controle negativo. O comprimento de fêmur das aves, aos 7 e 21 dias, que consumiram dietas suplementadas com *superdosing* de fitase, aumentou

($p < 0,05$) em comparação ao controle negativo. A inclusão de fitase (500 FTU kg^{-1} ou 1000 FTU kg^{-1}) nas dietas deficientes em P, Ca e Na foi eficaz no reestabelecimento dos níveis nutricionais das dietas, eficiente sob o ponto de vista econômico e ambiental.

Palavras-chave: desempenho zootécnico, digestibilidade, fitase, fitato, qualidade óssea.

ABSTRACT

PHYTASE IN DEFICIENTS DIETS ON PHOSPHORUS, CALCIUM AND SODIUM FOR BROILERS.

An experiment was conducted to evaluate the effect of phytase *superdosing* on performance, nutrient digestibility, carcass yield and bone quality of broiler chickens submitted to diets with reduced nutritional levels of phosphorus, calcium and sodium and supplemented with phytase enzyme (manufacturer's recommended dosage and *superdosing*). In the zootechnical performance were observed the productivity standards in feed consumption, average weight, weight gain, feed conversion, bone quality, carcass yield and special cuts and digestibility of the nutrients offered in the diets. The experimental design was completely randomized with four treatments with nine replicates and 43 birds per box, divided into: positive control (CP), with adequate nutritional levels, without addition of enzyme; negative control (CN), with reduction of phosphorus (0.15%), calcium (0.16%) and sodium (0.03%); CN with addition of phytase enzyme 500 FTU kg⁻¹ and CN with addition of phytase enzyme 1000 FTU kg⁻¹. Phytase supplementation (500 and 1000 FTU kg⁻¹) in P, Ca and Na deficient diets resulted in improved performance and carcass yield and commercial cuts of broiler chickens compared to those receiving deficient diets without phytase supplementation. Supplementation of 500 or 1000 FTU kg⁻¹ of phytase to feed resulted in similar values ($p>0.05$) of apparent metabolizable energy (AME) in diets with reduced levels of P, Na, and Ca compared to a positive control diet. The birds supplemented with phytase had reduced phytate, P and Ca excretion in relation to the control diet. Birds supplemented with 500 or 1000 FTU kg⁻¹ of feed and birds of the positive control showed the same productive performance. Phytase supplementation (FTU and 1000 FTU kg⁻¹) in P, Ca and Na deficient diets resulted in better bone densitometry indices at 21 and 47 days compared to deficient diets. The lowest ($p<0.05$) bone:cartilage relation was observed in the tibia of the broilers that received the deficient diet at 21 days of age. The birds that consumed diets supplemented with phytase presented higher bone resistance to the break, in relation to the negative control in the whole period of the experiment, but the results were the same those birds fed diets with adequate levels. Birds supplemented with phytase *superdosing* showed a reduction in femoral bone elasticity at 21 and 47 days, compared to birds of negative control. The inclusion of phytase (500 or 1000 FTU kg⁻¹) in P, Ca and Na deficient diets was effective in re-establishing nutrient levels in the diets, economically and environmentally efficient.

Key words: zootechnical performance, digestibility, phytase, phytate, bone quality.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estrutura do fitato e a formação de complexos com nutrientes da dieta animal (a), e forma de atuação da enzima fitase sobre o ácido fítico (b). 17
- Figura 2 – Procedimento de análise da imagem da tibia 57

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 4

Tabela 1 – Formulação das rações iniciais, crescimento e final.....	37
Tabela 2 – Desempenho produtivo de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase.....	40
Tabela 3 – Peso (gramas/ave) da carcaça e dos cortes comerciais de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase.....	42
Tabela 4 – Rendimento (%) da carcaça e dos cortes comerciais de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase	42
Tabela 5 – Energia metabolizável aparente (AME) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (AMEn), coeficientes de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDEE) de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase	43
Tabela 6 – Valores de fitato, P, Ca e Na analisados nas excretas de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase	44
Tabela 7 – Coeficiente de retenção do fitato (CRF), coeficiente de retenção de P (CRP), coeficiente de retenção de cálcio (CRCa) e coeficiente de retenção de Sódio (CRNa) de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase.....	45

CAPÍTULO 5

Tabela 1 – Formulação das rações iniciais, crescimento e final.....	55
Tabela 2 – Densitometria óssea, relação osso:cartilagem, resistência óssea à quebra e elasticidade óssea de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase.....	59
Tabela 3 – Medidas ósseas de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase.....	61

LISTA DE ABREVIATURA

AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
CDEE	Coefficientes de Digestibilidade do Extrato Etéreo
CDMS	Coefficientes de Digestibilidade da Matéria Seca
CDNa	Coefficiente de Retenção de Sódio
CDPB	Coefficientes de Digestibilidade da Proteína Bruta
CRap	Coefficientes de Retenção aparente
CRCa	Coefficiente de Retenção de Cálcio
CRF	Coefficiente de Retenção do Fitato
CRP	Coefficiente de Retenção de Fósforo
EM	Energia Metabolizável
EMA	Energia Metabolizável Aparente
EMAn	Energia Metabolizável Aparente corrigida
FS	Farelo de soja
FTU kg ⁻¹	Unidade de atividade de fitase
IP	Fosfato de inositol
mM	Milimolar
NC-IUBMB	Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular
NPP	Fósforo não fítico
ONU	Organização das Nações Unidas
PB	Proteína Bruta
Pi	Fósforo inorgânico
PNA	Polissacarídeos Não Amídicos
P _{total}	Fósforo total
TGI	Trato Gastrointestinal
UF	Unidade de fitase
μM	micromol

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURA	14
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Fósforo e ácido fítico na nutrição de frangos de corte	15
2.2 Suplementação de fitase em dietas vegetais	17
2.2.1 Característica geral e determinação da atividade enzimática da fitase	18
2.2.2 Fontes de fitase.....	19
2.2.3 Mecanismos de ação das fitase e a relação com as condições fisiológicas do trato digestivo dos frangos de corte.....	20
2.2.4 Influência da fitase na digestibilidade de proteína, aminoácidos e minerais.....	20
2.3.5 Influência da fitase na digestibilidade e aproveitamento de energia	21
2.3.6 Influência da fitase no desempenho características ósseas de frangos de corte.....	22
2.4 Uso do conceito de <i>superdosing</i> de fitase na dieta de frango de corte.....	23
2.5 Referências	24
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral.....	32
3.2 Objetivos Específicos.....	32
4 FITASE SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO, DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES E RENDIMENTO DE CARÇA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS DEFICIENTES EM FÓSFORO, CÁLCIO E SÓDIO	33
Resumo	33
Abstract	34
4.1 Introdução	34
4.2 Material e Métodos	36
4.3 Resultados e Discussão	39
4.4 Conclusão	46

4.5 Referências	46
5 FITASE SOBRE O DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO ÓSSEO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS NUTRICIONALMENTE ADEQUADAS E DEFICIENTES EM CÁLCIO, FÓSFORO E SÓDIO.....	51
Resumo	51
Abstract	52
5.1 Introdução	52
5.2 Material e Métodos	54
5.3 Resultados e Discussão	57
5.4 Conclusão	62
5.5 Referências	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
Referências	68

1 INTRODUÇÃO

À medida que cresce o quantitativo da população mundial e que muitas regiões do mundo passam a desfrutar de economias melhoradas, os produtos de origem animal experimentam, na mesma proporção, aumento na demanda (SOUSA et al., 2015). Dentre esses, citam-se produtos oriundos da avicultura industrial, a qual revela acentuada evolução a partir do século XX, particularmente devida ao melhoramento genético e aprimoramento dos sistemas de criação (BARBOSA et al., 2012).

No entanto, o aprimoramento dos sistemas de criação avícola demanda por ajustes nos programas nutricionais e na consequente necessidade de melhoria das taxas de conversão alimentar de frangos de corte, pois há limites fisiológicos do aparelho digestório de não ruminantes que dificultam a digestibilidade de grande parte dos nutrientes de origem vegetal (COWAN, 1993; ADEOLA; COWIESON, 2011).

Os ingredientes vegetais da dieta básica avícola contêm alguns fatores antinutricionais que, para não ruminantes, podem diminuir a digestibilidade dos nutrientes da dieta e, em consequência, afetar o desempenho produtivo das aves (VATS; BANERJEE, 2004; NIÑO-GÓMEZ et al., 2017). Nesse contexto, as dietas balanceadas com adição de enzimas surgem como alternativas promissoras. As enzimas são proteínas capazes de acelerar as reações bioquímicas do sistema digestivo de frangos de corte (RAVINDRAN, 2013).

As pesquisas têm revelado que, entre todos os aditivos produzidos industrialmente e utilizados nas rações de frangos de corte, as enzimas são as que compõem a categoria que apresenta maior crescimento, pois mostram grande potencial para contribuir com a melhoria da taxa de conversão alimentar de frangos de corte (SINGH et al., 2003; VATS; BANERJEE, 2004; ADEOLA; COWIESON, 2011). Melhores taxas de conversão alimentar e menores quantidades de excreção de nutrientes resultam em maior produtividade, maior lucratividade, menor quantidade de ingredientes vegetais para produzir rações avícolas, e, por conseguinte, em menores taxas de emissões gasosas para o meio ambiente (YI, 1996a). Dessa forma, pode-se afirmar que o uso de enzimas na ração avícola auxilia no alcance de considerável parte dos dezessete (17) objetivos globais propostos pela Organização das Nações Unidas para o Desenvolvimento Sustentável até ano de 2030 (ONU, 2003).

Entre as enzimas adicionadas à dieta de frango de corte, a fitase tem destaque no aproveitamento de nutrientes minerais, particularmente do fósforo (P), revelando-se como alternativa para melhorar a digestibilidade dos componentes nutricionais e antinutricionais

presentes na dieta (SINGH et al., 2003; SOUSA et al., 2015; TIZZIANI et al., 2016). Além disso, como a dieta avícola se baseia em alimentos de origem vegetal, nos quais a concentração de P está complexada à molécula de ácido fítico (DERSJANT-LI et al., 2015), expressivo fator antinutricional para não ruminantes, que pode ser minimizado com a inclusão de enzima fitase (PEREIRA et al., 2012; NIÑO-GÓMEZ et al., 2017), reduz a instabilidade do valor nutricional entre lotes de ingredientes (RAVINDRAN, 2013), melhora a previsão nutricional na formulação de dietas, o que pode viabilizar economicamente a suplementação dietética (COWIESON; ADEOLA, 2006; SELLE; RAVINDRAN, 2007; LELIS et al., 2010).

O ácido fítico possui alta capacidade de complexar nutrientes, como proteínas solúveis em pH baixo, aminoácidos, minerais e amido. Este processo torna a molécula de ácido fítico resistente ao processo digestivo e também diminui a digestibilidade dos nutrientes que estão complexados (YU et al., 2012). A fitase catalisa a reação de desfosforilação do ácido fítico em fosfato inorgânico e ésteres menores (LEI; PORRES, 2003; NAVES et al., 2016) que possuem baixa capacidade para quelar e indisponibilizar nutrientes. Dessa forma, além de melhorar a digestibilidade do fósforo, a adição de fitase favorece a disponibilidade dos nutrientes que estariam complexados à molécula de ácido fítico, melhorando o desempenho dos animais. Assim, a remoção do fitato da dieta pode ser uma via potencial para melhorar a taxa de conversão alimentar de aves e suínos (DERSJANT-LI et al., 2015).

O conceito de utilização de fitase nas rações de frango de corte esteve por muito tempo relacionado apenas à melhor disponibilidade de P para os animais (RAVINDRAN, 2013). No entanto, a *superdosing* de fitase é um conceito recente na nutrição e baseia-se na utilização de doses elevadas da enzima com efeito sobre o crescimento e desenvolvimento da ave, seja pela liberação adicional de P, destruição rápida e completa do ácido fítico (COWIESON et al., 2016), ou ainda pela geração do mio-inositol que desempenha papel importante na regulação da morfogênese e histogênese das células, na manutenção da estrutura das membranas celulares, síntese de lipídeos e no crescimento celular (JÓZEFIAK et al., 2010). Os mecanismos envolvidos exigem maior compreensão a fim de maximizar a magnitude e a consistência da resposta dos animais (COWIESON; WILCOCK; BEDFORD, 2011; ZYLA et al., 2013; COWIESON et al., 2013), pois há fatores que desempenham papel significativo na resposta positiva observada com o uso de doses elevadas de fitase como, por exemplo, idade, densidade de aves e ambiência no criatório, equilíbrio dos nutrientes da dieta e a forma física da ração (PIRGOZLIEV et al., 2008; KARADAS et al., 2010; MENEGHETTI et al., 2011).

Com base nessas considerações, o presente estudo teve por objetivo geral foi avaliar o desempenho zootécnico, a digestibilidade de nutrientes, a qualidade óssea e o rendimento da carcaça de frangos de corte submetidos à dieta nutricional com redução dos níveis nutricionais de fósforo, cálcio e sódio, e suplementada com a enzima fitase (dosagem recomendada pelo fabricante e *superdosing*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fósforo e ácido fítico na nutrição de frangos de corte

No Brasil, as rações empregadas na avicultura de corte têm a matriz nutricional elaborada à base de milho e farelo de soja, mas há outros ingredientes de origem vegetal que podem ser utilizados como, por exemplo, trigo, arroz, sorgo, milheto, aveia e cevada, produtos cultivados no país.

Nas formulações de rações para a avicultura de corte e postura, a maior preocupação é com o fornecimento de energia e aminoácidos em quantidade adequada para as aves, o que requer conhecimento do valor energético e da digestibilidade dos alimentos da dieta basal.

O milho é o ingrediente predominante nas formulações de rações avícolas, fornecendo cerca de 65% de energia e 20% de proteína necessárias para o desenvolvimento das aves (ADEOLA; COWIESON, 2011). No entanto, o valor nutricional desse ingrediente pode ser variável devido ao conteúdo de amido (seu principal carboidrato), de óleos e proteínas (VATS; BANERJEE, 2004) e presença de fatores antinutricionais como, por exemplo, o fósforo fítico que representa 75% do fósforo total do milho (ROSTAGNO et al., 2017).

A exploração da soja como fonte de proteína vegetal é mundialmente conhecida, contribuindo com mais de 70% da proteína em dietas avícolas, mesmo contendo quantidades elevadas de substâncias pécticas na estrutura de sua parede celular (TORRES et al., 2003). Na nutrição de frangos de corte, o uso dessa proteína ocorre na forma de farelo (FS), resultado do processo de moagem dos grãos para extração do óleo de soja empregado na alimentação humana. No Brasil, a indústria produz três tipos de FS com base no teor de proteína bruta (PB), que varia entre 44% a 48%, segundo adição ou não da casca do grão no processo de moagem (LEITE et al., 2012).

O farelo de soja contém fatores antinutricionais para não ruminantes, dentre eles, o fitato que representa cerca de 64% do fósforo total (ROSTAGNO et al., 2017).

O fósforo (P) é um mineral fundamental para o crescimento dos frangos de corte, sendo ofertado na ração. Além de desempenhar importante papel estrutural, o P está envolvido em diversos processos metabólicos, presente na formação de tecidos muscular e ósseo, ácidos nucléicos, controle do metabolismo celular, manutenção osmótica e no balanço ácido-básico, necessário para a formação de fosfolipídeos, na transferência de energia como componente da molécula de trifostato de adenosina e ativador de muitos processos enzimáticos (APPLEGATE; ANGEL; CLASSEN, 2003; RAVINDRAN, 2013).

Dentre as sementes dos vegetais leguminosos e oleaginosos que podem ser utilizadas na dieta de frangos de corte, a principal forma de armazenamento do P é o ácido fítico (hexafosfato de inositol [$C_6H_{18}O_{24}P_6$] ou IP6) que também se liga a outros minerais presentes no sistema digestório das aves e pode conjugar com proteínas e carboidratos (RAVINDRAN, 2013; DERSJANT-LI et al., 2015).

Nos vegetais, os fitatos são responsáveis por várias funções fisiológicas importantes, desde o armazenamento de P e cátions, que fornecem matéria-prima para a formação das paredes celulares, até o período após germinação da semente, quando, no armazenamento do grão, o ácido fítico age como protetor da semente contra o dano oxidativo (DERSJANT-LI et al., 2015).

No processo de fermentação e digestão de sementes no trato gastrointestinal (TGI) de aves, pequena porção do ácido fítico é fosforilada e dá origem a estruturas complexas com propriedades antinutricionais, como inositol monofosfato (IP1), difosfato (IP2), trifosfato (IP3), tetrafosfato (IP4) e pentafosfato (IP5) (KEROVUO; ROUVINEN; HATZACK, 2000; GREINER; CARLSSON; ALMINGER, 2000; RAVINDRAN, 2013). Porém, apenas o IP5 tem efeito negativo na biodisponibilidade de minerais, devido à formação de complexos de ligação zinco e ferro, sendo que tal característica não é observada no IP4 e IP3. Além disso, os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis. O grau de ação inibitória dos fosfatos de inositol na absorção mineral depende do grau de fosforilação (BENEVIDES et al., 2011).

Desse modo, entende-se que a quantificação de compostos fosfatados é de importância nutricional uma vez que interferem na digestão da molécula do ácido fítico em animais não ruminantes. Porém, independentemente da influência exercida pelo composto de fosfato no TGI de animais não ruminantes, observa-se que não há quebra total das moléculas de todo o fitato presente nos vegetais componentes de formulações das rações, e, igualmente, não ocorre hidrólise completa dessas moléculas (BEDFORD; PARTRIDGE, 2001).

Os complexos formados pelo ácido fítico-mineral-proteína (Figura 1), que podem ocorrer na porção inicial do TGI, são de difícil digestão, o que faz com que a ave não aproveite adequadamente desse nutriente (RAVINDRAN, 2013).

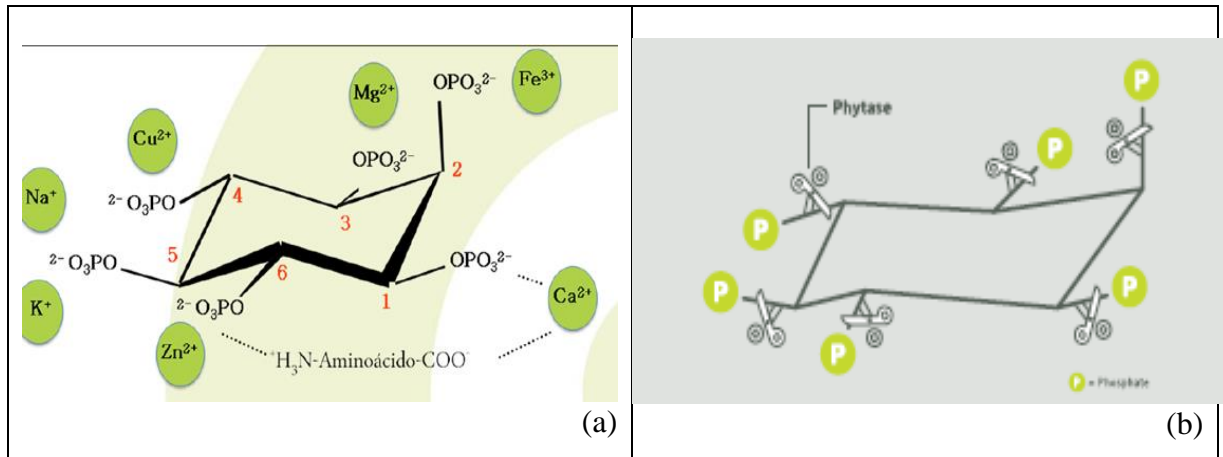


Figura 1 – Estrutura do fitato e a formação de complexos com nutrientes da dieta animal (a), e forma de atuação da enzima fitase sobre o ácido fítico (b).

