

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TESE

**EFICIÊNCIA DE FITASE EM DIETAS COM BAIXO E ALTO TEOR DE FÓSFORO
FÍTICO PARA FRANGOS DE CORTE**

Aiane Aparecida da Silva Catalan

Pelotas, 2015

AIANE APARECIDA DA SILVA CATALAN

**EFICIÊNCIA DE FITASE EM DIETAS COM BAIXO E ALTO TEOR DE FÓSFORO
FÍTICO PARA FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Área do conhecimento: Nutrição e produção de não ruminantes).

Orientador: Prof. Dr. Victor Fernando Büttow Roll

Co-orientadores: Prof. PhD. Eduardo Gonçalves Xavier

Dr. Valdir Silveira de Avila

Pelotas, Fevereiro de 2015.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C357e Catalan, Aiane Aparecida da Silva

Eficiência da fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico para frangos de corte / Aiane Aparecida da Silva Catalan ; Victor Fernando Büttow Roll, orientador. — Pelotas, 2015.

92 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Enzima. 2. Farelo de trigo. 3. Fósforo fítico. I. Roll, Victor Fernando Büttow, orient. II. Título.

CDD : 636.513

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Banca examinadora:

Prof. Dr. Victor Fernando Büttow Roll – UFPel/DZ (Presidente)

Profa. Dra. Débora Cristina Nichelle Lopes – UFPel/DZ

Pesq. Dr. Everton Luis Krabbe – Embrapa Suínos e Aves

Med. Vet. Dra. Juliana Klug Nunes – IFSul Campus Bagé

Profa. Dra. Fabiane Pereira Gentilini – IFSul Campus Visconde da Graça (CAVG)

Profa. Dra. Fernanda Medeiros Gonçalves – UFPel (Suplente)

Agradecimentos

À Deus por permitir a convivência com pessoas tão especiais e de extrema importância, pois contribuíram para minha formação pessoal e profissional. E aos que colaboraram na realização deste trabalho e me auxiliaram chegar até aqui.

Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu. Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou; Tempo de matar, e tempo de curar; tempo de derrubar, e tempo de edificar; Tempo de chorar, e tempo de rir; tempo de prantejar, e tempo de dançar; Tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de afastar-se de abraçar; Tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar, e tempo de lançar fora; Tempo de rasgar, e tempo de coser; tempo de estar calado, e tempo de falar; Tempo de amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz. Que proveito tem o trabalhador naquilo em que trabalha? Tenho visto o trabalho que Deus deu aos filhos dos homens, para com ele os exercitar. Tudo fez formoso em seu tempo; também pôs o mundo no coração do homem, sem que este possa descobrir a obra que Deus fez desde o princípio até ao fim. Já tenho entendido que não há coisa melhor para eles do que alegrar-se e fazer bem na sua vida; E também que todo o homem coma e beba, e goze do bem de todo o seu trabalho; isto é um dom de Deus (Eclesiastes 3:1-13).

Resumo

CATALAN, Aiane Aparecida da Silva. **Eficiência de fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico para frangos de corte.** 2015. 92f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