FONTE: Nielsen, Pontoppidan e Sorbara (2017).

O fitato tem grande potencial de liberação de minerais, energia e aminoácidos (LEESON; SUMMERS, 2005). Sua molécula poder inibir a atividade de pepsina, tripsina e α -amilase (SEBASTIAN et al., 1996). Devido à presença do fósforo disponível em quantidade reduzida na dieta dos frangos de corte se torna necessária a suplementação na forma inorgânica (Pi) (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

O fósforo indisponível provoca aumento da excreção de P no ambiente do aviário e, por extensão, no ambiente do entorno, o que estimula o crescimento de algas e microalgas em águas naturais, conhecido fenômeno da eutrofização (NIÑO-GÓMEZ et al., 2017). A ocorrência da eutrofização das águas reduz as possibilidades de exploração dos recursos hídricos na piscicultura, o que impacta negativamente a atividade (BEIKI; HASHEMI; YAGHOOFAR, 2013). As consequências nutricionais e ambientais adversas devido à presença de fitato na dieta de animais não ruminantes podem ser minimizadas pela inclusão das enzimas fitases à dieta, as quais são consideradas como aditivos nutricionais ecologicamente corretos (DAHIYA; SINGH, 2014).

2.2 Suplementação de fitase em dietas vegetais

A fitase é um produto obtido por processos fermentativos de leveduras, bactérias e fungos, capaz de promover a degradação enzimática do ácido fítico [mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexaquisfosfato] (ALMEIDA et al., 2003; DERSJANT-LI et al., 2015). Foi uma das primeiras enzimas descrita na literatura com a capacidade de liberar o fosfato inorgânico a partir do fósforo orgânico, ou seja, capaz de hidrolisar o ácido fosfórico (H_3PO_4) do ácido inositol ($C_6H_{12}O_6$), que é um poliálcool cíclico contendo um anel de seis átomos de carbono e

seis grupos OH (ciclohexanopoliol), sendo um importante constituinte celular, estando envolvido em diferentes processos bioquímicos (MONTEIRO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2003). Ao degradar o fitato, as fitases liberam fosfato que colabora para a suplementação de fósforo inorgânico (DERSJANT-LI et al., 2015).

As fitases endógenas que degradam o fitato no trato digestório de aves podem se originar de três possíveis fontes: fitase intestinal, sintetizada nas microvilosidades, fitase originada de bactéria residente ou endógena presente em ingredientes usados nas formulações dietéticas. Entretanto, há várias discussões e controvérsias na literatura que indicam como limitada a possibilidade da presença de atividade da fitase na secreção intestinal e em bactérias intestinais de frangos de corte, devido ao alto nível de fitato nas dietas, o que leva a crer que é desprezível a contribuição das fitases endógenas (TORRES et al., 2003).

2.2.1 Característica geral e determinação da atividade enzimática da fitase

As fitases (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) são hidrolases capazes de catalisar a hidrólise gradual de mio-inositol hexafosfato (ácido fítico; IP6). São classificadas no Enzyme Commission (EC) com o identificador 3.1.3 (esterase/fosfatase). As fitases relevantes para a alimentação animal são divididas em duas subclasses (3- ou 6-fitases), dependentes de qual fosfato inicia a catálise no núcleo mio-inositol (ADEOLA; COWIESON, 2011). A 3-fitase quebra o fitato na 3ª posição do carbono e a 6-fitase na 6ª posição no anel carbônico do ácido fítico. A 3-fitase tem origem fúngica e a 6-fitase tem origem bacteriana (KEROVUO; ROUVINEN; HATZACK, 2000; ROSTAMI; GIRI, 2013; GUPTA et al., 2016).

Não há denominação comum para as unidades de fitases nos produtos comerciais, podendo ser denominadas FYT, PU, U e FTU. Adicionalmente, uma unidade de fitase é definida como a quantidade de enzima que libera 1 micromol (μmol) de fósforo inorgânico por minuto, a partir de 5,1 μmol de fitato de sódio em pH 5,5 e temperatura de 37 °C (ENGELEN et al., 1994). A quebra do fitato resulta em desfosforilação e, portanto, libera fosfato inorgânico e ésteres de fosfato de inositol inferiores (hexakisinositolfosfato de mioinositol para mio-inositol) (BATOOL; SARDAR, 2017).

A estrutura molecular das enzimas fitases é frágil, podendo sofrer desnaturação pela ação do calor, ácidos, vitaminas, minerais, metais pesados e por outros agentes oxidantes (ROSTAMI; GIRI, 2013), esta possível fragilidade gera questionamento e motiva novas pesquisas que investigam se essas enzimas têm potencial para manter níveis suficientes de

atividade e alcançar respostas significativas no desempenho de frangos de corte submetidos às dietas suplementadas com fitases.

As características físico-químicas e propriedades catalíticas das fitases originárias de várias fontes apontam que elas se constituem como uma espécie de enzima hidrolisadora de ésteres, com peso molecular estimado entre 35 kDa a 700 kDa, a depender da fonte de origem, sendo-se que 1 kDa corresponde a $1,660\ 538\ 921 \times 10^{-21}$ grama (GUPTA et al., 2016).

A produção e a aceitação das enzimas exógenas no mercado avícola vêm estimulando o desenvolvimento da bioindústria e da engenharia genética, sustentado pela evolução biotecnológica (DAHIYA; SINGH, 2014; MALAJOVICH, 2016).

Notadamente, a indústria biotecnológica faz prévia seleção de cepas produtoras de enzimas ou incorpora genes de leveduras, fungos ou bactérias, responsáveis pela produção de fitases resistentes às condições de temperaturas mais elevadas no processamento industrial e à acidez do TGI das aves (SINGH; JOSHI; GUPTA, 2013; BATOOL; SARDAR, 2017).

2.2.2 Fontes de fitase

Amplamente distribuídas na natureza, as fitases podem ser encontradas em animais, vegetais e diversos microrganismos. As primeiras identificações de atividade das fitases naturais foram observadas em pesquisas com farelo de arroz e plasma sanguíneo de bezerros, e, posteriormente, em pássaros, répteis, peixes, trigo, soja, bactérias, leveduras, fungos e protozoários (RAPOPORT; LEVA; GUEST, 1941).

Com a evolução da biotecnologia, ampliou-se a produção de fitases a partir de vários microrganismos geneticamente modificados ou não, resultantes da expressão do gene de *Aspergillus ficuum* e outros fungos como *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus tubingensis* (MONTEIRO et al., 2012; AHMAD et al., 2000), de levedura como a *Saccharomyces cerevisiae* e *Schwanniomyces castelli*, ou de bactérias como, por exemplo, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*; *Burkholderia* sp., *Citrobacter braakii* e *Escherichia coli* (KEROVUO; ROUVINEN; HATZACK, 2000; SINGH et al., 2003; RAVINDRAN et al., 2006; SINGH; JOSHI; GUPTA, 2013; DAHIYA; SINGH, 2014).

Portanto, as fitases produzidas industrialmente por processos biotecnológicos são originadas a partir de microrganismos que têm se destacado na indústria biotecnológica, particularmente bactérias, fungos e leveduras, por revelar maior estabilidade térmica e maior estabilidade em faixas mais amplas de pH (MONTEIRO et al., 2012).

2.2.3 Mecanismos de ação das fitase e a relação com as condições fisiológicas do trato digestivo dos frangos de corte

A maioria das fitases existentes no mercado deve ser capaz de atuar no trato gastrointestinal superior, especificamente no proventrículo e moela, que é um meio ácido e mantém a molécula do ácido fítico em estado solúvel. Quando a digesta se move para o intestino delgado (pH 6-7), a molécula do ácido fítico se liga a minerais, como, Ca, Na, Zn (zinco), para formar precipitados insolúveis que impossibilitam a ação da fitase e impedem a desfosforilação do fitato (AUGSPURGER et al., 2003).

Em geral, as fitases industrialmente produzidas têm maior potencial e estabilidade na atividade em pH entre 2,5 a 5,5. Além disso, são bastante específicas para o ácido fítico. Sob a condição de ensaio é possível distinguir a fitase da fosfatase ácida que é incapaz de degradar o fitato (VATS; BANERJEE, 2004).

2.2.4 Influência da fitase na digestibilidade de proteína, aminoácidos e minerais

A hidrólise do fitato revela maior probabilidade de libertar proteínas ligadas ao fitato e gerar aumento, conseqüentemente, da biodisponibilidade das proteínas ofertadas nas dietas para frangos de corte. A suplementação nutricional com fitases exógenas reduz os níveis de fitato na dieta, o que tende a aumentar a digestibilidade de aminoácidos e a reduzir os efeitos inibitórios do fitato sobre as proteases (COWIESON; ADEOLA, 2006).

Ingredientes dietéticos, concentrações de Ca, Na, P e Zn podem exercer influências sobre os resultados da suplementação nutricional com fitases em dietas avícolas (SELLE et al., 2006; COWIESON et al., 2016), razão pela qual há discussões e controvérsias quanto aos resultados de pesquisas experimentais sobre digestibilidade de proteínas e aminoácidos.

Em perus, a suplementação de dietas com fitase mostrou aumento da digestibilidade ileal, aparente e verdadeira do nitrogênio (N) e aminoácidos, mas os resultados sofreram influências dos níveis de P existentes na dieta (YI; KORNEGAY; DENBOW, 1996a).

A suplementação dietética com fitase microbiana pode não aumentar a digestibilidade de todos os aminoácidos, sendo que a magnitude da resposta varia em função do aminoácido considerado (RAVINDRAN et al., 2000). Por outro lado, foi observado em frangos de corte (machos e fêmeas) que a suplementação com fitase aumentou a digestibilidade ileal e aparente de quase todos os aminoácidos, com exceção de metionina, fenilalanina, lisina e prolina.

Porém, nos machos foi observado aumento da digestibilidade ileal e aparente de metionina e fenilalanina (SEBASTIAN et al., 1996).

A suplementação de fitase em dietas de frangos de corte formuladas à base de trigo, sorgo e farelo de soja, resultou em aumento da digestibilidade do N ileal e digestibilidade de todos os aminoácidos essenciais, exceto metionina (RAVINDRAN et al., 2001), e em melhor desempenho de crescimento, maior digestibilidade e disponibilidade de P, Ca, Zn e Cu (cobre), e digestibilidade ileal da proteína bruta e aminoácidos (SINGH, 2008).

2.3.5 Influência da fitase na digestibilidade e aproveitamento de energia

A possibilidade de que as fitases exógenas tenham efeito positivo sobre a utilização de energia em frangos de corte tem implicações práticas consideráveis. As primeiras pesquisas realizadas sugeriram que o fitato influencia negativamente a energia metabolizável (EM) e que a suplementação com fitase aumenta a utilização da EM em frangos de corte submetidos a dietas basais elaborada com milho, trigo, aveia, cevada, soja e outros.

Em dietas basais contendo milho ou trigo para aves de postura foi observado que a adição de fitase à dieta aumentou a utilização da energia metabolizável (SCOTT; KAMPEN; SILVERSIDES, 2001). Pesquisas evidenciam que dietas para frangos de corte elaboradas à base de milho, soja, trigo e sorgo, e suplementadas com fitases, mostraram melhoria da utilização da EM ofertada na ração em comparação com os animais que receberam dietas não suplementadas (KHAN et al., 2013; SELLE; RAVINDRAN, 2007). Porém, com dieta à base de trigo pré-peletizado a fim de eliminar a atividade intrínseca da enzima, a suplementação de fitase não aumentou a utilização da EM ofertada na dieta para frangos de corte (SELLE et al., 2001). No entanto, foi indicado que a fitase exógena de origem microbiana pode ser usada para explorar o potencial nutricional inerente dos alimentos para uma produção avícola mais econômica e ambientalmente correta (SINGH, 2008; WOYENGO; NYACHOTI, 2013).

Na avaliação de duas enzimas fitase (*Bacillus subtilis* [Bs] a 250, 500 e 1000 FTU kg⁻¹ e *Aspergillus niger* [An] a 500 FTU kg⁻¹) utilizadas na formulação de duas dietas, uma, controle negativo, contendo farelo de soja e milho e reduzidos níveis de P e Ca, e a outra, controle positivo, contendo farelo de soja milho e P e Ca em níveis adequados, o desempenho dos frangos de corte melhorou em função da adição de fitase. Em geral, a adição de fitase à dieta controle negativo aumentou os coeficientes de digestibilidade ileal de gordura, proteína e amido. Os resultados alcançados foram associados com o aumento induzido pela fitase na utilização da EM ofertada nas dietas e melhoria na digestibilidade ileal e aparente. Esses

resultados indicam que o impacto positivo da fitase sobre o aproveitamento da EM fornecida na dieta aos frangos de corte decorre de aumentos cumulativos da digestibilidade de gordura, proteína e amido (CAMDEN et al., 2001).

2.3.6 Influência da fitase no desempenho características ósseas de frangos de corte

A fitase atua na liberação de fósforo e cálcio, o que pode aumentar a concentração destes minerais nas dietas e influenciar na qualidade óssea, apesar das inúmeras comprovações publicadas de que níveis deficientes de P e Ca presentes na dieta de frangos de corte podem comprometer o desempenho ósseo das aves (SEBASTIAN et al., 1996; LAN et al., 2002; RAVINDRAN et al., 2006; DELEZIE et al., 2015). As respostas ósseas para a suplementação de fitase demonstram aumento da mineralização óssea, redução do risco de fratura femoral, ruptura de coxa e sobrecoxa, separação de cartilagem e lesões hemorrágicas na carne (SEBASTIAN et al., 1996; AHMAD et al., 2000; LAN et al., 2002; WALK et al., 2013; WALK; SANTOS; BERFORD, 2014). Todavia, as respostas ósseas à suplementação de fitase ainda merecem ser estudadas e compreendidas.

Pesquisas mostram efetiva resposta na concentração de minerais no plasma sanguíneo e nas cinzas da tíbia, sendo mais expressiva quanto à digestão de nutrientes como Ca e P, em frangos de cortes submetidos a dietas suplementadas com fitase (LAN et al., 2002; SINGH et al., 2003; CONTE et al., 2003). Em frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com níveis de fitase (250, 500, 750 e 1.000 FTU kg⁻¹), em diferentes fases de crescimento, não foi observado efeito da enzima na densitometria óssea (JUNQUEIRA et al., 2011).

A suplementação de fitase microbiana em dieta avícola pobre em P aumenta o crescimento, a retenção relativa de P, Ca, Cu e Zn totais e melhora a mineralização óssea em frangos de corte (LAURENTIZ et al., 2007; MANOBHAVAN et al., 2015). Contudo, a adição de diferentes fitases (6-fitase) testadas à dieta avícola, em comparação com as aves que receberam dietas sem adição da enzima, não melhorou os parâmetros de resistência à quebra óssea e conteúdo mineral das tíbias, mas todas as fitases avaliadas, em menor ou maior percentual, mostram efeitos positivos sobre o teor de minerais das tíbias, sugerindo que podem ocorrer diferentes eficácias ou modos de ação das 6-fitases (PTAK et al., 2013). A ação da fitase e os níveis de adição mineral na dieta influenciam o desempenho de crescimento, digestibilidade aparente dos nutrientes e retenção de Ca e P e qualidade óssea em pintos de corte (GAUTIER; WALK; DILGER, 2018).

Parece haver correlação direta dos níveis nutricionais e disponibilidade de minerais com aumento da percentagem de cinzas da tíbia e maior resistência à quebra dos frangos de corte submetidos às dietas suplementadas com fitases. Nesse sentido, algumas pesquisas evidenciam que a redução dos níveis nutricionais da dieta prejudica o desempenho, a uniformidade das aves, a mineralização e a resistência óssea dos frangos de corte submetidos à dieta não suplementada com fitases (AHMAD et al., 2000; LAN et al., 2002; WALK et al. 2013; WALK; SANTOS; BEDFORD, 2014). A suplementação nutricional com fitase promove aumento nas concentrações de Ca e Zn na tíbia de frangos de corte, a atividade da fitase promove aumento da disponibilidade de Zn quelatado do fitato (cátions divalente Zn^{2+}) que aumenta sua concentração nos tecidos ósseos (OMAR; SABHA, 2009).

2.4 Uso do conceito de *superdosing* de fitase na dieta de frango de corte

Experimentos com *superdosing* de fitase na ração para frangos de corte começaram a despertar interesse a partir da década de 1990 com a inclusão e comercialização da enzima fitase como aditivo alimentar, destacando-se os feitos por Simons et al. (1990), Huyghebaert et al. (1992), Zhang et al. (1999).

Todavia, até então, não há unanimidade na literatura especializada sobre parâmetro quantitativo que delimite o conceito de *superdosing*. Observa-se que há ampla faixa de níveis de adição de fitase à dieta avícola em torno do conceito de *superdosing*, o qual é estabelecido a partir da camada dose “convencional”, cuja adição de fitase se situa até o máximo de 500 FTU kg^{-1} . A *superdosing* de fitase é referida quando a adição dessa enzima se estabelece acima de 500 ou acima de 1000 ou entre 1000-2000 ou superior a 2000 FTU kg^{-1} de ração (COWIESON, WILCOCK; BEDFORD, 2011; COWIESON et al., 2014; MANOBHAVAN et al., 2015; COWIESON et al., 2017).

Em dietas elaboradas à base de milho e farelo de soja e adição de fitase em até 12.000 FTU kg^{-1} , foi observado aumento quadrático na liberação do P fítico em função do aumento da dose de fitase até 12.000 FTU kg^{-1} , o que levou a conclusão de que frangos submetidos à dieta basal de milho e farelo de soja deficiente em P podem atingir melhor desempenho com elevadas doses de fitase (SHIRLEY; EDWARDS, 2003).

Em investigação sobre o efeito de altos níveis de fitases fúngicas e bacterianas, com dosagens que variaram de 500 a 10.000 FTU kg^{-1} de ração, apresentou melhoria nos índices zootécnicos com dosagens crescentes dessas enzimas nas dietas de frangos de corte (AUGSPURGER; BAKER, 2004).

Outras pesquisas foram realizadas com dosagens superiores a 10000 FTU kg⁻¹ de fitase na ração (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2004; 2006; 2006a; KIES et al., 2006; PIRGOZLIEV et al., 2008; NAVES et al., 2016), cujos ensaios procuravam evidenciar os efeitos das *superdosing* da enzima fitase adicionada à dieta de frangos e suínos de corte.

Discutem-se três mecanismos por meio dos quais a adição de altas doses de fitases na ração avícola poderia gerar efeitos benéficos para o desempenho das aves. O primeiro, a respeito da liberação do fosfato ou restauração da liberação proporcional do P e Ca; o segundo, em relação à menor quantidade de fitato residual gerado pela redução do efeito antinutritivo e aumento de ésteres inferiores do fitato (IP5, IP4, IP3 e IP2); e por fim a geração de mioinositol (ou inositol) com efeitos vitamínicos-lipotrópicos (COWIESON; WILCOCK; BEDFORD, 2011). Existe também uma hipótese de que o mioinositol é um mimético da insulina em várias espécies animais sugerindo que o efeito de altas doses de fitase pode estar ligado a esse mecanismo (COWIESON et al., 2014).

Compreende-se que a liberação do P não seria o único mecanismo gerador de benefícios para o desempenho das aves (COWIESON; WILCOCK; BEDFORD, 2011). Além disso, há vários fatores que são cruciais para a otimização das estratégias de *superdosing* de fitase à dieta de frangos, dentre os quais se incluem: fonte e concentração de fitato, energia e densidade de aminoácidos, balanço iônico na dieta, genética e idade das aves (COWIESON et al., 2016). Então, ainda que a pesquisa tenha avançado na segunda década do século XXI persistem dúvidas quanto ao mecanismo da ação da *superdosing* de fitase na dieta e sua relação com o aumento do desempenho dos frangos suplementados.

2.5 Referências

- ADEOLA, O.; COWIESON, A.J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M. et al. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, 103-114, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199001224>>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- ALMEIDA, M.V.; SILVA, A.D.; SOUZA, M.V. et al. A cascata dos fosfoinositídeos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 105-111, 2003.

- APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H.L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1140–1148, 2003.
- AUGSPURGER, T.; KELLER, A.E.; BLACK, M.C. et al. Water quality guidance for protection of freshwater mussels (Unionidae) from ammonia exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 2569-2575, 2003.
- AUGSPURGER, N.R.; BAKER, D.H. High dietary phytase levels maximize phytate phosphorus utilization but do not affect protein utilization in chicks fed phosphorus or amino acid deficient diets. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 4, p. 1100-1107, 2004.
- BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; BONATO, M.A. et al. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1497-1502, 2012.
- BATOOL, S.; SARDAR, F. Biotechnological production and applications of phytases for removal of phosphorus from environment. **Bulletin of Environmental Studies**, v. 2, n. 1, p. 24-36, 2017.
- BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxfordshire: UK, 2001.
- BEIKI, M.; HASHEMI, S.M.; YAGHOOBFAR, A. The use of phytase and low phosphorus levels in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Journal of Animal and Poultry Sciences**, v. 2, n. 2, p. 48-54, 2013.
- BENEVIDES, C.M.J.; SOUZA, M.V.; SOUZA, R.D.B. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.
- CAMDEN, B.J.; MORELL, P.C.H.; THOMAS, D.V. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, n. 3, p. 289-291, 2001.
- CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A.S.; FIALHO, E.T. et al. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1147-1156, 2003.
- COWAN, W.D. Understanding the manufacturing, distribution, application, and overall quality of enzymes in poultry feeds. **Journal Applied Poultry Research**, v.2, p. 93–99. 1993.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v.85, p.878-885, 2006.

- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Supplementation of corn-soy-based diets with an *Escherichia coli*-derived phytase: effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. **Poultry Science**, v. 85, n. 8, p.1389–1397, 2006a.
- COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Metabolism and nutrition: carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, v. 84, n. 12, p. 1860-1870, 2006.
- COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H. Influence of dietary phytic acid an source of microbial phytase on ileal endogenous amino acid flows in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, n. 11, p. 2287-2299, 2008.
- COWIESON, A.J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M.R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v. 67, n. 2, p. 225-236, 2011.
- COWIESON, A.J.; PTAK, A.; MCKOWIAK, P. et al. The effect of microbial phytase and *myo*-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. **Poultry Science**, v. 92, n. 8, p. 2124-2134, 2013.
- COWIESON, A.J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P. et al. Possible involvement of *myo*-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. **Animal Production Science**, v. 55, n. 6, p. 710-719, 2014. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1280378>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- COWIESON, A.J.; RUCKEBUSCH, J.P.; KNAP, I. et al. Phytate-free nutrition: a new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 222, p. 180-189, 2016.
- COWIESON, A.J.; RUCKEBUSCH, J.P.; SORBARA, O.B. et al. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 182-194, 2017.
- DAHIYA, S.; SINGH, N. Isolation and biochemical characterization of a novel phytase producing bacteria *Bacillus cereus* isolate MTCC 10072. **International Journal of Microbial Resource Technology**, v.2, n. 2, p. 1-5, 2014.
- DELEZIE, E.; BIERMAN, K.; NOLLET, L. 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. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 2, p. 115-126, 2015.
- DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H. et al. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 878-896, 2015.
- EC. Enzyme Commission. **Enzyme nomenclature database**. 2019. Disponível em: <<https://enzyme.expasy.org/>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

- ENGELEN, A.J.; VAN DER HEEFT, F.C.; RANDSONDORP, P.H. et al. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v.77, n. 3, p.760-764, 1994.
- GAUTIER, A.E.; WALK, C.L.; DILGER, R.N. Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. **Poultry Science**, v, 97, n. 1, p. 211-218, 2018.
- GREINER, R.; CARLSSON, N.; ALMINGER, M.L. Stereospecificity of myo-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of *Escherichia coli*. **Journal Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 53–62, 2000.
- GUPTA, V.K.; SHARMA, G.D.; TUOHY, M.G.; GAUR, R. (Org.). **The handbook of microbial bioresources**. 2016. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?isbn=178064521X>>. Acesso em: 9 ago. 2018.
- JÓZEFIK, D.; PTAK, A.; KACZMAREK, S. et al. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. **Poultry Science**, v. 89, n. 9, p. 1939-1946, 2010.
- JUNQUEIRA, O.M.; DUARTE, K.F.; ASSUENA, V. et al. Effect of phytase supplementation on performance, bone densitometry and carcass yield in broilers chicks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 33, n. 3, p. 301-307, 2011.
- KARADAS, F.; PIRGOZLIEV, V.; PAPPAS, A.C. et al. Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the liver of growing broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 19, n. 4, p. 519-526, 2010.
- KEROVUO, J.; ROUVINEN, J.; HATZACK, F. Hydrolysis of phytic acid by *Bacillus* phytase. **Biochemical Journal**, v. 352, n. pt3, p. 623–628, 2000.
- KHAN, S.A.; CHAUDHRY, H.R.; BUTT, Y.S. et al. The effect of phytase enzyme on the performance of broiler flock (a-review). **Poultry Science Journal**, v. 1, n. 2, p. 117-125, 2013.
- KIES, A.K.; DE HIRNGE, L.H.; HEMME, P.A. et al. Interaction between protein, phytate, and microbial phytase. In vitro studies. **Journal of Agricultural and Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1753-1758, 2006. Disponível em: <<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/352266>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- LAN, G.Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. et al. Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 81, n.10, p.1522-1532, 2002.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S. et al. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n. 2, p.207-216, 2007.

- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. 3rd ed. England: Nottingham. University Press, 2005.
- LEI, X.G.; PORRES, J.M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, v. 25, n. 21, p.1787-1794, 2003.
- LEITE, P.R.S.C.; MENDES, F.R.; PEREIRA, M.L.R. et al. Limitações da utilização de soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15; p. 1138-1157, 2012.
- LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R. et al. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.8, p.1768-1773, 2010.
- LIU, N.; RU, Y.J.; LI, F.D. et al. Effect of diet containing phytase and phytase on the activity and Messenger ribonucleic acid expression of carbohydrase and transporter in chickens. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 12, p. 3432-3439, 2008.
- MALAJOVICH, A.M. **Biotecnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Ensino e Divulgação, 2016.
- MANOBHAVAN, M.; ELANGO VAN, A.V.; SRIDHAR, M. et al. Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 93-100, 2016. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/4785574>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- MENEGHETTI, C.; BERTECHINI, A.G.; RODRIGUES, P.B. et al. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 624-632, 2011.
- MONTEIRO, P.S.; MELO, R.R.; TAVARES, M.P. et al. Otimização da produção, caracterização e avaliação da fitase de *Rhizopus stolonifer* na hidrólise de fitato em ração animal. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.18 n. 2-4, p.117-132, 2012.
- NAVES, L.P.; RODRIGUES, P.N.; MENEGHETTI, C. et al. Efficiency of microbial phytases in diets formulated with different calcium:phosphorus ratios supplied to broilers from 35 to 42 days of age. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n.1, p. 446-453, 2016.
- NIELSEN, P.H.; PORTOPPIDAN, K.; SORBARA, J.O.B. **Making feed more sustainable: how feed enzymes are contributing to the UN's Global Goals for Sustainable Development**. 2017. Disponível em: <https://www.novozymes.com//media/Project/Novozymes/Website/website/document-library/Reports_White-Papers/Making-feed-more-sustainable_article-draft-3.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2018.
- NIÑO-GÓMEZ, D.C.; RIVERA-HOYOS, C.M.; MORALES-ÁLVAREZ, E.D. et al. "In Silico" characterization of 3-phytase a and 3-phytase b from *Aspergillus niger*. **Enzyme Research**, article ID 9746191, p. 23, 2017.

- OMAR, J.M.A; SABHA, R. Effects of phytase on broilers performance and body status of phosphorus. **Hebron University Research Journal**, v. 4, n. 1, p. 55–66, 2009.
- ONU. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Objetivos para o desenvolvimento sustentável**. 2003. Disponível em: <<https://plan.org.br/blog/2017/02/conheca-objetivos-desenvolvimento-sustentavel>>. Acesso em: 20 jun. 2018.
- PEREIRA, R.; MENTEN, J.F.M.; ROMANO, G.G. et al. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.1, p.137-144, 2012.
- PIRGOZLIEV, V.; ODUGUWA, O.; ACAMOVIC, T. et al. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. **British Poultry Science**, v, 49, n. 2, p. 144-154, 2008.
- PTAK, A.; JÓZEFIA, N.; KIERONCZY, B. et al. Effect of different phytases on the performance, nutrient retention and tibia composition in broiler chickens. **Archiv Tierzucht**, v. 56, n, 104, p. 1028-1038, 2013.
- RAPOPORT, B.S.; LEVA, E.; GUEST, G.M. **Phytase in plasma and erythrocytes of various species of vertebrates**. 1941. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/139/2/621.full.pdf>>. Acesso em: 9 ago. 2018.
- RAVINDRAN, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 628-636, 2013.
- RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G. et al. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and nonphytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v. 41, n. 2, p. 193-200, 2000.
- RAVINDRAN, V.; MOREL, P.; PARTRIDGE, G. et al. Influence of an *Escherichia coli* derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poultry Science**, v. 85, n. 1, p. 82-89, 2006.
- RAVINDRAN, V.; SELLE, P.; RAVINDRAN, G. et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, n. 3, p. 338-344, 2001.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV/ Departamento de Zootecnia, 2011.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- ROSTAMI, H.; GIRI, A. An overview on microbial phytase and its biotechnological applications. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research** [online], v. 4, n. 1, p. 62-71, 2013.

- SCOTT, T.A.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F.G. The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 393–401, 2001.
- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. et al. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broilers chickens fed corn-soybean diets. **International Journal of Poultry Science**, v.75, n. 6, p.729-736, 1996.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, n. 1-2, p.1-41, 2007.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. et al. Influence of dietary phytate and exogenous phytase on amino acid digestibility in poultry: a review. **Journal of Poultry Science**, v. 43, n. 2, p.89-103, 2006.
- SHIRLEY, R.B.; EDWARDS, H.M.JR. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 671-680, 2003.
- SIMONS, P.C.M.; VERSTEEGH, H.A J.; JONGBLOED, A.W. et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **The British Journal of Nutrition**, v. 64, n. 2, p. 525–540, 1990.
- SINGH, N.K.; JOSHI, D.K.; GUPTA, R.K. Isolation of phytase producing bacteria and optimization of phytase production parameters. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 6, n. 5, p. e6419, 2013.
- SINGH, P.K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, n. 4, p. 553-580, 2008.
- SINGH, P.K.; KHATTA, V.K.; THAKUR, R.S. et al. Effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed wheat based diets; fed maize and wheat based diets with different levels of non-phytate phosphorus. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 11, p. 1642-1649, 2003.
- SOUSA, J.P.L.; ALBINO, L.F.T.; VAZ, R.G.M.V. et al. The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive, bone, and blood biochemistry characteristics. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 1, p. 69-76, 2015.
- TIZZIANI, T.; DONZELE, R.F.M.O.; DONZELE, J.L. et al. Available phosphorus levels in diets supplemented with phytase for male broilers aged 22 to 42 days kept in a high-temperature environment. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 2, p. 48-55, 2016.
- TORRES, D.M.; TEIZEIRA, A.S.; RODRIGUES, P.B. et al. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Agrotecnologia**, v.27, n. 6, p.1401-1408, 2003.
- VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial**

Technology, v. 35, p. 3-14. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022904000870?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 jan. 2019.

- WALK, C.L.; BEDFORD, M.R.; SANTOS, T.T. et al. Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**, v, 92, n. 3, p. 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, n. 5, p. 1172-1177, 2014.
- WOYENGO, T.A.; NYACHOTI, C.M. Review: anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry: current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, n. 1, p. 9-21, 2013.
- YI, Z.; KORNEGAY, E.T.; DENBOW, D.M. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poult fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v. 75, n. 8, p. 979-990, 1996a.
- YI, Z.; KORNEGAY, E.T.; RAVINDRAN, V. et al. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, v. 75, n. 8, p. 240-249, 1996b.
- YU, S.; COWIENSON, A.; GILBERT, C. et al. 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, n. 5, p. 1824-1832, 2012.
- ZHANG, X.; ROLAND, D.A.; MCDANIEL, G.R. et al. Effect of natuphos® phytase supplementation to feed on performance and ileal digestibility of protein and amino acids of broilers. **Poultry Science**, v. 78, n. 11, p. 1567-1572, 1999.
- ZYLA, K.; DULINSKI, R.; PIERZCHALSKA, M. et al. Phytases and myo-inositol modulate performance, bone mineralization and alter lipid fractions in the serum of broilers. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 22, n. 1, p. 56-61, 2013.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Com base nessas considerações, o presente estudo teve por objetivo geral avaliar o desempenho zootécnico, a digestibilidade de nutrientes, a qualidade óssea e o rendimento da carcaça de frangos de corte submetidos à dieta nutricional com redução dos níveis nutricionais de fósforo, cálcio e sódio, e suplementada com a enzima fitase (dosagem recomendada pelo fabricante e *superdosing*).

3.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar a *superdosing* de fitase sobre o desempenho produtivo, digestibilidade de nutrientes e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas deficientes em cálcio, fósforo e sódio.
- b) Avaliar a *superdosing* de fitase sobre a qualidade óssea de frangos de corte alimentados com dietas deficientes em cálcio, fósforo e sódio.

4 FITASE SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO, DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES E RENDIMENTO DE CARÇA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS DEFICIENTES EM FÓSFORO, CÁLCIO E SÓDIO

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho zootécnico, a digestibilidade de nutrientes, rendimento da carcaça de frangos de corte submetidos a dietas formuladas à base de milho, farelo de soja e óleo de soja, com redução nos níveis de P, Ca e Na suplementadas com 500 FTU kg⁻¹ ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase. Foram alojados 1548 pintos de corte, machos, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro dietas, nove repetições, com 43 aves por unidade experimental. As dietas experimentais foram compostas por: Controle Positivo com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação, sem adição de enzima; Controle Negativo (CN), com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação e com redução de fósforo (0,15%), cálcio (0,16%) e sódio (0,03%) sem adição de enzima fitase; CN com adição de enzima fitase 500 FTU kg⁻¹ de ração; CN com adição de enzima fitase 1000 FTU kg⁻¹ de ração. A suplementação de fitase (500 FTU kg⁻¹ e 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na resultou em melhor desempenho produtivo e rendimento de carcaça e de cortes comerciais de frangos de corte em comparação com aqueles que receberam dietas deficientes sem suplementação com fitase e semelhante à dieta controle positivo. A suplementação de 500 ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase à ração resultou em valores semelhantes ($p > 0,05$) de energia metabolizável aparente (AME) nas dietas com níveis reduzidos de P, Na e Ca, em comparação a dieta controle positivo. As aves suplementadas com fitase apresentaram redução na excreção de fitato, P e Ca em relação à dieta controle. As aves suplementadas com fitase apresentaram maior ($p < 0,05$) coeficiente de retenção de P e Ca em relação às aves não suplementadas. Os resultados demonstram que inclusão de fitase (500 FTU/kg ou 1000 FTU/kg) nas dietas deficientes em P, Ca e Na para frangos de corte foi eficaz no reestabelecimento dos níveis nutricionais das dietas, demonstrado pelo desempenho produtivo das aves.

Palavras-chave: conversão alimentar, energia metabolizável, rendimento de peito, *superdosing* de fitase.

Abstract

The study's objective was to evaluate the performance of broiler chicks submitted to diets formulated with corn, soybean meal and soybean oil, with a reduction in the levels of P, Ca and Na supplemented with 500 FTU kg⁻¹ or 1000 FTU kg⁻¹ phytase. A total of 1548 male chicks, housed in a completely randomized experimental design, were housed with four diets, nine replicates, with 43 birds per experimental unit. Experimental diets were composed of: Positive Control with nutritional levels recommended for each breeding stage, without addition of enzyme; Negative Control (CN), with nutritional levels recommended for each breeding phase and reducing phosphorus (0.15%), calcium (0.16%) and sodium (0.03%) without addition of phytase enzyme; CN with addition of phytase enzyme 500 FTU kg⁻¹ of feed; CN with addition of phytase enzyme 1000 FTU kg⁻¹ of feed. Phytase supplementation (500 FTU kg⁻¹ and 1000 FTU kg⁻¹) in P, Ca and Na deficient diets resulted in improved performance, carcass yield and commercial cuts of broiler chickens compared to those receiving deficient diets without phytase supplementation. Supplementation of 500 or 1000 FTU kg⁻¹ of phytase to feed resulted in similar values ($p > 0.05$) of apparent metabolizable energy (AME) in diets with reduced levels of P, Na, and Ca compared to a positive control diet. The birds supplemented with phytase had a reduction in excretion of phytate, P and Ca compared to the control diet. The birds supplemented with phytase had reduced phytate, P and Ca excretion in relation to the control diet. The results demonstrated that phytase inclusion (500 FTU kg⁻¹ or 1000 FTU kg⁻¹) in P, Ca and Na deficient diets for broilers was effective in reestablishing nutritional levels of diets, as demonstrated by the productive performance of the birds.

Key words: feed conversion, metabolizable energy, breast yield, phytase superdosing.

4.1 Introdução

Sob o ponto de vista da nutrição animal, o fósforo (P) é um mineral fundamental para o desenvolvimento e manutenção do organismo animal, sendo, portanto, indispensável para os processos metabólicos essenciais de frangos de corte industriais (SKLAN, NOY, 2004).

No entanto, as dietas usadas na avicultura industrial, basicamente, compostas por ingredientes de origem vegetal, contêm pequena parcela, aproximadamente 30% do total do P, disponível para animais não ruminantes (ROSTAGNO et al., 2017). A maior parcela do P

total presente nos ingredientes de ração avícola formulada à base de milho e soja, por exemplo, encontra-se complexada e indisponível devido à ausência da enzima fitase no aparelho digestório das aves (SELLE; RAVINDRAN, 2007). A falta da enzima fitase impede a quebra da molécula do ácido fítico, que contém considerável teor de P, aproximadamente 28,2% (YI et al., 1996a).

No organismo das aves, o ácido fítico atua como agente quelante de nutrientes como as proteínas e aminoácidos (PETER; BAKER, 2001; RAVINDRAN, 2013), cátions (YI et al., 1996ab), amido (YI; KORNEGAY; RAVINDRAN et al., 1996b), enzimas tais como pepsina, tripsina e α -amilase (SKLAM; NOY, 2004; SEBASTIAN et al., 1996), o que causa redução significativa na digestibilidade dos nutrientes ofertados na dieta de frangos de corte.