Para avaliar a eficiência da fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}), em função da inclusão ou não do farelo de trigo, sobre o desempenho, características físicas da tíbia, deposição mineral tecidual e sérico, peso relativo de órgãos, coeficientes de digestibilidade total e ileal e morfometria intestinal, foram alojados 384 frangos de corte, machos da linhagem *Cobb500*, em gaiolas metabólicas e distribuídas em quatro tratamentos em um arranjo fatorial 2x2 em delineamento de blocos casualizados, com oito repetições e 12 aves por unidade experimental. A partir de 11 dias de idade as aves receberam as dietas experimentais, que consistiram em: T1 – dieta com baixo teor de P_{fít}; T2 – dieta com baixo teor de P_{fít} com fitase (500 FTU/kg); T3 – dieta com alto teor de P_{fít} e T4 – dieta com alto teor de P_{fít} com fitase (500 FTU/kg). No período de 11 a 21 e 22 a 32 dias de idade foram avaliados o consumo médio de ração, peso médio corporal, ganho de peso médio e conversão alimentar. Aos 22 e 32 dias de idade foram sacrificadas duas aves por unidade experimental e delas foi coletada a tíbia esquerda para análise das características físicas e deposição mineral, uma porção do músculo peitoral sem pele e o sangue para avaliação dos níveis de cálcio, fósforo e sódio tecidual e sérico. Coletou-se também a moela, coração, fígado, ceco, bolsa cloacal, para determinar o peso relativo destes órgãos, o conteúdo ileal para quantificar o coeficiente de digestibilidade aparente ileal e uma porção do duodeno, jejuno e íleo para análise da morfometria intestinal. De 28 a 31 dias de idade foi realizada a coleta total de excretas para quantificar os coeficientes de digestibilidade aparente total. Os dados foram submetidos à análise de variância, onde foram testados os efeitos fixos de dieta e fitase e a interação entre os fatores, bem como o efeito aleatório de bloco. Houve interação para a variável rigidez óssea e cálcio sérico. A inclusão de fitase em dietas com baixo e alto teor de P_{fít} não alterou o desempenho, a resistência e flexibilidade óssea, a deposição mineral na tíbia e no músculo peitoral, mas aumentou a rigidez óssea aos 22 dias de idade, e proporcionou maior teor de cálcio sérico em aves alimentadas com a dieta baixo teor de P_{fít}, aos 32 dias de idade. Houve interação significativa para a energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e para o coeficiente de

digestibilidade total (CDAT) do cálcio, fósforo e sódio, onde a dieta com baixo teor de Pfit com ou sem fitase proporcionou os melhores resultados, exceto para o CDAT do sódio. A adição de fitase em dietas com baixo e alto teor de Pfit para frangos de corte não alterou o peso relativo dos órgãos, a morfometria intestinal e o CDAI, mas proporcionou maior EMAn e melhor CDAT do cálcio e do fósforo com a dieta baixo teor de Pfit.

Palavras-chave: enzima; farelo de trigo; fósforo fítico.

Abstract

CATALAN, Aiane Aparecida da Silva. **Phytase efficiency in diets with low and high phytic phosphorus for broilers**. 2015. 92p. Thesis (Doctor of Science) – Graduate Program in Animal Science, Faculty of Agriculture Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2015.

To evaluate the efficiency of phytase in diets with low and high phytic phosphorus (Pfit), depending on the inclusion or not of wheat bran, on performance, physical characteristics of the tibia, tissue and serum mineral deposition, the relative weight of organs, total and ileal digestibility coefficients and intestinal morphology, 384 broilers (males Cobb500 line) were housed in metabolic cages and assigned to four treatments in a 2x2 factorial arrangement in a randomized block design with eight replicates of 12 birds each. At 11 days of age broilers received the experimental diets, which consisted of T1 - low Pfit diet; T2 - low Pfit diet with phytase (500 FTU / kg); T3 - high Pfit diet and T4 – high Pfit diet with phytase (500 FTU / kg). The average feed intake, average body weight, weight gain and feed conversion were evaluated among 11 to 21 and 22 to 32 day of age. At 22 and 32 day of age two birds of each replicate were sacrificed and the tibia was collected for analysis of the physical characteristics and mineral deposition, and a portion of the pectoral muscle without skin and blood samples to evaluate the levels of calcium, phosphorus and sodium on tissue and serum, respectively. Also, gizzard, heart, liver, cecum, cloacal bursa were collected to determine the relative weight of these organs, the ileal content to quantify the ileal digestibility coefficient and a portion of the duodenum, jejunum and ileum to analyze the intestinal morphology. From 28 to 31 days the total excreta collection was carried out to quantify the total apparent digestibility coefficients. Data were subjected to analysis of variance in terms of the fixed effects of the diet and the phytase inclusion, as well as the interaction among the factors and the random effect of the block. An interaction for bone stiffness and serum calcium was observed. The inclusion of phytase in diets with low and high Pfit did not affect performance, endurance and bone flexibility, mineral deposition in the tibia and pectoral muscle, but increased bone stiffness at 22 days of age; at 32 days of age, a low Pfit diet provided a higher calcium content in the serum of the birds. A significant interaction among the apparent metabolizable energy corrected for nitrogen (AME) and total digestibility (CDAT) of calcium, phosphorus and sodium was observed, where the low Pfit diet with or without phytase presented the best results, except for sodium CDAT. The addition of phytase in low and high Pfit diets for broilers did not alter the relative weight of organs, intestinal morphology and the CDAI, but the low Pfit diet provided greater EMAn calcium and phosphorus CDAT.

Keywords: enzyme; phytic phosphorus; wheat bran.

Lista de tabelas

Projeto de pesquisa

Tabela 1 Descrição dos tratamentos (11 a 21 dias e 22 a 32 dias) 19

Tabela 2 Programa de alimentação e coleta de dados 20

Relatório de campo

Tabela 1 Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para frangos de corte 29

Artigo 1

Tabela 1 Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para frangos de corte 49

Tabela 2 Consumo médio de ração (CMR), peso médio corporal (PMC), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA) para frangos de corte, machos, *Cobb 500* alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}), com e sem fitase (média±erro padrão) 50

Tabela 3 Resistência óssea, flexibilidade e rigidez da tíbia aos 22 e 32 dias de idade de frangos de corte, machos, *Cobb 500* alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão) 51

Tabela 4 Matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P) na tíbia de frangos de corte, machos, *Cobb 500* aos 22 e 32 dias de idade alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão) 52

Tabela 5 Matéria seca liofilizada (MSLio), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na) no músculo peitoral de frangos de corte, machos, *Cobb 500* aos 22 e 32 dias de idade alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão) 53

Tabela 6	Cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na) sérico aos 22 e 32 dias de idade de frangos de corte, machos, Cobb 500 alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P _{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)	54
Artigo 2		
Tabela 1	Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para frangos de corte	76
Tabela 2	Peso relativo (%) da moela, coração, fígado, ceco e Bolsa cloacal, aos 22 e 32 dias de idade para frangos de corte, machos, Cobb 500, alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P _{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)	77
Tabela 3	Energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) base matéria seca, coeficiente de metabolizabilidade aparente total da energia bruta (CMATEB), coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) para frangos de corte, machos, Cobb 500 de 28 aos 31 dias de idade alimentados com dietas baixo e alto teor de fósforo fítico (P _{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)	78
Tabela 4	Coeficiente de digestibilidade aparente total e ileal da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na) para frangos de corte, machos Cobb 500 alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P _{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)	79
Tabela 5	Coeficientes de correlação para a digestibilidade aparente total e ileal de nutrientes da dieta de frangos de corte, machos, Cobb 500 alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P _{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)	80
Tabela 6	Altura das vilosidades (µm), profundidade de cripta (µm) e relação vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte, machos Cobb 500, aos 32 dias de idade, alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P _{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)	81

Sumário

1 Introdução geral	12
2 Projeto de Pesquisa	14
2.1 Equipe	14
2.2 Caracterização do Problema	15
2.3 Objetivos	17
2.3.1 Objetivo Geral	17
2.3.2 Objetivos Específicos	17
2.4 Metas.....	18
2.5 Metodologia e Estratégia de ação	18
2.5.1 Animais experimentais e manejo.....	18
2.5.2 Tratamentos	18
2.5.3 Programa de alimentação e coleta de dados	19
2.5.4 Variáveis analisadas.....	19
2.5.5 Análises laboratoriais (excretas e rações).....	20
2.5.6 Delineamento experimental e Análise estatística	21
2.6 Resultados e Impactos esperados	21
2.7 Cronograma, Riscos e Dificuldades	22
2.8 Aspectos Éticos.....	22
2.9 Referências bibliográficas	24
3 Relatório do trabalho de campo	26
3.1 Local e período experimental	26
3.2 Animais.....	26
3.3 Dietas experimentais e manejo	26
3.4 Delineamento experimental.....	27
3.5 Variáveis analisadas	27
3.5.1 Desempenho	27
3.5.2 Coleta de amostras	28

3.5.2.1 Características físicas e deposição mineral na tíbia.....	28
3.5.2.2 Deposição mineral no músculo peitoral.....	30
3.5.2.3 Nível mineral sérico.....	30
3.5.2.4 Peso relativo dos órgãos.....	30
3.5.4.5 Morfometria intestinal.....	30
3.5.3 Digestibilidade dos nutrientes – Coleta total de excretas.....	31
3.5.4 Digestibilidade dos nutrientes - Coleta da digesta ileal.....	32
3.6 Análise estatística.....	33
3.7 Resultados.....	33
4 Artigo I.....	34
5 Artigo II.....	55
Considerações finais.....	82
Referências.....	83