Os complexos insolúveis formados pela ação do ácido fítico, juntamente, com o excesso de P inorgânico adicionado à dieta e não aproveitados no metabolismo das aves, acabam sendo eliminados pelas excretas (LEESON; SUMMERS, 2005; ABDEL-MEGEED; TAHIR, 2015), o que aumenta a emissão gasosa na atmosfera e eutrofização de rios, lagos e açudes (NIÑO-GÓMEZ et al., 2017).

Vários ensaios experimentais têm analisado a ação redutora do fitato sobre atividades das enzimas endógenas, digestibilidade e disponibilidade de proteínas, aminoácidos, amidos e minerais que, em consequência, reduzem o aproveitamento da energia metabolizável ofertada nas dietas de frangos de corte (SCOTT; KAMPEN; SILVERSIDES, 2001; CAMDEN et al., 2001; SINGH et al., 2003; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2004; SELLE; RAVINDRAN, 2007; SINGH, 2008; KHAN et al., 2013). Porém, os efeitos adversos devidos à presença de fitato na dieta de frangos de corte podem ser minimizados pela adição de fitase exógena (DAHIYA; SINGH, 2014).

Recentemente, a pesquisa tem se voltado a investigar efeitos da adição de *superdosing* de fitase à dieta avícola (COWIESON et al., 2014; WU et al., 2015; LEE; BEDFORD, 2016; BRADBURY et al., 2016; LEE et al., 2017; 2018; GAUTIER; WALK; DILGER, 2018). O conceito de *superdosing* de fitase na nutrição animal tem por base analisar a utilização de doses elevadas dessa enzima (superiores a 500 FTU kg⁻¹ de ração) com a finalidade de observar efeitos da desfosforilação do ácido fítico em seus ésteres de fosfato de mioinositol sobre desempenho produtivo de frangos de corte, características ósseas e qualidade da carne produzida, e seus efeitos extrafosfóricos com base na utilização do mioinositol, como na regulação da morfogênese e histogênese das células, manutenção da estrutura das membranas celulares, síntese de lipídeos e crescimento celular. Até então, são controversos os resultados

divulgados da pesquisa com *superdosing* de fitase, mas têm servido de estímulo para novas investigações.

Assim, o objetivo do experimento foi avaliar a *superdosing* de fitase sobre o desempenho produtivo, digestibilidade de nutrientes e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas deficientes em cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na).

4.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina, Brasil, no período entre 1º de junho e 19 de julho do ano de 2017. Os procedimentos usados nesse estudo experimental foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Brasil (Protocolo 24/2017).

Foram alojados 1548 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb 500[®], provenientes de matrizes de cerca de 40 semanas de idade, os quais foram distribuídos de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro dietas experimentais, nove repetições, totalizando 36 unidades experimentais com 43 aves cada (13,33 aves/m²).

As dietas experimentais foram divididas em quatro tratamentos, compostas por:

Controle Positivo (CP), com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação, sem adição de enzima.

Controle Negativo (CN), com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação, com exceção do fósforo, cálcio e sódio, sem adição de enzima.

CN com adição de enzima fitase 500 FTU kg⁻¹.

CN com adição de enzima fitase 1000 FTU kg⁻¹.

Nas dietas controle negativo houve redução dos níveis de fósforo, cálcio e sódio (Tabela 1), conforme matriz nutricional da enzima recomendada pelo fabricante. A enzima utilizada foi a 6-fitase, obtida por fermentação de *Escherichia coli* modificada por *Picchia Pastoris* (Precizyon FIT TS 5000, Quimtia S.A. Brasil, 2017), com atividade esperada de 5000 FTU kg⁻¹.

As dietas foram elaboradas à base de milho, farelo de soja, óleo de soja e núcleo basal fabricado pela indústria Quimtia S.A. Brasil (2017), com base nas recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2017) para baixo desempenho. Foram desenvolvidos três núcleos (Inicial, Crescimento e Abate) específicos para cada tratamento e fase de desenvolvimento: ração

inicial (1 a 18 dias de idade), ração crescimento (19 a 35 dias de idade) e ração final (36 a 47 dias de idade) (Tabelas 1).

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais:

Dieta basal	Inicial		Crescimento		Final	
	Controle Positivo	Controle Negativo	Controle Positivo	Controle Negativo	Controle Positivo	Controle Negativo
INGREDIENTES (kg/t de ração)						
Milho (7.50% Proteína Bruta)	616,50	616,50	640,00	640,00	678,00	678,00
Farelo de soja (46.0% PB)	323,50	323,50	301,00	301,00	268,70	268,70
Óleo de soja	15,00	15,00	21,00	21,00	20,30	20,30
Premix Inicial CP	45,00					
Premix Inicial CN		45,00				
Premix Crescimento CP			38,00			
Premix Crescimento CN				38,00		
Premix Final CP					33,00	
Premix Final CN						33,00
Peso total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
NÍVEIS NUTRICIONAIS - COMPOSIÇÃO CALCULADA						
Proteína Bruta (PB)	200,00	200,00	190,20	190,20	178,00	178,00
Energia Metabolizável (EM) (Kcal/Kg)	2980,91	2980,91	3054,59	3054,59	3101,03	3101,03
Lisina Digestível	11,40	11,40	10,40	10,40	9,70	9,70
Metionina Digestível	5,60	5,60	5,10	5,10	4,70	4,70
Metionina +Cistina Dig.	8,20	8,20	7,60	7,60	7,10	7,10
Treonina Digestível	7,40	7,40	6,80	6,80	6,30	6,30
Triptofano Digestível	2,10	2,10	2,00	2,00	1,80	1,80
Arginina Digestível	12,10	12,10	11,50	11,50	10,60	10,60
Valina Digestível	8,80	8,80	8,10	8,10	7,60	7,60
Cálcio	8,60	7,00	7,50	5,90	6,50	4,90
Fósforo disponível	3,80	2,30	3,40	1,90	2,90	1,40
Sódio	2,10	1,80	2,00	1,70	1,90	1,60
Cloro	2,00	1,50	1,90	1,40	1,80	1,30
Potássio	8,20	8,20	7,80	7,80	7,30	7,30
Mongin	244,38	243,63	233,37	232,63	218,58	217,89

Nível por kg de dietas Iniciais e Crescimento: Vitamina A (9500 UI/kg), vitamina D3 (1900 UI/kg), vitamina E (30 mg/kg), vitamina K3 (2 mg/kg), vitamina B1 (2,51 mg/kg), vitamina B2 (5,86 mg/kg), vitamina B6 (3 mg/kg), vitamina B12 (15 mg/kg), ácido fólico (1 mg/kg), ácido pantotênico (12 mg/kg), Niacina (40 mg/kg), Biotina (0,1 mg/kg), Colina (1652,06 mg/kg), cobre (8 mg/kg), Ferro (60 mg/kg), Iodo (1 mg/kg), manganês (79,80 mg/kg), selênio (0,3 mg/kg), zinco (79 mg/kg).

Nível por kg de dieta Final: Vitamina A (7600 U_i/kg), vitamina D3 (1520 UI/kg), vitamina E (24 mg/kg), vitamina K3 (1,6 mg/kg), vitamina B1 (2 mg/kg), vitamina B2 (4,68 mg/kg), vitamina B6 (2,4 mg/kg), vitamina B12 (12 mg/kg), ácido fólico (0,8 mg/kg), ácido pantotênico (9,6 mg/kg), Niacina (32 mg/kg), Biotina (0,08 mg/kg), Colina (1403,37 mg/kg), cobre (8 mg/kg), Ferro (60 mg/kg), Iodo (1 mg/kg), manganês (79,80 mg/kg), selênio (0,3 mg/kg), zinco (79 mg/kg).

FONTE: Quimtia S.A Brasil (2017).

As aves tiveram livre acesso à água (bebedouros tipo *nipple*) e ração (comedouros do tipo tubular). A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlado por um sistema automatizado. Até a idade de 14 d, os frangos receberam 24 h de luz, em função do sistema de aquecimento (lâmpada halógena de 300 W). No período subsequente, até os 21 d de idade, receberam diariamente 16h de luz e 8 h de escuro. Na idade posterior até o final do experimento (47 d), receberam 14 h de luz e 10h de escuro. O material de cama de aviário foi a maravalha de pinus e o programa vacinal (Marek, Gumboro e Bronquite) foi realizado no incubatório.

Semanalmente as aves foram pesadas, assim como a sobra de ração fornecida, para a avaliação do desempenho zootécnico (peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar). A conversão alimentar foi corrigida pela mortalidade semanal das aves conforme metodologia de Sakomura e Rostagno (2016).

O rendimento de carcaça e de cortes comerciais foi determinado aos 47 dias de idade das aves. Previamente, as aves foram identificadas e submetidas ao jejum alimentar por seis horas e abatidas por atordoamento com eletricidade e posterior sangria. Foram abatidas cinco aves/unidade experimental (45 aves por tratamento, com peso vivo \pm 2% da média de peso do box) para o cálculo de rendimento de carcaça, pernas, asas e gordura abdominal.

Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes nobres, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos, das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele) e asas com pele que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por Smith (1993). Em seguida, foi pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Para o ensaio de metabolismo, aos 21 dias de idade foram retiradas 96 aves do aviário experimental, as quais foram distribuídas aos quatro tratamentos com 12 repetições, totalizando 48 unidades experimentais. Foram utilizadas quatro baterias, com 12 gaiolas cada.

Foi empregado o método de coleta total de excretas, com período experimental de dez dias, sendo cinco de adaptação e cinco de coleta das excretas. As rações e as sobras foram pesadas e registradas no 26^o e 31^o dia de idade das aves para os posteriores cálculos do consumo de ração neste período. A coleta de excretas foi realizada uma vez ao dia, na parte da manhã, utilizando-se bandejas coletoras forradas com lona plástica preta. As excretas

coletadas diariamente foram reunidas por unidade experimental em sacos plásticos, identificadas e armazenados em freezer até o último dia de coleta quando foram pesadas, homogeneizadas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas. As excretas pré-secas foram moídas e o teor de matéria seca foi obtido considerando-se a perda de umidade na etapa de pré-secagem e também temperatura a 105 °C até peso constante.

As amostras de excretas e das dietas experimentais foram analisadas para o conteúdo de matéria seca e extrato etéreo, conforme técnicas descritas pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995), o conteúdo de nitrogênio, fósforo, cálcio e sódio conforme técnicas do compêndio *Sindirações 2017*, e o conteúdo de fitato conforme técnicas *American Association of Cereal Chemists*.

Os teores de energia bruta foram determinados em bomba calorimétrica adiabática. Com base nos dados de consumo de dieta, de produção de excretas e dos resultados das análises de laboratório, procedeu-se ao cálculo dos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), da matéria seca (CDMS) e do extrato etéreo (CDEE), bem como dos valores de energia metabolizável aparente (EMA) e de aparente corrigida (EMAn), utilizando-se as equações propostas por Matterson et al. (1965). Os coeficientes de retenção aparente (CRap) do fósforo, cálcio, sódio e fitato (na matéria seca) foram calculados por meio da fórmula:

$$\text{CRap} = \frac{(\text{g de nutriente ingerido}) - (\text{g de nutriente excretado}) \times 100}{100}$$

Os resultados obtidos em cada período-dieta do experimento foram tabulados e analisados utilizando-se a análise de variância (ANOVA) do procedimento General Lineal Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (2002). Quando significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.3 Resultados e Discussão

No período de 1-7 dias não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias obtidas para o desempenho dos frangos de corte. Entretanto, nas semanas seguintes, houve diferença ($p < 0,05$) entre as dietas para ganho de peso e consumo de ração. As dietas deficientes em Ca, P e Na suplementadas com 500 ou 1000 FTU kg^{-1} apresentaram resultados semelhantes para ganho de peso e consumo de ração em relação à dieta controle positivo, com níveis adequados desses minerais (Tabela 2).

De um modo geral, comprovou-se maior consumo de ração e ganho de peso das aves que foram alimentadas com dietas deficientes, mas suplementada com fitase. Esses resultados podem ser atribuídos à eficácia da fitase na quebra do fitato e aumento da disponibilidade P, Ca e Na, pois a digestão da molécula do fitato tende potencialmente a liberar aminoácidos, minerais e energia (LEESON; SUMMERS, 2005), o que tem efeito positivo no desempenho.

Tabela 2 – Desempenho produtivo de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
1 a 7 dias						
Peso vivo, g/ave	181,35	172,87	175,60	177,73	3,86	0,0789
Ganho de peso, g/ave	134,63	126,65	128,69	131,59	5,32	0,1000
Consumo de ração, g/ave	159,84	156,72	159,42	161,89	5,23	0,6296
Conversão alimentar g/g	1,189	1,238	1,243	1,231	5,23	0,2836
1 a 14 dias						
Peso vivo, g/ave	454,17 ^a	400,10 ^c	430,82 ^b	437,85 ^{ab}	3,84	0,0001
Ganho de peso, g/ave	416,64 ^a	363,80 ^c	393,09 ^b	400,91 ^{ab}	4,25	0,0001
Consumo de ração, g/ave	537,43 ^a	492,51 ^b	533,30 ^a	547,91 ^a	4,65	0,0002
Conversão alimentar g/g	1,291	1,354	1,358	1,369	5,22	0,0956
1 a 21 dias						
Peso vivo, g/ave	938,07 ^a	827,27 ^b	896,91 ^a	922,47 ^a	3,68	0,0001
Ganho de peso, g/ave	889,01 ^a	779,28 ^b	848,65 ^a	877,97 ^a	3,76	0,0001
Consumo de ração, g/ave	1271,41 ^a	1141,64 ^b	1259,02 ^a	1275,53 ^a	3,63	0,0001
Conversão alimentar g/g	1,430	1,465	1,485	1,453	3,20	0,1107
1 a 28 dias						
Peso vivo, g/ave	1421,83 ^a	1280,94 ^b	1407,27 ^a	1407,53 ^a	3,53	0,0001
Ganho de peso, g/ave	1436,79 ^a	1282,69 ^b	1411,99 ^a	1419,93 ^a	3,51	0,0001
Consumo de ração, g/ave	2176,72 ^a	1977,16 ^b	2178,00 ^a	2163,33 ^a	3,21	0,0001
Conversão alimentar g/g	1,515	1,543	1,544	1,524	3,04	0,4821
1 a 35 dias						
Peso vivo, g/ave	2351,54 ^a	2047,84 ^b	2302,39 ^a	2330,28 ^a	3,29	0,0001
Ganho de peso, g/ave	2357,51 ^a	1981,41 ^b	2300,20 ^a	2313,68 ^a	3,84	0,0001
Consumo de ração, g/ave	3534,08 ^a	3087,40 ^b	3517,69 ^a	3532,56 ^a	3,88	0,0001
Conversão alimentar g/g	1,499 ^b	1,559 ^a	1,529 ^{ab}	1,527 ^{ab}	1,87	0,0013
1 a 42 dias						
Peso vivo, g/ave	3070,01 ^a	2685,33 ^b	3061,30 ^a	3058,26 ^a	4,10	0,0001
Ganho de peso, g/ave	3075,98 ^a	2618,41 ^b	3051,45 ^a	3041,65 ^a	4,14	0,0001
Consumo de ração, g/ave	4878,91 ^a	4231,09 ^b	4838,95 ^a	4877,32 ^a	3,89	0,0001
Conversão alimentar g/g	1,586	1,617	1,586	1,604	1,94	0,1167
1 a 47 dias						
Peso vivo, g/ave	3416,06 ^a	2973,11 ^b	3417,77 ^a	3404,50 ^a	4,91	0,0001
Ganho de peso, g/ave	3402,72 ^a	2896,37 ^b	3384,96 ^a	3368,12 ^a	4,82	0,0001
Consumo de ração, g/ave	5669,65 ^a	4871,47 ^b	5641,23 ^a	5642,80 ^a	4,29	0,0001
Conversão alimentar g/g	1,667	1,683	1,667	1,677	2,41	0,8043

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey (p<0,05).

Os resultados observados no desempenho acumulativo indicam que a adição de 500 FTU kg⁻¹ ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase à ração contribuiu de forma positiva no aproveitamento dos nutrientes da ração deficiente em P, Ca e Na (Tabela 3). Sendo assim, é possível afirmar que a adição de fitase à ração, em dose convencional (500 FTU kg⁻¹) e em *superdosing* (1000 FTU kg⁻¹), corrige a deficiência nutricional de P, Ca e Na e contribui positivamente com o desempenho produtivo. Além disso, dietas com níveis reduzidos de P, Ca e Na e suplementadas com 500 e 1000 FTU kg⁻¹ apresentam redução no custo, em média, de 1,25% e 1,00%, respectivamente, em comparação com a dieta controle positivo, o que mostra que há eficiência econômica da utilização da fitase nas dietas. Considerando uma integração avícola que abate 500.000 frangos diariamente, a redução de custos com a suplementação de fitase pode ser de R\$ 31.250,00 e R\$ 25.000,00 por dia, respectivamente, considerando um consumo médio de 5kg de ração/ave e um custo de R\$1,00/kg de ração.

Os resultados observados são semelhantes aos obtidos por Y, Kornegay e Denbow (1996a), Zhang et al. (1999), Ahmad et al. (2000), Junqueira et al. (2011), Santos et al. (2011), Walk, Santos e Bedford, (2013), Gehring, Bedford e Dozier (2014), Tizziani et al. (2016) que, ao compararem as dietas suplementadas com fitase com o controle positivo, não encontram diferença significativa no desempenho produtivo de frangos de corte submetidos às dietas suplementadas com fitase aos 21 ou 42 dias de idade, o que pode ser atribuído ao aumento da digestibilidade das dietas deficientes pela ação da fitase.

As médias observadas para pesos absolutos da carcaça e dos cortes (peito, pernas e asas) e deposição de gordura abdominal diferiram estatisticamente entre as dietas suplementadas com fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) em relação à dieta nutricionalmente deficiente. Esses resultados demonstraram que, a exemplo do observado para o desempenho produtivo, a suplementação de fitase, independentemente do nível de adição da enzima, foi capaz de corrigir a deficiência de Ca, P e Na da dieta. O aumento observado na deposição de gordura pode ser atribuído ao aumento de disponibilidade de nutrientes na dieta (BRADBURY et al., 2016; GAUTIER; WALK; DILGER, 2018; LEE et al., 2018).

Tabela 3 – Peso (gramas/ave) da carcaça e dos cortes comerciais de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
Carcaça	2646,59 ^a	2328,88 ^b	2602,13 ^a	2602,76 ^a	8,10	0,0001
Peito	967,42 ^a	858,49 ^b	988,29 ^a	982,09 ^a	10,65	0,0001
Pernas	858,67 ^a	725,24 ^b	823,18 ^a	832,84 ^a	10,21	0,0001
Asas	289,64 ^a	272,4 ^b	295,84 ^a	290,09 ^a	8,80	0,0001
Gordura Abd	57,23 ^a	43,37 ^b	52,28 ^a	54,57 ^a	23,16	0,0001

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey (p<0,05).

Na Tabela 4, observaram-se efeitos semelhantes ao peso absoluto, entretanto, com algumas considerações. Para o rendimento de carcaça, observou-se que as aves alimentadas com dieta deficiente e suplementada com o nível mais baixo de fitase, apresentaram um rendimento de carcaça semelhante à dieta isenta de fitase, mas que também não diferiu da dieta suplementada com o nível mais elevado ou da dieta controle.

Tabela 4 – Rendimento (%) da carcaça e dos cortes comerciais de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
Carcaça	78,97 ^a	78,07 ^b	78,65 ^{ab}	79,01 ^a	1,89	0,0080
Peito	36,74 ^b	37,43 ^{ab}	37,94 ^a	37,74 ^{ab}	5,06	0,0182
Pernas	32,63 ^a	31,63 ^b	31,63 ^b	31,98 ^{ab}	4,42	0,0023
Asas	11,03 ^b	11,94 ^a	11,38 ^b	11,17 ^b	6,75	0,0001
Gordura Abd	2,18 ^a	1,89 ^b	2,01 ^{ab}	2,10 ^{ab}	22,54	0,0192

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey (p<0,05).

Embora os benefícios da superdosagem de fitase venham sendo amplamente reconhecidos na indústria de alimentos para animais, os mecanismos subjacentes a esses benefícios ainda precisam ser elucidados (LEE et al., 2017). É possível que uma grande parte do benefício de *superdosing* da fitase seja atingida através da produção de mioinositol que é subsequentemente absorvido e utilizado em várias funções biológicas (LEE; BEDFORD, 2016). Melhorias no ganho de peso corporal e, portanto, no rendimento de carne de frangos de corte já foram demonstradas com a suplementação de mioinositol isolado em dietas deficientes em P (ZYLA et al., 2004).

A frequência de respostas positivas dos frangos que receberam dieta nutricionalmente adequada e aqueles que receberam dieta deficiente e corrigida com 500 ou 1000 FTU kg⁻¹

indica que a adição da enzima foi eficiente em suprir as necessidades nutricionais requeridas pelos frangos do experimento. As aves suplementadas com fitase atingiram o mesmo ganho de peso das aves que receberam dietas com níveis adequados, porém com menor custo de produção.

Os resultados observados por Singh et al. (2003), Omar e Sabha (2009), Gehring, Bedford e Dozier (2014) e Tizziani et al. (2016) que, em comparação com a dieta do grupo controle positivo (teores de P conforme recomendado na literatura) evidenciaram que a adição de fitase à dieta deficiente em P não mostrou diferença significativa no rendimento da carcaça dos frangos de corte. Gehring, Bedford e Dozier (2014) comentaram que o desenvolvimento das aves pode ser afetado significativamente pela deficiência mineral das dietas nas fases inicial e de crescimento, mas essa deficiência não parece ter influência significativa na fase final.

Cowieson, Wilcock e Bedford (2011) mencionaram que a adição de *superdosing* de fitase às dietas com redução de P melhora o rendimento da carcaça de frangos de corte. Baradaran et al. (2013) mostraram que, na fase de crescimento dos frangos, a inclusão de fitase em 1000 FTU kg⁻¹ na dieta com reduzido teor de P disponível, aumentou o rendimento de carcaça, sem afetar o rendimento do corte peito.

Na Tabela 5, observou-se que a suplementação de 500 ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase à ração resultou em valores semelhantes ($p>0,05$) de energia metabolizável aparente (AME) nas dietas com níveis reduzidos de P, Na e Ca, em comparação a dieta controle positivo. Por outro lado, a dieta deficiente apresentou menor ($p<0,05$) valor de EMA em relação à dieta controle positivo.

Tabela 5 – Energia metabolizável aparente (AME) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (AMEn), coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (CMPB), coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (DCEE) de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
AME	3223,08 ^a	3116,71 ^b	3201,84 ^{ab}	3157,02 ^{ab}	2,35	0,0511
AMEn	3049,35	2962,42	3028,04	2989,96	2,30	0,1220
CMPB	77,34	74,39	75,73	75,59	2,48	0,0899
CDMS	69,67	66,48	68,29	67,96	3,06	0,1626
DCEE	85,54	80,10	89,38	90,52	7,64	0,0765

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey. ($p<0,07$).

Na Tabela 6, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados. A utilização de dietas deficientes e suplementadas com fitase (500 FTU kg^{-1} e 1000 FTU kg^{-1}) resultou em menores ($p < 0,05$) perdas nas excretas quando comparadas a dieta controle positivo. Observou-se uma redução na excreção de fitato de cerca de 50% quando comparadas a dieta controle positivo com as dietas suplementadas com fitase.

A redução de P nas excretas das aves suplementadas com fitase (500 e 1000 FTU kg^{-1}) foi maior ($p < 0,05$) tanto nas excretas das aves suplementadas com a dieta positiva como com a dieta controle negativo.

Os frangos que receberam dieta suplementada com *superdosing* de fitase apresentaram redução ($p < 0,05$) de excreção de Ca, quando comparados com aqueles alimentados com as dietas controle positivo e controle negativo. A suplementação com fitase reduziu ($p < 0,05$) a excreção de Na nas fezes, em comparação com as aves do controle positivo. Resultados semelhantes foram mencionados por Selle e Ravindran (2007), os quais demonstram que o aumento da excreção de Na está ligado ao conteúdo de fitato na dieta, sendo que a suplementação com fitase pode diminuir esse efeito e, com isso, exercer influência sobre a utilização da energia metabólica. A suplementação das dietas de frangos de corte com fitase aumenta a biodisponibilidade dos minerais e reduz excreção e a poluição ambiente (BATOOL; SARDAR, 2017).

Outro fator importante, a ser considerado é a opinião do consumidor. Novos conceitos de qualidade foram incorporados recentemente como a segurança alimentar e respeito dos sistemas de produção ao bem-estar do homem, dos animais e pelo ambiente. A suplementação de fitase diminui a excreção dos minerais, reduzindo a poluição ambiental. Esses conceitos são muito importantes considerando ainda que a indústria avícola moderna está cada vez mais comprometida com as questões ambientais, de segurança alimentar e sustentabilidade.

Tabela 6 – Valores de fitato, P, Ca e Na analisados nas excretas de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg^{-1}	Fitase 1000 FTU kg^{-1}	CV, %	Valor de p
Fitato, (g/kg)	5,75 ^a	3,20 ^{ab}	2,82 ^b	2,75 ^b	45,71	0,0151
P, (g/kg)	9,80 ^a	6,22 ^b	5,16 ^c	4,98 ^c	9,43	<,0001
Ca, (g/kg)	14,49 ^a	11,65 ^b	10,76 ^{bc}	10,15 ^c	7,59	<,0001
Na, (g/kg)	3,28 ^a	2,16 ^b	2,48 ^b	2,54 ^b	12,70	<,0001

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Na Tabela 7, constatou-se que as aves suplementadas com fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) apresentaram maior ($p < 0,05$) CRF em comparação às aves do controle positivo. Também se observou melhoria ($p < 0,05$) no CRP e CRCa nas aves suplementadas com fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) em comparação com as do controle negativo. O CRNa foi maior ($p < 0,05$) nas aves suplementadas com adição de 500 FTT/kg na ração em relação às aves submetidas as demais dietas, demonstrando que houve melhoria de digestibilidade destes nutrientes devido a utilização da fitase.

A melhoria observada nos coeficientes de absorção pode ser atribuída à melhoria na digestibilidade do fitato pela ação da fitase nas dietas. Cowieson et al. (2014) observaram melhoria dos coeficientes de retenção de P e Ca em dietas deficientes em P e Ca, mas suplementadas com fitase (1000, 2000 e 3000 FTU kg⁻¹).

Tabela 7 – Coeficiente de retenção do fitato (CRF), coeficiente de retenção de P (CRP), coeficiente de retenção de cálcio (CRCa) e coeficiente de retenção de Sódio (CRNa) de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
CRF, %	66,17 ^b	79,24 ^{ab}	82,59 ^a	88,13 ^a	21,50	0,0009
CRP, %	58,52 ^{bc}	57,81 ^c	64,64 ^a	64,17 ^{ab}	8,70	0,0332
CRCa, %	54,85 ^a	43,77 ^b	54,01 ^a	58,04 ^a	13,30	0,0004
CRNa, %	56,48 ^b	55,79 ^b	70,03 ^a	53,71 ^b	15,1	0,0013

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

A melhoria dos índices zootécnicos, rendimento de carcaça e digestibilidade dos nutrientes, observada nesse trabalho, pode ser atribuída aos efeitos da fitase na desfosforilação do ácido fítico em seus ésteres menores de fosfato de mioinositol (IP5 ao IP1), pela redução dos seus efeitos antinutricionais e seus benefícios extrafosfóricos com base na utilização do mioinositol, com possíveis efeitos vitamínicos-lipotrópicos, como na regulação da morfogênese e histogênese das células, manutenção da estrutura das membranas celulares, síntese de lipídeos e crescimento celular (COWIESON et al. 2014; KATHIRVELAN et al., 2015; LEE et al., 2017; SOMMERFEDL et al., 2018).

A hipótese citada por Cowieson et al. (2014) de que o mioinositol é um mimético de insulina em várias espécies animais, cujo efeito pode se relacionar a *superdosing* de fitase, o que pode ser benéfico no transporte de nutrientes e deposição de proteínas.

As demandas dos consumidores, sobretudo em países desenvolvidos, são novos desafios apresentados ao comércio internacional de carnes. As restrições dos mercados

consumidores sobre a dieta e a contaminação ambiental por metano e excretas, decorrentes de imposições dos próprios consumidores, aumentam os custos de produção e limitam ainda mais a rentabilidade da produção avícola, cabendo ao nutricionista estabelecer estratégias para uma produção mais eficiente a fim de diminuir os custos de produção.

4.4 Conclusão

A suplementação de fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na resultou em melhor desempenho produtivo (ganho de peso, consumo de ração e peso vivo) e rendimento de carcaça e de cortes comerciais de frangos de corte em comparação com aqueles que receberam dietas deficientes sem suplementação com fitase e semelhantes à dieta nutricionalmente adequada.

A suplementação de 500 ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase à ração resultou em valores semelhantes ($p>0,05$) de energia metabolizável aparente (AME) nas dietas com níveis reduzidos de P, Na e Ca, em comparação a dieta controle positivo.

As aves suplementadas com fitase apresentaram redução na excreção de fitato, P e Ca em relação à dieta controle positivo. As aves suplementadas com fitase apresentaram maior ($P<0,05$) coeficiente de retenção de P e Ca em relação às aves não suplementadas.

Os resultados deste experimento demonstram que inclusão de fitase (500 ou 1000 FTU kg⁻¹) nas dietas deficientes em P, Ca e Na para frangos de corte foi eficaz para o reestabelecimento dos níveis nutricionais das dietas, demonstrado pela melhoria do desempenho produtivo das aves.

4.5 Referências

- ABDEL-MEGEED, A.; TAHIR, A. Reduction of phosphorus pollution from broilers waste through supplementation of wheat based broilers feed with phytase. **Journal of Chemistry**, article ID 867014, p. 1-3, 2015.
- AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M. et al. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, 103-114, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199001224>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16th ed. Arlington, USA: AOAC, 1995.
- BARADARAN, N.; SHAHIR, M.H.; KERMANI, Z.A. et al. Effects of non-phytate phosphorus starter diet on subsequent growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v, 92, n. 1, p. 192-198, 2013.
- BATOOL, S.; SARDAR, F. Biotechnological production and applications of phytases for removal of phosphorus from environment. **Bulletin of Environmental Studies**, v. 2, n. 1, p. 24-36, 2017.
- BRADBURY, E.J.; WILKINSON, S.J.; CRONIN, G.M. et al. Evaluation of the effect of a highly soluble calcium source in broiler diets supplemented with phytase on performance, nutrient digestibility, foot ash, mobility and leg weakness. **Animal Production Science**, v. 57, n. 10, p. 2016-2026, 2016. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/AN/AN16142>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- CAMDEN, B.J.; MORELL, P.C.H.; THOMAS, D.V. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, n. 3, p. 289-291, 2001.
- COWIESON, A.J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P. et al. Possible involvement of *myo*-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. **Animal Production Science**, v. 55, n. 6, p. 710-719, 2014. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1280378>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- COWIESON, A.J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M.R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v. 67, n. 2, p. 225-236, 2011.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; REDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.
- DAHIYA, S.; SINGH, N. Isolation and biochemical characterization of a novel phytase producing bacteria *Bacillus cereus* isolate MTCC 10072. **International Journal of Microbial Resource Technology**, v.2, n. 2, p. 1-5, 2014.
- GAUTIER, A.E.; WLAK, C.L.; DILGER, R.N. Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. **Poultry Science**, v, 97, n. 1, p. 211-218, 2018.
- GEHRING, C.K.; BEDFORD, M.R.; DOZIER, W.A. Effects of step-up and step-down phytase regimens on performance and processing yields of male broilers from 1 to 35 d of age. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 2, p. 252-259, 2014.
- JUNQUEIRA, O.M.; DUARTE, K.F.; ASSUENA, V. et al. Effect of phytase supplementation on performance, bone densitometry and carcass yield in broilers chicks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, PR, v. 33, n. 3, p. 301-307, 2011.

- KATHIRVELAN, V.; JANANI, S.R.; RAMES, J. et al. Significance of usage of phytase in poultry nutrition. **International Journal of Science, Environment ISSN 2278-3687 (O) and Technology**, v. 4, n. 4, p. 1214-1217, 2015.
- KHAN, S.A.; CHAUDHRY, H.R.; BUTT, Y.S. et al. The effect of phytase enzyme on the performance of broiler flock (a-review). **Poultry Science Journal**, v. 1, n. 2, p. 117-125, 2013.
- LEE, S.A.; DUNNE, E.; FEBERY, P. et al. Superdosing phytase reduces real-time gastric pH in broilers and weaned piglets. **British Poultry Science**, v. 59, n. 3, p. 330-339, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29432032>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- LEE, S.A.; NAGALAKSHMI, D.; RAJU, V.L.N. M. et al. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralization in broilers. **Animal Nutrition**, v. 3, n.3, p. 247-251, 2017.
- LEE, S.A; BEDFORD, M.R. Inositol-an effective growth promotor? **Worlds Poultry Science Journal**, v.72, n.4, p.743-760, 2016.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. 3rd ed. England: Nottingham. University Press, 2005.
- MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, M.W. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. **Agricultural Experimental Station Research Report**, v.7, p.3-11, 1965.
- NIÑO-GÓMEZ, D.C.; RIVERA-HOYOS, C.M.; MORALES-ÁLVAREZ, E.D. et al. “In Silico” characterization of 3-phytase a and 3-phytase b from *Aspergillus niger*. **Enzyme Research**, article ID 9746191, p. 23, 2017.
- OMAR, J.M.A; SABHA, R. Effects of phytase on broilers performance and body status of phosphorus. **Hebron University Research Journal**, v. 4, n. 1, p. 55-66, 2009.
- PETER, C.M.; BAKER, D.H. Microbial phytase does not improve protein-amino acid utilization in soybean meal fed to young chickens. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1792-1797, 2001.
- QUIMTIA S.A. **Fábrica de ração, premixes e aditivos**: site institucional. Colombo, PR, BR. Disponível em: <<https://quimtia.com/pb/productos/>>. Acesso em: 20 jun. 2017.
- RAVINDRAN, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 628-636, 2013.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- SAKOMURA, N.Z.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2. ed. Jaboticabal, SP: Funep, 2016.

- SANTOS, L.M.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Níveis de cálcio e fósforo disponível em rações com fitase para frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 11, p. 2476-2485, 2011.
- SAS. Statistical Analysis System Institute Inc. **Visual statistics** (software). Cary, NC, U.S, 2002.
- SCOTT, T.A.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F.G. The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 393-401, 2011.
- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. et al. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. **International Journal of Poultry Science**, v.75, n. 6, p.729-736, 1996.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, n. 1-2, p.1-41, 2007.
- SINGH, P.K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, n. 4, p. 553-580, 2008.
- SINGH, P.K.; KHATTA, V.K.; THAKUR, R.S. et al. Effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed wheat based diets; fed maize and wheat based diets with different levels of non-phytate phosphorus. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 11, p. 1642-1649, 2003.
- SKLAN, D.; NOY, Y. Catabolism and deposition of amino acids in growing chicks effect of dietary supply. **Poultry Science**, v. 83, n. 6, p. 952-961, 2004.
- SMITH, M.O. Parts yield of broilers reared under cycling high temperatures. **Poultry Science**, v.72, n. 6, p.1146-1150, 1993.
- SOMMERFEDL, V.; KÜNZEL, S.; SCHOLLENBERG, M. et al. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 3, p. 920-929, 2018.
- TIZZIANI, T.; DONZELE, R.F.M.O.; DONZELE, J.L. et al. Available phosphorus levels in diets supplemented with phytase for male broilers aged 22 to 42 days kept in a high-temperature environment. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 2, p. 48-55, 2016.
- TUKEY, J.W. **The problem of multiple comparisons**. Mimeographs Princeton University, Princeton, N.J., 1953.
- 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, n. 5, p. 1172-1177, 2014.

- WU, D.; WU, S.B. CHOCT, M. et al. Comparison of 3 phytases on energy utilization of a nutritionally marginal wheat-soybean meal broiler diet. **Poultry Science**, v. 94, n. 11, p. 2670-2876, 2015.
- YI, Z.; KORNEGAY, E.T.; DENBOW, D.M. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poult fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v. 75, n. 8, p. 979-990, 1996a.
- YI, Z.; KORNEGAY, E.T.; RAVINDRAN, V. et al. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, v. 75, n. 8, p. 240-249, 1996b.
- ZHANG, X.; ROLAND, D.A.; McDANIEL, G.R. et al. Effect of natuphos® phytase supplementation to feed on performance and ileal digestibility of protein and amino acids of broilers. **Poultry Science**, v. 78, n. 11, p. 1567-1572, 1999.
- ZYLA, K.M.; MIKA, B.; STODOLAK, A. et al. Towards complete dephosphorylation and total conversion of phytates in poultry feeds. **Poultry Science**, v. 83, n. 7, p. 1175-1186, 2004.

5 FITASE SOBRE O DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO ÓSSEO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS NUTRICIONALMENTE ADEQUADAS E DEFICIENTES EM CÁLCIO, FÓSFORO E SÓDIO

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade óssea de frangos de corte submetidos a dietas formuladas à base de milho, farelo de soja e óleo de soja, com redução nos níveis de P, Ca e Na suplementadas com 500 FTU kg⁻¹ ou 1000 FTU kg⁻¹ de fitase. Foram alojados 1548 pintos de corte, machos, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro dietas, nove repetições, com 43 aves por unidade experimental. As dietas experimentais foram compostas por: Controle Positivo com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação, sem adição de enzima; Controle Negativo (CN), com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação e com redução de fósforo (0,15%), cálcio (0,16%) e sódio (0,03%) sem adição de enzima fitase; CN com adição de enzima fitase 500 FTU kg⁻¹ de ração; CN com adição de enzima fitase 1000 FTU kg⁻¹ de ração. A suplementação com fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na resultou em melhores índices ($p < 0,05$) de densitometria óssea aos 21 e 47 dias, em comparação à dieta deficiente. A menor ($p < 0,05$) relação osso:cartilagem foi observada nas tíbias dos frangos de corte que receberam a dieta deficiente aos 21 dias de idade. As aves que consumiram dietas suplementadas com fitase apresentaram maior ($p < 0,05$) resistência óssea à quebra, em relação ao controle negativo em todo o período do experimento, porém semelhantes à observada para as aves que receberam dietas com níveis adequados. As aves suplementadas com *superdosing* de fitase apresentaram redução ($p < 0,05$) da elasticidade óssea de fêmur aos 21 e 47 dias, em comparação as aves do controle negativo. O consumo de dietas suplementadas com *superdosing* de fitase, em comparação com o controle negativo resultou em maior ($p < 0,05$) comprimento de fêmur aos 7 e 21 dias. A suplementação com fitase foi eficaz para o reestabelecimento dos parâmetros ósseos das aves alimentadas com dietas deficientes em P, Ca e Na.

Palavras-chave: densitometria óssea, qualidade óssea, resistência óssea, *superdosing* de fitase.

Abstract

The study's objective was to evaluate the bone quality of broilers chicks submitted to diets formulated with corn, soybean meal and soybean oil, with a reduction in the levels of P, Ca and Na supplemented with 500 and 1000 FTU kg⁻¹ of phytase. A total of 1548 males, housed in a completely randomized experimental design, were housed with four diets, nine replicates, with 43 birds per experimental unit. Experimental diets were composed by: Positive Control (CP) with nutritional levels recommended for each breeding stage, without addition of enzyme; Negative Control (CN), with nutritional levels recommended for each breeding phase and reducing phosphorus (0.15%), calcium (0.16%) and sodium (0.03%) without addition of phytase enzyme; CN with addition of phytase enzyme 500 FTU kg⁻¹ of feed; CN with addition of phytase enzyme 1000 FTU kg⁻¹ of feed. Phytase supplementation (500 FTU kg⁻¹ and 1000 FTU kg⁻¹) in P, Ca and Na deficient diets resulted in better ($p < 0.05$) bone densitometry indices at 21 and 47 days compared to deficient diets. The lowest ($p < 0.05$) bone:cartilage relation was observed in the tibia of the broilers that received the deficient diet at 21 days of age. The birds fed diets supplemented with phytase presented higher ($p < 0.05$) bone resistance to the break, in relation to the negative control in the whole period of the experiment, but the results were the same that birds fed diets with adequate levels. Birds supplemented with phytase superdosing showed a reduction in femoral bone elasticity at 21 and 47 days, compared to birds of negative control. The intake of diets supplemented with phytase superdosing, compared to the negative control resulted in a greater ($p < 0.05$) femur length at 7 and 21 days. Phytase supplementation was effective for the reestablishing the bone parameters of birds fed P, Ca and Na deficient diets.

Key words: bone densitometry, bone quality, bone resistance, phytase superdosing.

5.1 Introdução

O fósforo (P) é um dos macrominerais mais importante e essencial para que ocorram reações bioquímicas no organismo dos frangos de corte, capazes de promover desenvolvimento adequado e manutenção do sistema esquelético (SELLE; RAVINDRAN, 2007; ADEOLA; COWIESON, 2011; RAVINDRAN, 2013; TIZZIANI et al., 2016).

Um dos aspectos mais discutidos na literatura pela importância nutricional do P é a digestibilidade do fitato, uma forma de P que ocorre de maneira natural em alimentos de origem vegetal (REDDY; SATHE; SALUNKHE, 1982; NIELSEN; PONTOPPIDAN; SORBARA, 2017) empregados na composição de dietas avícolas. Todavia, as aves não conseguem digerir adequadamente o fitato presente na dieta à base de vegetais leguminosos e cereais (ADEOLA; SANDS, 2003; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2004; RAVINDRAN et al., 2006; SELLE et al., 2006; ADEOLA; COWIESON, 2011; YU et al., 2012). Dessa forma, a má digestão do P fítico gera consequências negativas em função da baixa digestibilidade de minerais e proteínas, aumento da excreção de P no meio ambiente e do custo da dieta avícola (AHMED et al., 2004).

No organismo de frangos de corte, o ácido fítico (forma livre do IP₆), mioinositol fosfatado em todos os seus grupos hidroxila, pode ligar minerais e proteínas ionicamente em meio aquoso e, assim, reduzir o nível de absorção dietética das formulações utilizadas na avicultura comercial (SELLE; RAVINDRAN, 2007). Como forma de atender às necessidades nutricionais das aves, as enzimas fitases são adicionadas em dietas avícolas para favorecer a digestibilidade do P. Essas enzimas são fosfatases capazes de catalisar a liberação do fósforo fítico (COWIESON et al., 2006).

Diversos estudos têm sido conduzidos para avaliar diferentes dosagens de fitase (*superdosing*), capazes de aumentar a ação da enzima sobre o IP₆ e em seus ésteres (IP₅, IP₄, IP₃, IP₂ e IP₁) até atingir a liberação do mioinositol (COWIESON et al., 2014; BATOOL; SARDAR, 2017).

A suplementação da dieta de aves com o uso de enzima fitase é capaz de aumentar a absorção de minerais, reduzir a excreção de P (DAHIYA; SINGH, 2014; NIÑO-GÓMEZ et al., 2017), promover maior aproveitamento de energia e digestibilidade de aminoácidos, com efeitos sobre a qualidade e características ósseas das aves submetidas à suplementação nutricional (WALK; SANTOS; BEDFORD, 2014). Porém, ainda, há resultados controversos quanto aos efeitos da suplementação nutricional com *superdosing* de fitase em dietas avícolas, o que estimula novas investigações. Possivelmente, grande parte do benefício resultante da *superdosing* de fitase derive da ação do mioinositol que subsequentemente é absorvido e utilizado pelas aves em várias funções biológicas (COWIESON; WILCOCK; BEDFORD, 2011; DELEZIE et al., 2015).

Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar a *superdosing* de fitase sobre o desenvolvimento e crescimento ósseo de frangos de corte alimentados com dietas nutricionalmente adequadas e deficientes em cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na).

5.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina, Brasil, no período entre 1º de junho e 19 de julho do ano de 2017. Os procedimentos usados nesse estudo experimental foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Paraná, setor Palotina, Brasil (Protocolo 24/2017).

Foram alojados 1548 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb 500[®], provenientes de matrizes de cerca de 40 semanas de idade, os quais foram distribuídos de acordo com delineamento inteiramente casualizado com 4 dietas experimentais, 9 repetições, totalizando 36 unidades experimentais com 43 aves cada (13,33 aves/m²).

As dietas experimentais foram divididas em quatro tratamentos, compostas por:

Controle Positivo (CP), com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação, sem adição de enzima.

Controle Negativo (CN), com níveis nutricionais recomendados para cada fase de criação, com exceção do fósforo, cálcio e sódio, sem adição de enzima.

CN com adição de enzima fitase 500 FTU kg⁻¹.

CN com adição de enzima fitase 1000 FTU kg⁻¹.

Nas dietas controle negativo houve redução dos níveis de fósforo, cálcio e sódio (Tabela 1), conforme matriz nutricional da enzima recomendada pelo fabricante. A enzima utilizada foi a 6-fitase, obtida por fermentação de *Escherichia coli* modificada por *Picchia Pastoris* (Precizyon FIT TS 5000, Quimtia S.A. Brasil, 2017), com atividade esperada de 5000 FTU kg⁻¹.

As dietas foram elaboradas à base de milho, farelo de soja, óleo de soja e núcleo basal fabricado pela indústria Quimtia S.A. Brasil (2017), com base nas recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2017) para baixo desempenho. Foram desenvolvidos três núcleos (Inicial, Crescimento e Abate) específicos para cada tratamento e fase de desenvolvimento: ração inicial (1 a 18 dias de idade), ração crescimento (19 a 35 dias de idade) e ração final (36 a 47 dias de idade) (Tabelas 1).

Tabela 8 – Composição das dietas experimentais:

Dieta basal	Inicial		Crescimento		Final	
	Controle Positivo	Controle Negativo	Controle Positivo	Controle Negativo	Controle Positivo	Controle Negativo
INGREDIENTES (kg/t de ração)						
Milho (7.50% Proteína Bruta)	616,50	616,50	640,00	640,00	678,00	678,00
Farelo de soja (46.0% PB)	323,50	323,50	301,00	301,00	268,70	268,70
Óleo de soja	15,00	15,00	21,00	21,00	20,30	20,30
Premix Inicial CP	45,00					
Premix Inicial CN		45,00				
Premix Crescimento CP			38,00			
Premix Crescimento CN				38,00		
Premix Final CP					33,00	
Premix Final CN						33,00
Peso total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
NÍVEIS NUTRICIONAIS - COMPOSIÇÃO CALCULADA						
Proteína Bruta (PB)	200,00	200,00	190,20	190,20	178,00	178,00
Energia Metabolizável (EM) (Kcal/Kg)	2980,91	2980,91	3054,59	3054,59	3101,03	3101,03
Lisina Digestível	11,40	11,40	10,40	10,40	9,70	9,70
Metionina Digestível	5,60	5,60	5,10	5,10	4,70	4,70
Metionina +Cistina Dig.	8,20	8,20	7,60	7,60	7,10	7,10
Treonina Digestível	7,40	7,40	6,80	6,80	6,30	6,30
Triptofano Digestível	2,10	2,10	2,00	2,00	1,80	1,80
Arginina Digestível	12,10	12,10	11,50	11,50	10,60	10,60
Valina Digestível	8,80	8,80	8,10	8,10	7,60	7,60
Cálcio	8,60	7,00	7,50	5,90	6,50	4,90
Fósforo disponível	3,80	2,30	3,40	1,90	2,90	1,40
Sódio	2,10	1,80	2,00	1,70	1,90	1,60
Cloro	2,00	1,50	1,90	1,40	1,80	1,30
Potássio	8,20	8,20	7,80	7,80	7,30	7,30
Mongin	244,38	243,63	233,37	232,63	218,58	217,89

Nível por kg de dietas Iniciais e Crescimento: Vitamina A (9500 UI/kg), vitamina D3 (1900 UI/kg), vitamina E (30 mg/kg), vitamina K3 (2 mg/kg), vitamina B1 (2,51 mg/kg), vitamina B2 (5,86 mg/kg), vitamina B6 (3 mg/kg), vitamina B12 (15 mg/kg), ácido fólico (1 mg/kg), ácido pantotênico (12 mg/kg), Niacina (40 mg/kg), Biotina (0,1 mg/kg), Colina (1652,06 mg/kg), cobre (8 mg/kg), Ferro (60 mg/kg), Iodo (1 mg/kg), manganês (79,80 mg/kg), selênio (0,3 mg/kg), zinco (79 mg/kg).

Nível por kg de dieta Final: Vitamina A (7600 Ui/kg), vitamina D3 (1520 UI/kg), vitamina E (24 mg/kg), vitamina K3 (1,6 mg/kg), vitamina B1 (2 mg/kg), vitamina B2 (4,68 mg/kg), vitamina B6 (2,4 mg/kg), vitamina B12 (12 mg/kg), ácido fólico (0,8 mg/kg), ácido pantotênico (9,6 mg/kg), Niacina (32 mg/kg), Biotina (0,08 mg/kg), Colina (1403,37 mg/kg), cobre (8 mg/kg), Ferro (60 mg/kg), Iodo (1 mg/kg), manganês (79,80 mg/kg), selênio (0,3 mg/kg), zinco (79 mg/kg).

FONTE: Quimtia S.A Brasil (2017).

As aves tiveram livre acesso à água (bebedouros tipo *nipple*) e ração (comedouros do tipo tubular). A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlado por um sistema automatizado. Até a idade de 14d, os frangos receberam 24h de luz, em função do sistema de aquecimento (lâmpada halógena de 300W). No período subsequente, até os 21d de idade, receberam diariamente 16h de luz e 8 h de escuro. Na idade posterior até o final do experimento (47d), receberam 14h de luz e 10h de escuro. O material de cama de aviário foi a maravalha e o programa vacinal (Marek, Gumboro e Bronquite) realizado no incubatório.

Aos 7, 21 e 47 dias de idade, foram abatidas 2 aves por unidade experimental (18 aves/tratamento). Após remoção de todo o tecido aderente da perna e da asa, a tíbia, fêmur e úmero foram pesados e medidos o comprimento e diâmetro, com auxílio de um paquímetro digital (mm). O índice de Seedor (SEEDOR et al., 1991) foi obtido pela divisão do peso dos ossos (mg) pelo seu comprimento (mm).

A tíbia foi submetida ao ensaio de densitometria óssea radiográfica (densidade mineral óssea). Inicialmente, os ossos foram colocados sob o filme fotográfico, todas na posição anteroposterior, e então radiografadas utilizando-se aparelho de raio-X, marca PROCION®, modelo Ion 70x – Coluna Móvel, calibrado, foco 0,8 x 0,8 mm, e tempo de exposição de 0,3 segundo. Esses valores de tensão, corrente e tempo de exposição foram considerados ideais após análises prévias. As radiografias foram processadas em reveladora automática. A leitura das radiografias, para determinação da densidade das peças ósseas, foi realizada utilizando-se a ferramenta histograma do software Adobe Photoshop 8.0. Como referencial radiográfico, nas tomadas radiográficas, utilizou-se escala de alumínio (penetrômetro de alumínio) de 10 degraus com 1(mm) mm de espessura entre um degrau e outro. As leituras densitométricas foram realizadas em seis pontos na região central da imagem radiográfica e em cada degrau da escada de alumínio. Os dados obtidos em valores de cinza foram convertidos em valores relativos à espessura da escada de alumínio (mmAL), indicando a densidade mineral óssea. Quanto maior o valor obtido, maior a radiopacidade e a densidade.

Em seguida, os ossos (tíbia, fêmur e úmero) foram submetidos ao ensaio de flexão à taxa de deformação constante para material visco-elástico, com equipamento de ensaio universal da Marca Brookfield CT3, com célula de carga de 500 kgf, velocidade do cabeçote de 10 mm/seg., para obtenção da força de ruptura óssea (força máxima de quebra óssea) e da elasticidade óssea (distância que a ponta de prova percorreu antes de atingir o pico).

A outra tíbia de cada ave foi cortada na região da epífise e mantida em solução fixadora de formol a 10%. Após a fixação, os ossos foram submetidos ao processo de descalcificação contendo ácido nítrico, fórmico e citrato de sódio e após foram emblocadas em parafina. Cada fragmento foi submetido a cortes semisseriados de 5 µm de espessura e corados em Hematoxilina Férrica de Weigert e Safranina. A captura de imagens foi realizada por meio de um equipamento de scanner. Para a leitura das imagens, foi utilizado um analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 5.2 (Mídia Cibertecnicos) com o objetivo de mensurar tecidos cartilaginoso e ósseo em relação à área total do corte capturado. Para tal, atribuía-se uma cor para a estrutura mensurada a fim de estabelecer o contraste entre os dois tecidos. Através do contraste o analisador de imagens contabilizava o percentual da cor que foi atribuída à estrutura (Figura 1).

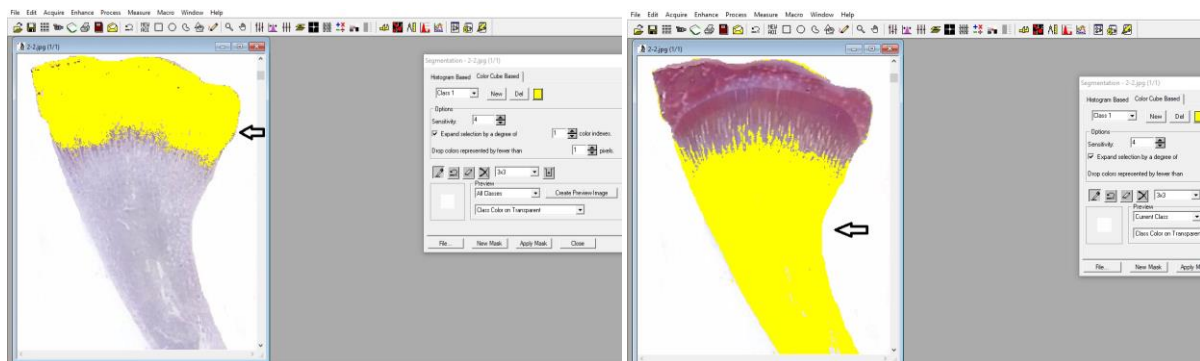


Figura 2 – Procedimento de análise da imagem da tíbia

Os resultados obtidos em cada período-dieta do experimento foram tabulados e analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) do procedimento General Linear Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (2002). Quando significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.3 Resultados e Discussão

Na Tabela 2, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios da densitometria óssea aos 21d e 47d de idade dos frangos. Os menores índices de densitometria óssea foram observados nos frangos que receberam a dieta deficiente em Ca, P e Na em relação aos que receberam as demais dietas. Isso pode ser atribuído à falta de mineralização óssea das aves que consumiram dieta com teores reduzidos dos minerais P, Ca e Na sem adição de fitase.

Houve comportamento semelhante para a relação osso:cartilagem. A menor ($p<0,05$) relação osso:cartilagem foi observada nas tíbias dos frangos de corte que receberam a dieta deficiente aos 21 dias de idade (Tabela 2). Aos 47 dias de idade, houve diferença apenas em relação à dieta controle negativo, que resultou na maior relação osso:cartilagem em comparação com a dieta contendo teores reduzidos dos minerais P, Ca e Na e sem adição de fitase. Essa análise indica a velocidade de substituição do tecido cartilaginoso por tecido ósseo, o que é de grande relevância, considerando a velocidade de deposição de tecido muscular das atuais linhagens de frangos de corte e, portanto, dependentes de um sistema rápido e eficiente de crescimento ósseo.

Para os dados de resistência óssea à quebra, observou-se um perfil de resposta semelhante ao observado para a densitometria óssea. As dietas acrescidas de fitase (500 ou 1000 FTU kg^{-1}) resultaram em maiores valores ($p<0,05$) de resistência óssea em relação a essa mesma dieta, entretanto, isenta de fitase tanto aos sete quanto aos 21 dias. Aos 47d, observou-se esse mesmo resultado, entretanto, o efeito da suplementação de fitase sobre a resistência óssea à quebra foi ainda mais evidente a partir de 21 dias, quando o processo de ossificação já está em fase de maturação. Os ossos das aves, além de serem mais ricos em concentração mineral do que ossos de mamíferos (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2011), mostram um processo de maturação mais intenso, o que pode explicar a resposta positiva frente à suplementação de fitase.

Nessa idade (7d aos 47d), avaliou-se também o úmero, uma vez que é um osso pneumático, provido de cavidades medulares que estão variavelmente deslocadas por espaços cheios de ar que tornam os ossos leves com relação ao seu tamanho e à sua força, o que pode representar risco maior de fraturas durante o processo de apanha, carregamento ou processamento das aves durante os procedimentos de abate e industrialização. Na avaliação da resistência à quebra do úmero, observou-se o mesmo efeito da suplementação de fitase observado para a tíbia e fêmur à idade de abate.

Na avaliação da elasticidade óssea, que representa indiretamente uma menor mineralização óssea, não se observou diferença significativa ($p<0,05$) entre as médias anotadas aos sete dias, o que é explicado pela fase de início de substituição do modelo cartilagosos pelo ósseo. Já aos 21 dias para tíbias e fêmures e também para fêmures aos 47 dias houve diferença ($p<0,05$) para elasticidade, pois as aves que receberam dieta suplementada com *superdosing* de fitase apresentaram menor elasticidade em relação às aves do controle negativo.

De acordo com Józefiak et al. (2010), a adição de fitase aumenta a reatividade dos tecidos à insulina. Esse efeito pode ser associado à ação do mioinositol, que favorece o crescimento dos animais pela estimulação da via da insulina, aumentando a sensibilidade das células. O IGF-1 atua no processo de desenvolvimento do sistema esquelético, estimulando a proliferação e diferenciação dos osteoblastos, a produção de osteocalcina, a síntese de colágeno tipo I e a atividade da fosfatase alcalina (BAYLINK et al., 1993).

Tabela 2 – Densitometria óssea, relação osso:cartilagem, resistência óssea à quebra e elasticidade óssea de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
Densitometria óssea, mmAl						
Tíbia 7 dias	1,72	1,64	1,76	1,67	12,09	0,3324
Tíbia 21 dias	2,12 ^a	1,73 ^c	1,94 ^b	2,02 ^{ab}	8,86	0,0001
Tíbia 47 dias	3,17 ^a	2,68 ^b	3,18 ^a	2,98 ^a	16,09	0,0001
Relação osso:cartilagem						
Tíbia 7 dias	1,52	1,41	1,41	1,74	35,21	0,2854
Tíbia 21 dias	1,76 ^a	1,24 ^b	1,67 ^a	1,68 ^a	30,39	0,0107
Tíbia 47 dias	2,05 ^a	1,60 ^b	1,71 ^{ab}	1,74 ^{ab}	39,90	0,0011
Resistência óssea à quebra, kgf						
Tíbias 7 dias	3,67 ^a	2,33 ^c	3,05 ^b	3,53 ^{ab}	19,78	0,0001
Fêmur 7 dias	5,73 ^a	4,19 ^b	4,42 ^b	5,02 ^{ab}	21,82	0,0002
Tíbias 21 dias	21,09 ^a	13,56 ^c	17,43 ^b	19,15 ^{ab}	17,79	0,0001
Fêmur 21 dias	23,07 ^a	11,84 ^c	19,00 ^b	22,46 ^{ab}	21,54	0,0001
Tíbias 47 dias	38,48 ^a	27,49 ^b	36,19 ^a	37,01 ^a	21,07	0,0001
Fêmur 47 dias	32,37 ^a	18,17 ^b	31,19 ^a	32,05 ^a	17,14	0,0001
Úmero 47 dias	34,01 ^a	27,22 ^b	34,93 ^a	35,54 ^a	24,45	0,0001
Elasticidade, mm						
Tíbias 7 dias	2,39	2,15	2,23	2,22	24,54	0,6160
Fêmur 7 dias	2,03	2,06	2,01	1,85	37,64	0,8355
Tíbias 21 dias	3,27 ^b	4,44 ^a	3,77 ^b	3,46 ^b	16,40	0,0001
Fêmur 21 dias	2,72 ^{ab}	3,22 ^a	3,01 ^{ab}	2,65 ^b	20,52	0,0196
Tíbias 47 dias	4,05	4,21	4,25	4,24	18,80	0,5991
Fêmur 47 dias	3,33 ^{ab}	3,65 ^a	3,23 ^{ab}	3,12 ^b	26,26	0,0313
Úmero 47 dias	3,28	3,62	3,28	3,24	26,26	0,1339

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey (p<0,05).

Comumente, as médias relativas à resistência e elasticidade óssea evoluem de maneira proporcional ao crescimento dos frangos de corte e em conformidade com o nível nutricional ofertado na dieta, o que foi observado no presente experimento, cujos resultados encontram similaridade com os achados por Puzio, Bienko e Radzki (2001). Esses autores constataram que a resistência à ruptura óssea dos fêmures e úmeros foi melhorada pela adição combinada

de vitamina D₃ e 750 FTU kg⁻¹ de fitase à dieta, na comparação com os frangos do controle negativo alimentados com dieta reduzida de teores de P. Entretanto, contrariam os achados por Kocabağlı (2001) que, ao aumentar os níveis de fitase na dieta de 300 FTU kg⁻¹ para 700 FTU kg⁻¹, não observou efeito positivo na resistência à quebra das tíbias em frangos de corte.

No presente experimento, o aumento da resistência à quebra óssea está relacionado à adequada suplementação mineral ofertada durante a fase de crescimento, o que gerou equilíbrio na homeostase mineral e desenvolvimento apropriado da massa óssea dos frangos alimentados com dietas suplementadas com fitase. A formação óssea adequada é fundamental, pois o desenvolvimento muscular e o desempenho zootécnico das aves são totalmente dependentes de um bom suporte ósseo.

São inquestionáveis os efeitos adversos do rápido crescimento corporal do frango de corte sobre o sistema locomotor. Esses problemas preocupam desde o ponto de vista do bem-estar animal (DANBURY et al., 2000), até perdas econômicas pelo aumento da mortalidade (THORP, 1994). Em uma pesquisa desenvolvida em 1993 nos EUA, estimou-se que perdas causadas por problemas locomotores em frangos de corte devido à mortalidade, refugos e condenações no abate representaram 3,2% (SULLIVAN, 1994).

Aos 7 dias de idade, observou-se diferença ($p < 0,05$) para as medidas ósseas apenas no comprimento dos fêmures (Tabela 3). Constatou-se maior comprimento dos fêmures para a dieta contendo 1000 FTU kg⁻¹ de fitase em relação à dieta controle negativo.

Aos 21 dias, as aves suplementadas com 1000 FTU kg⁻¹ de fitase apresentaram maior comprimento de fêmures em relação ao controle negativo. Para diâmetro de fêmures, os frangos de corte suplementados com 500 e 1000 FTU kg⁻¹ apresentaram menor ($p < 0,05$) diâmetro, quando comparadas com o controle negativo.

Aos 47 dias, os frangos suplementados com 500 e 1000 FTU kg⁻¹ de fitase demonstraram maior ($p < 0,05$) comprimento e índice de Seedor de tíbias, quando comparados com o controle negativo. Nessa idade, índice de Seedor e peso de fêmures também foram significativas ($p < 0,05$), porém iguais entre as aves que consumiram dietas deficientes em P, Ca e Na e dietas suplementadas com fitase.

Tabela 3 – Medidas ósseas de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com fitase

	Controle Positivo	Controle Negativo	Fitase 500 FTU kg ⁻¹	Fitase 1000 FTU kg ⁻¹	CV, %	Valor de p
Medidas ósseas aos 7 dias						
Peso tíbias, g	1,52	1,45	1,48	1,45	14,40	0,6953
Seedor tíbias	32,70	31,25	31,97	31,31	12,65	0,6612
Comprimento tíbia, mm	46,39	46,21	46,23	46,23	3,05	0,9784
Diâmetro tíbias, mm	2,96	2,86	2,98	2,93	8,62	0,5405
Peso fêmur, g	0,82	0,75	0,85	0,76	18,92	0,1491
Seedor fêmur	24,09	23,15	25,47	22,51	17,90	0,1988
Comprimento fêmur, mm	33,78 ^a	32,33 ^b	33,30 ^{ab}	33,68 ^a	4,51	0,0197
Diâmetro fêmur, mm	3,29	3,23	3,20	3,25	9,46	0,8615
Medidas ósseas aos 21 dias						
Peso tíbias, g	10,21	10,14	9,99	10,02	14,47	0,9656
Seedor tíbias	132,63	135,55	136,50	130,02	13,33	0,6933
Comprimento tíbia, mm	76,89 ^a	74,90 ^{ab}	73,04 ^b	77,03 ^a	5,59	0,0178
Diâmetro tíbia, mm	5,94	6,12	6,04	5,97	10,28	0,8294
Peso fêmur, g	6,79	6,82	6,49	6,68	13,71	0,6967
Seedor fêmur	125,64	129,63	122,93	120,57	12,85	0,3664
Comprimento fêmur, mm	53,99 ^{ab}	52,71 ^b	52,82 ^b	55,36 ^a	5,03	0,0147
Diâmetro fêmur, mm	7,36 ^{ab}	7,83 ^a	6,81 ^b	7,03 ^b	9,83	0,0004
Medidas ósseas aos 47 dias						
Peso tíbias, g	30,24 ^a	28,30 ^b	30,58 ^a	29,92 ^{ab}	10,78	0,0057
Seedor tíbias	259,23 ^a	246,17 ^b	258,28 ^a	253,15 ^a	9,65	0,0489
Comprimento tíbias, mm	116,94 ^{ab}	114,73 ^b	118,25 ^a	118,07 ^a	4,41	0,0053
Diâmetro tíbias, mm	11,38	11,53	11,55	11,47	14,21	0,9316
Peso fêmur, g	20,34 ^a	18,61 ^b	19,65 ^{ab}	19,74 ^{ab}	11,19	0,0026
Seedor fêmur	237,61 ^a	220,63 ^b	229,94 ^{ab}	230,99 ^{ab}	9,45	0,0037
Comprimento fêmur, mm	85,50	84,32	85,41	85,34	4,11	0,3262
Diâmetro fêmur, mm	11,30	11,11	11,24	11,42	9,03	0,5369
Peso úmero, g	14,42	13,27	14,45	14,15	18,74	0,1313
Seedor úmero	184,81	189,22	183,43	192,68	39,81	0,9420
Comprimento úmero, mm	78,17	75,24	78,65	76,57	9,26	0,1365
Diâmetro úmero, mm	9,13	9,16	9,32	9,09	12,78	0,6558

Médias na linha com letras distintas indicam diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

A melhoria dos índices densitometria óssea, resistência óssea à quebra, elasticidade e medidas ósseas, observada no presente experimento, pode ser atribuída aos efeitos da fitase na desfosforilação do ácido fítico em seus ésteres menores de fosfato de mioinositol (IP5 ao IP1), liberando o seu conteúdo de fósforo para absorção, e pela redução dos seus efeitos antinutricionais (BAYLINK et al., 1993; BRADBURY et al., 2016; SOMMERFEDL et al., 2018). No entanto, a redução da elasticidade óssea observada nas aves suplementadas com *superdosing* de fitase pode ser atribuída aos benefícios extrafosfóricos da quebra do ácido

fítico com liberação do mioinositol, com possíveis efeitos vitamínicos-lipotrópicos, como na regulação da morfogênese e histogênese das células, manutenção da estrutura das membranas celulares, síntese de lipídeos e crescimento celular (JUNQUEIRA et al., 2011; LEE et al., 2017). Observou-se, portanto, que a adição de fitase à dieta com reduzidos níveis de P, Na, Ca restabeleceu os níveis nutricionais da dieta, pela quebra do ácido fítico, comprovado pelo aumento dos parâmetros de qualidade óssea avaliados, e com um benefício considerável de redução nos custos das rações utilizadas no presente experimento.

5.4 Conclusão

A suplementação de fitase (500 e 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na proporcionou melhores índices de densitometria óssea aos 21 e 47 dias, em relação às aves que receberam somente a dieta deficiente.

As aves que consumiram dietas suplementadas com fitase apresentaram também maior resistência óssea à quebra, em relação ao controle negativo em todo o período do experimental, porém iguais aos das aves que receberam dieta com níveis nutricionais adequados.

A menor ($p < 0,05$) relação osso:cartilagem foi observada aos 21 dias de idade nas tíbias dos frangos de corte que receberam a dieta deficiente em P, Ca e Na.

As aves suplementadas com 1000 FTU kg⁻¹ de fitase apresentaram redução da elasticidade óssea de fêmur aos 21 e 47 dias e aumento do comprimento do fêmur aos 7 e 21 dias, em comparação as aves do controle negativo.

5.5 Referências

- ADEOLA, O.; COWIESON, A.J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- ADEOLA, O.; SANDS, J.S. Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. **Journal of Animal Science**, v. 18, n. 14 (E.Suppl. 2), p. 78-85, 2003.
- AHMED, F.; RAHMAN, M.S.; AHMED, S.U. et al. Performance of broiler on phytase supplemented soybean meal based diets. **International Journal of Poultry Science**, v.3, n.4, p. 266-271, 2004.

- BATOOL, S.; SARDAR, F. Biotechnological production and applications of phytases for removal of phosphorus from environment. **Bulletin of Environmental Studies**, v. 2, n. 1, p. 24-36, 2017.
- BAYLINK, D.J.; FINKELMAN, R.D.; MOHAN, S. Growth factors to stimulate bone formation. **Journal Bone Mineral Research**, v.8, n. suppl. 2, p.565-572, 1993. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbmr.5650081326>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- BRADBURY, E.J.; WILKINSON, S.J.; CRONIN, G.M. et al. Evaluation of the effect of a highly soluble calcium source in broiler diets supplemented with phytase on performance, nutrient digestibility, foot ash, mobility and leg weakness. **Animal Production Science**, v. 57, n. 10, p. 2016-2026, 2016. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/AN/AN16142>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- COWIESON, A.J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P. et al. Possible involvement of *myo*-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. **Animal Production Science**, v. 55, n. 6, p. 710-719, 2014. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1280378>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- COWIESON, A.J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M.R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v. 67, n. 2, p. 225-236, 2011.
- COWIESON, A.J., SINGH, D.V.; ADEOLA, O. Prediction of ingredient quality and the effect of a combination of xylanase, amylase, protease and phytase in the diets of broiler chicks. Energy and nutrient utilization. **British Poultry Science**, v.47, p.490–500, 2006. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1468443>>. Acesso em: 29 jan. 2019.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; REDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.
- DAHIYA, S.; SINGH, N. Isolation and biochemical characterization of a novel phytase producing bacteria *Bacillus cereus* isolate MTCC 10072. **International Journal of Microbial Resource Technology**, v.2, n. 2, p. 1-5, 2014.
- DANBURY, T.C., WEEKS, C.A. CHAMBERS, J. P. et al. Self-selection of the analgesic drug carprofen by lame broiler chickens. **Veterinary Record**, v. 11, n. 146, p.307–311. 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766114>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- DELEZIE. E.; BIERMAN, K.; NOLLET, L. 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. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 2, p. 115-126, 2015.
- FRANDSON, R.D.; WILKE, W.L.; FAILS, A.D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2011.

- JÓZEFIAK, D.; PTAK, A.; KACZMAREK, S. ET AL. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. **Poultry Science**, v.89, n.9, p.1939-1946, 2010.
- JUNQUEIRA, O.M.; DUARTE, K.F.; ASSUENA, V. et al. Effect of phytase supplementation on performance, bone densitometry and carcass yield in broilers chicks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, PR, v. 33, n. 3, p. 301-307, 2011.
- KNOWLES, T.G., KESTIN, S.C. HASLAM, S.M. et al. Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. **PLoS One**, v. 3, n. 2, p. e1545. 2008.
- KOCABAĞLI, E. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Turkish Journal of Veterinary and Animal**, v. 25, p. 797-802, 2001.
- LEE, S.A.; NAGALAKSHMI, D.; RAJU, V.L.N. M. et al. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralization in broilers. **Animal Nutrition**, v. 3, n.3, p. 247-251, 2017.
- NIÑO-GÓMEZ, D.C.; RIVERA-HOYOS, C.M.; MORALES-ÁLVAREZ, E.D. et al. “In Silico” characterization of 3-phytase a and 3-phytase b from *Aspergillus niger*. **Enzyme Research**, 2017.
- PUZIO, I.; BIENKO, M.; RADZKI, R.P. The effects of dietary phytase and 1,25(OH)₂D₃ on growth and strength of bones in broiler chickens at day 21 of life. **Journal of Animal Feed Science**, v. 20, n. 2 (Suppl), p 291–296, 2001.
- QUIMTIA S.A. **Fábrica de ração, premixes e aditivos**: site institucional. Colombo, PR, BR. Disponível em: <<https://quimtia.com/pb/productos/>>. Acesso em: 20 jun. 2017.
- RAVINDRAN, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 628-636, 2013.
- RAVINDRAN, V.; MOREL, P.; PARTRIDGE, G. et al. Influence of an *Escherichia coli* derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poultry Science**, v. 85, n. 1, p. 82-89, 2006.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- SAS. Statistical Analysis System Institute Inc. **Visual statistics** (software). Cary, NC, U.S, 2002.
- SEEDOR, J.G. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 4, p.265-270, 1993.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, G. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, n. 1-2, p.1-41, 2007.

- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. et al. Influence of dietary phytate and exogenous phytase on amino acid digestibility in poultry: a review. **Journal of Poultry Science**, v. 43, n. 2, p.89-103, 2006.
- SINGH, P.K.; KHATTA, V.K.; THAKUR, R.S. et al. Effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed wheat based diets; fed maize and wheat based diets with different levels of non-phytate phosphorus. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 11, p. 1642-1649, 2003.
- SOMMERFEDL, V.; KÜNZEL, S.; SCHOLLENBERG, M. et al. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 3, p. 920-929, 2018.
- SULLIVAN, T.W. Skeletal problems in poultry skeletal problems in poultry: Estimated Annual Cost and descriptions. **Poultry Science**, v. 73, n. 6, p. 879–882, 1994.
- THORP, B.H. Skeletal disorders in the fowl: a review. **Avian Pathology**, v. 23, n. 2, p.203-236, 1994.
- TIZZIANI, T.; DONZELE, R.F.M.O.; DONZELE, J.L. et al. Available phosphorus levels in diets supplemented with phytase for male broilers aged 22 to 42 days kept in a high-temperature environment. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 2, p. 48-55, 2016.
- TUKEY, J.W. **The problem of multiple comparisons**. Mimeographs Princeton University, Princeton, N.J., 1953.
- VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 3-14. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022904000870?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- 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, n. 5, p. 1172-1177, 2014.
- YU, S.; COWIENSON, A.; GILBERT, C. et al. 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, n. 6, p. 1824-1832, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As aves que consumiram dietas suplementadas com fitase apresentaram desempenho produtivo (ganho de peso, consumo de ração e peso vivo) superior ao das aves não suplementadas durante o período de criação (1d aos 47d de idade). A suplementação com fitase (500 FTU ou 1000 FTU kg⁻¹) nas dietas das aves melhorou os pesos absolutos de carcaça, cortes comerciais e deposição de gordura abdominal, em comparação com as aves não suplementadas.

As dietas suplementadas com 500 FTU kg⁻¹ de fitase apresentaram melhoria na energia metabolizável aparente em comparação com a dieta com níveis reduzidos de P, Ca e Na.

As aves suplementadas com fitase apresentaram redução na excreção de fitato e fósforo, e a suplementação com *superdosing* de fitase reduziu a excreção de Ca nas fezes.

A suplementação com fitase nas dietas melhorou o coeficiente de retenção de fitato, fósforo, cálcio e sódio.

A suplementação de fitase (500 ou 1000 FTU kg⁻¹) em dietas deficientes em P, Ca e Na resultou em melhores índices de densitometria óssea aos 21 e 47 dias de idade, em comparação a dieta deficiente (controle negativo).

As aves que consumiram dietas suplementadas com fitase apresentaram maior resistência óssea à quebra, em relação ao controle negativo em todo o período do experimento, porém iguais aos das aves que receberam dieta com níveis adequados.

As aves suplementadas com *superdosing* de fitase apresentaram redução da elasticidade óssea de fêmur aos 21 e 47 dias, em comparação as aves do controle negativo.

O comprimento de fêmur aos 7 e 21 dias aumentou nas aves que consumiram dietas suplementadas com *superdosing* de fitase, em comparação ao controle negativo.

Os resultados do presente experimento demonstram que inclusão de fitase (500 ou 1000 FTU kg⁻¹) nas dietas deficientes em P, Ca e Na para frangos de corte foi eficaz no reestabelecimento dos níveis nutricionais das dietas, demonstrado pela melhoria no desempenho produtivo das aves. Além disso, foi possível se observar alguns resultados acima do esperado, o que pode ser atribuído aos possíveis efeitos extrafosfóricos da *superdosing* de fitase. Pode-se concluir também que a suplementação com fitase apresentou redução significativa nos custos de ração e nos níveis de excreção de fósforo, contribuindo com redução na contaminação ambiental.

Novos estudos com doses crescentes de fitase (acima de 1000 FTU kg⁻¹) devem ser desenvolvidos, na busca de resultados ainda mais expressivos sobre o desempenho produtivo, econômico e impacto ambiental.

Estes conceitos são muito importantes considerando que a indústria avícola moderna está cada vez mais comprometida com as questões ambientais, de segurança alimentar e sustentabilidade.

Referências

- ABDEL-MEGEED, A.; TAHIR, A. Reduction of phosphorus pollution from broilers waste through supplementation of wheat based broilers feed with phytase. **Journal of Chemistry**, article ID 867014, p. 1-3, 2015.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A.J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- ADEOLA, O.; SANDS, J.S. Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. **Journal of Animal Science**, v. 18, n. 14 (E.Suppl.2), p. 78-85, 2003.
- AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M. et al. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, 103-114, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199001224>>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- AHMED, F.; RAHMAN, M.S.; AHMED, S.U. et al. Performance of broiler on phytase supplemented soybean meal based diets. **International Journal of Poultry Science**, v.3, n.4, p. 266-271, 2004.
- ALMEIDA, M.V.; SILVA, A.D.; SOUZA, M.V. et al. A cascata dos fosfoinosítídeos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 105-111, 2003.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16th ed. Arlington, USA: AOAC, 1995.
- APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H.L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1140–1148, 2003.
- AUGSPURGER, N.R.; BAKER, D.H. High dietary phytase levels maximize phytate phosphorus utilization but do not affect protein utilization in chicks fed phosphorus or amino acid deficient diets. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 4, p. 1100-1107, 2004.
- AUGSPURGER, T.; KELLER, A.E.; BLACK, M.C. et al. Water quality guidance for protection of freshwater mussels (Unionidae) from ammonia exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 2569-2575, 2003.
- BARADARAN, N.; SHAHIR, M.H.; KERMANI, Z.A. et al. Effects of non-phytate phosphorus starter diet on subsequent growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 1, p. 192-198, 2013.

- BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; BONATO, M.A. et al. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1497-1502, 2012.
- BATOOL, S.; SARDAR, F. Biotechnological production and applications of phytases for removal of phosphorus from environment. **Bulletin of Environmental Studies**, v. 2, n. 1, p. 24-36, 2017.
- BAYLINK, D.J.; FINKELMAN, R.D.; MOHAN, S. Growth factors to stimulate bone formation. **Journal Bone Mineral Research**, v.8, n. suppl. 2, p.565-572, 1993. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbmr.5650081326>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. [Books. Google] Oxfordshire: UK, 2001.
- BEIKI, M.; HASHEMI, S.M.; YAGHOOBFAR, A. The use of phytase and low phosphorus levels in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Journal of Animal and Poultry Sciences**, v. 2, n. 2, p. 48-54, 2013.
- BENEVIDES, C.M.J.; SOUZA, M.V.; SOUZA, R.D.B. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.
- BRADBURY, E.J.; WILKINSON, S.J.; CRONIN, G.M. et al. Evaluation of the effect of a highly soluble calcium source in broiler diets supplemented with phytase on performance, nutrient digestibility, foot ash, mobility and leg weakness. **Animal Production Science**, v. 57, n. 10, p. 2016-2026, 2016. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/AN/AN16142>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- CAMDEN, B.J.; MORELL, P.C.H.; THOMAS, D.V. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, n. 3, p. 289-291, 2001.
- CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A.S.; FIALHO, E.T. et al. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1147-1156, 2003.
- COWAN, W.D. Understanding the manufacturing, distribution, application, and overall quality of enzymes in poultry feeds. **Journal Applied Poultry Research**, v.2, p. 93-99. 1993.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.
- COWIESON, A.J., SINGH, D.V.; ADEOLA, O. Prediction of ingredient quality and the effect of a combination of xylanase, amylase, protease and phytase in the diets of broiler chicks. Energy and nutrient utilization. **British Poultry Science**, v.47, p.490-500, 2006. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1468443>>. Acesso em: 29 jan. 2019.

- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v.85, p.878-885, 2006.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Supplementation of corn-soy-based diets with an *Escherichia coli*-derived phytase: effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. **Poultry Science**, v. 85, n. 8, p.1389–1397, 2006a.
- COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Metabolism and nutrition: carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, v. 84, n. 12, p. 1860-1870, 2006.
- COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H. Influence of dietary phytic acid an source of microbial phytase on ileal endogenous amino acid flows in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, n. 11, p. 2287-2299, 2008.
- COWIESON, A.J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M.R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v. 67, n. 2, p. 225-236, 2011.
- COWIESON, A.J.; PTAK, A.; MCKOWIAK, P. et al. The effect of microbial phytase and *myo*-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. **Poultry Science**, v. 92, n. 8, p. 2124-2134, 2013.
- COWIESON, A.J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P. et al. Possible involvement of *myo*-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. **Animal Production Science**, v. 55, n. 6, p. 710-719, 2014. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1280378>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- COWIESON, A.J.; RUCKEBUSCH, J.P.; KNAP, I. et al. Phytate-free nutrition: a new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 222, p. 180-189, 2016.
- COWIESON, A.J.; RUCKEBUSCH, J.P.; SORBARA, O.B. et al. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 182-194, 2017.
- DAHIYA, S.; SINGH, N. Isolation and biochemical characterization of a novel phytase producing bacteria *Bacillus cereus* isolate MTCC 10072. **International Journal of Microbial Resource Technology**, v.2, n. 2, p. 1-5, 2014.
- DANBURY, T.C., WEEKS, C.A. CHAMBERS, J. P. et al. Self-selection of the analgesic drug carprofen by lame broiler chickens. **Veterinary Record**, v. 11, n. 146, p.307–311. 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766114>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- DELEZIE, E.; BIERMAN, K.; NOLLET, L. 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. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 2, p. 115-126, 2015.

- DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H. et al. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 878-896, 2015.
- EC. Enzyme Commission. **Enzyme nomenclature database**. 2019. Disponível em: <<https://enzyme.expasy.org/>>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- ENGELEN, A.J.; VAN DER HEEFT, F.C.; RANDSONDORP, P.H. et al. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v.77, n. 3, p.760-764, 1994.
- FRANDSON, R.D.; WILKE, W.L.; FAILS, A.D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2011.
- GAUTIER, A.E.; WALK, C.L.; DILGER, R.N. Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. **Poultry Science**, v, 97, n. 1, p. 211-218, 2018.
- GEHRING, C.K.; BEDFORD, M.R.; DOZIER, W.A. Effects of step-up and step-down phytase regimens on performance and processing yields of male broilers from 1 to 35 d of age. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 2, p. 252-259, 2014.
- GREINER, R.; CARLSSON, N.; ALMINGER, M.L. Stereospecificity of myo-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of *Escherichia coli*. **Journal Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 53–62, 2000.
- GUPTA, V.K.; SHARMA, G.D.; TUOHY, M.G.; GAUR, R. (Org.). **The handbook of microbial bioresources**. 2016. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?isbn=178064521X>>. Acesso em: 9 ago. 2018.
- JÓZEFIAK, D.; PTAK, A.; KACZMAREK, S. et al. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. **Poultry Science**, v. 89, n. 9, p. 1939-1946, 2010.
- JUNQUEIRA, O.M.; DUARTE, K.F.; ASSUENA, V. et al. Effect of phytase supplementation on performance, bone densitometry and carcass yield in broilers chicks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 33, n. 3, p. 301-307, 2011.
- KARADAS, F.; PIRGOZLIEV, V.; PAPPAS, A.C. et al. Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the liver of growing broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 19, n. 4, p. 519-526, 2010.
- KATHIRVELAN, V.; JANANI, S.R.; RAMES, J. et al. Significance of usage of phytase in poultry nutrition. **International Journal of Science, Environment ISSN 2278-3687 (O) and Technology**, v. 4, n. 4, p. 1214-1217, 2015.
- KEROVUO, J.; ROUVINEN, J.; HATZACK, F. Hydrolysis of phytic acid by *Bacillus* phytase. **Biochemical Journal**, v. 352, n. pt3, p. 623–628, 2000.

- KHAN, S.A.; CHAUDHRY, H.R.; BUTT, Y.S. et al. The effect of phytase enzyme on the performance of broiler flock (a-review). **Poultry Science Journal**, v. 1, n. 2, p. 117-125, 2013.
- KIES, A.K.; DE HIRNGE, L.H.; HEMME, P.A. et al. Interaction between protein, phytate, and microbial phytase. In vitro studies. **Journal of Agricultural and Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1753-1758, 2006. Disponível em: <<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/352266>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- KNOWLES, T.G., KESTIN, S.C. HASLAM, S.M. et al. Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. **PLoS One**, v. 3, n. 2, p. e1545. 2008.
- KOCABAĞLI, E. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Turkish Journal of Veterinary and Animal**, v. 25, p. 797-802, 2001.
- LAN, G.Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. et al. Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 81, n.10, p.1522-1532, 2002.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S. et al. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n. 2, p.207-216, 2007.
- LEE, S.A.; DUNNE, E.; FEBERY, P. et al. Superdosing phytase reduces real-time gastric pH in broilers and weaned piglets. **British Poultry Science**, v. 59, n. 3, p. 330-339, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29432032>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- LEE, S.A.; NAGALAKSHMI, D.; RAJU, V.L.N. M. et al. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralization in broilers. **Animal Nutrition**, v. 3, n.3, p. 247-251, 2017.
- LEE, S.A; BEDFORD, M.R. Inositol-an effective growth promotor? **Worlds Poultry Science Journal**, v.72, n.4, p.743-760, 2016.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. 3rd ed. England: Nottingham. University Press, 2005.
- LEI, X.G.; PORRES, J.M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, v. 25, n. 21, p.1787-1794, 2003.
- LEITE, P.R.S.C.; MENDES, F.R.; PEREIRA, M.L.R. et al. Limitações da utilização de soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15; p. 1138-1157, 2012.
- LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R. et al. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.8, p.1768-1773, 2010.

- LIU, N.; RU, Y.J.; LI, F.D. et al. Effect of diet containing phytase and phytase on the activity and Messenger ribonucleic acid expression of carbohydrase and transporter in chickens. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 12, p. 3432-3439, 2008.
- MALAJOVICH, A.M. **Biocologia**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Ensino e Divulgação, 2016.
- MANOBHAVAN, M.; ELANGO VAN, A.V.; SRIDHAR, M. et al. Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 93-100, 2016. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/4785574>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, M.W. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. **Agricultural Experimental Station Research Report**, v.7, p.3-11, 1965. [Books. Google].
- MENEGHETTI, C.; BERTECHINI, A.G.; RODRIGUES, P.B. et al. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 624-632, 2011.
- MONTEIRO, P.S.; MELO, R.R.; TAVARES, M.P. et al. Otimização da produção, caracterização e avaliação da fitase de *Rhizopus stolonifer* na hidrólise de fitato em ração animal. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.18 n. 2-4, p.117-132, 2012.
- NAVES, L.P.; RODRIGUES, P.N.; MENEGHETTI, C. et al. Efficiency of microbial phytases in diets formulated with different calcium:phosphorus ratios supplied to broilers from 35 to 42 days of age. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n.1, p. 446-453, 2016.
- NIELSEN, P.H.; PORTOPPIDAN, K.; SORBARA, J.O.B. **Making feed more sustainable: how feed enzymes are contributing to the UN's Global Goals for Sustainable Development**. 2017. Disponível em: <https://www.novozymes.com/-/media/Project/Novozymes/Website/website/document-library/Reports_White-Papers/Making-feed-more-sustainable_article-draft-3.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2018.
- NIÑO-GÓMEZ, D.C.; RIVERA-HOYOS, C.M.; MORALES-ÁLVAREZ, E.D. et al. "In Silico" characterization of 3-phytase a and 3-phytase b from *Aspergillus niger*. **Enzyme Research**, article ID 9746191, p. 23, 2017.
- OMAR, J.M.A; SABHA, R. Effects of phytase on broilers performance and body status of phosphorus. **Hebron University Research Journal**, v. 4, n. 1, p. 55–66, 2009.
- ONU. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Objetivos para o desenvolvimento sustentável**. 2003. Disponível em: <<https://plan.org.br/blog/2017/02/conheca-objetivos-desenvolvimento-sustentavel>>. Acesso em: 20 jun. 2018.
- PEREIRA, R.; MENTEN, J.F.M.; ROMANO, G.G. et al. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.1, p.137-144, 2012.

- PETER, C.M.; BAKER, D.H. Microbial phytase does not improve protein-amino acid utilization in soybean meal fed to young chickens. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1792-1797, 2001.
- PIRGOZLIEV, V.; ODUGUWA, O.; ACAMOVIC, T. et al. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. **British Poultry Science**, v, 49, n. 2, p. 144-154, 2008.
- PTAK, A.; JÓZEFIA, N.; KIERONCZY, B. et al. Effect of different phytases on the performance, nutrient retention and tibia composition in broiler chickens. **Archiv Tierzucht**, v. 56, n, 104, p. 1028-1038, 2013.
- PUZIO, I.; BIENKO, M.; RADZKI, R.P. The effects of dietary phytase and 1,25(OH)₂D₃ on growth and strength of bones in broiler chickens at day 21 of life. **Journal of Animal Feed Science**, v. 20, n. 2 (Suppl), p 291–296, 2001.
- QUIMTIA S.A. **Fábrica de ração, premixes e aditivos**: site institucional. Colombo, PR, BR. Disponível em: <<https://quimtia.com/pb/productos/>>. Acesso em: 20 jun. 2017.
- RAPOPORT, B.S.; LEVA, E.; GUEST, G.M. **Phytase in plasma and erythrocytes of various species of vertebrates**. 1941. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/139/2/621.full.pdf>>. Acesso em: 9 ago. 2018.
- RAVINDRAN, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 628-636, 2013.
- RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G. et al. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and nonphytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v. 41, n. 2, p. 193-200, 2000.
- RAVINDRAN, V.; MOREL, P.; PARTRIDGE, G. et al. Influence of an *Escherichia coli* derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poultry Science**, v. 85, n. 1, p. 82-89, 2006.
- RAVINDRAN, V.; SELLE, P.; RAVINDRAN, G. et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, n. 3, p. 338-344, 2001.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: UFV/ Departamento de Zootecnia, 2011.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- ROSTAMI, H.; GIRI, A. An overview on microbial phytase and its biotechnological applications. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research** [online], v. 4, n. 1, p. 62-71, 2013.

- SAKOMURA, N.Z.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2. ed. Jaboticabal, SP: Funep, 2016.
- SANTOS, L.M.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Níveis de cálcio e fósforo disponível em rações com fitase para frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 11, p. 2476-2485, 2011.
- SAS. Statistical Analysis System Institute Inc. **Visual statistics** (software). Cary, NC, U.S., 2002.
- SCOTT, T.A.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F.G. The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 393–401, 2001.
- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. et al. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, cooper and zinc in broilers chickens fed corn-soybean diets. **International Journal of Poultry Science**, v.75, n. 6, p.729-736, 1996.
- SEEDOR, J.G. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 4, p.265-270, 1993.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, n. 1-2, p.1-41, 2007.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. et al. Influence of dietary phytate and exogenous phytase on amino acid digestibility in poultry: a review. **Journal of Poultry Science**, v. 43, n. 2, p.89-103, 2006.
- SHIRLEY, R.B.; EDWARDS, H.M.JR. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 671-680, 2003.
- SIMONS, P.C.M.; VERSTEEGH, H.A J.; JONGBLOED, A.W. et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **The British Journal of Nutrition**, v. 64, n. 2, p. 525–540, 1990.
- SINGH, N.K.; JOSHI, D.K.; GUPTA, R.K. Isolation of phytase producing bacteria and optimization of phytase production parameters. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 6, n. 5, p. e6419, 2013.
- SINGH, P.K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, n. 4, p. 553-580, 2008.
- SINGH, P.K.; KHATTA, V.K.; THAKUR, R.S. et al. Effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed wheat based diets; fed maize and wheat based diets with different levels of non-phytate phosphorus. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 11, p. 1642-1649, 2003.
- SKLAN, D.; NOY, Y. Catabolism and deposition of amino acids in growing chicks effect of dietary supply. **Poultry Science**, v. 83, n. 6, p. 952-961, 2004.

- SMITH, M.O. Parts yield of broilers reared under cycling high temperatures. **Poultry Science**, v.72, n. 6, p.1146-1150, 1993.
- SOMMERFEDL, V.; KÜNZEL, S.; SCHOLLENBERG, M. et al. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 3, p. 920-929, 2018.
- SOUSA, J.P.L.; ALBINO, L.F.T.; VAZ, R.G.M.V. et al. The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive, bone, and blood biochemistry characteristics. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 1, p. 69-76, 2015.
- SULLIVAN, T.W. Skeletal problems in poultry skeletal problems in poultry: Estimated Annual Cost and descriptions. **Poultry Science**, v. 73, n. 6, p. 879–882, 1994.
- THORP, B.H. Skeletal disorders in the fowl: a review. **Avian Pathology**, v. 23, n. 2, p.203-236, 1994.
- TIZZIANI, T.; DONZELE, R.F.M.O.; DONZELE, J.L. et al. Available phosphorus levels in diets supplemented with phytase for male broilers aged 22 to 42 days kept in a high-temperature environment. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 2, p. 48-55, 2016.
- TORRES, D.M.; TEIZEIRA, A.S.; RODRIGUES, P.B. et al. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Agrotecnologia**, v.27, n. 6, p.1401-1408, 2003.
- TUKEY, J.W. **The problem of multiple comparisons**. Mimeographs Princeton University, Princeton, N.J., 1953.
- VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 3-14. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022904000870?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- WALK, C.L.; BEDFORD, M.R.; SANTOS, T.T. et al. Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**, v, 92, n. 3, p. 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, n. 5, p. 1172-1177, 2014.
- WOYENGO, T.A.; NYACHOTI, C.M. Review: anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry: current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, n. 1, p. 9-21, 2013.
- WU, D.; WU, S.B. CHOCT, M. et al. Comparison of 3 phytases on energy utilization of a nutritionally marginal wheat-soybean meal broiler diet. **Poultry Science**, v. 94, n. 11, p. 2670-2876, 2015.

- YI, Z.; KORNEGAY, E.T.; DENBOW, D.M. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poults fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v. 75, n. 8, p. 979-990, 1996a.
- YI, Z.; KORNEGAY, E.T.; RAVINDRAN, V. et al. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, v. 75, n. 8, p. 240-249, 1996b.
- YU, S.; COWIENSON, A.; GILBERT, C. et al. 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, n. 5, p. 1824-1832, 2012.
- ZHANG, X.; ROLAND, D.A.; MCDANIEL, G.R. et al. Effect of natuphos® phytase supplementation to feed on performance and ileal digestibility of protein and amino acids of broilers. **Poultry Science**, v. 78, n. 11, p. 1567-1572, 1999.
- ZYLA, K.; DULINSKI, R.; PIERZCHALSKA, M. et al. Phytases and myo-inositol modulate performance, bone mineralization and alter lipid fractions in the serum of broilers. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 22, n. 1, p. 56-61, 2013.