1 Introdução geral

A alimentação de aves e suínos por ser à base de alimentos vegetais (cereais, sementes de oleaginosas, e seus subprodutos), Guenter (1997) salienta que cerca de dois terços do fósforo presente nesses alimentos se encontra na forma de fósforo fítico. Com isso é possível constatar diversos problemas, pois a dieta tem de ser complementada com fósforo inorgânico, um dos minerais mais caros e escassos, a maior parte dessa fração de fósforo não utilizado é excretado nas fezes, gerando poluição ambiental, além de se ligar com outros íons, como cálcio, magnésio, zinco, ferro, formando fitato e deficiências nutricionais (GUENTER, 1997; LEESON; SUMMERS, 2005) . Contudo, Regina (2010) salienta que não ruminantes têm pouco ou praticamente nenhuma capacidade de utilizar o fósforo fítico, porque há pouca ou nenhuma ocorrência natural da enzima fitase no trato digestório desses animais.

Em função disso, enzimas exógenas estão sendo amplamente estudadas e utilizadas na nutrição de não ruminantes. Segundo Dourado et al. (2014) dependendo do tipo de enzima é possível observar melhorias no desempenho produtivo, na digestibilidade dos nutrientes, na morfometria intestinal, na saúde e na imunidade dos animais, além de reduzir o impacto ambiental em virtude da menor excreção de nutrientes.

Entre as principais enzimas, pode-se destacar a fitase (hexafosfato de mio-inositol fosfohidrolase), a qual catalisa a reação de desfosforilação do fitato em fostato de mio-inositol menores e fósforo inorgânico (GREINER; KONIETZNY, 2011). Segundo Technical Information (2003) a atividade da fitase é expressa em unidade de atividade de fitase (FTU), e é definida em função de quanto uma unidade de atividade fitase (1FTU) libera de fósforo inorgânico (μmol) por minuto de reação em uma solução de 0,0051mol/L de fitato de sódio em pH 5,5 e temperatura de 37°C.

Nos últimos anos, inúmeros trabalhos já foram conduzidos com o intuito de avaliar a eficiência e efeitos da fitase na nutrição de aves (CATALÁ-GREGORI et al., 2006; FUKAYAMA et al., 2008; GHASEMI et al., 2006; LELIS et al., 2010; NAVES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2008; TEJEDOR et al., 2001a; WALK et al., 2012; WANG et al., 2013), onde testarem diferentes fontes de fitases (AFSHARMANESH; POURREZA, 2005; COWIESON et al., 2013; EMAMI et al., 2013; JIANG et al., 2013; OLUKOSI; FRU-NJI, 2014; PEREIRA et al., 2012; RAVINDRAN et al., 2000; RAVINDRAN et al., 2006; RAVINDRAN et al., 2001; VIVEROS et al., 2002;) e substratos (AMERAH et al., 2014; LIU et al., 2014; PINTAR et al., 2005; SELLE et al., 2009; TEJEDOR et al., 2001b; WU et al., 2004), além disso, são descritos em revisões de literatura e livros (MARQUARDT; HAN, 1997; COELHO; KORNEGAY, 1999; SELLE et al., 2000; ADAMS, 2001; GARNSWORTHY; WISEMAN, 2001; SELLE; RAVINDRAN, 2007; SINGH, 2008; BEDFORD; PARTRIDGE, 2011; SELLE et al., 2012; BERTECHINI, 2013; KHALID et al., 2013; KLEYN, 2013; BOUGOUIN et al., 2014).

Contudo, em virtude deste pluralismo de informações Rodehutschord (2013) e Shastak & Rodehutschord (2013) salientam que é difícil interpretar e comparar os resultados que se originam a partir de diferentes laboratórios. Então, estes autores propõem a criação de um protocolo padrão para definir o que é o fósforo disponível e para determinar a disponibilidade deste, em função da avaliação da digestibilidade ileal.

Diante disso, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a eficiência da fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico para frangos de corte sobre o desempenho, características físicas da tíbia, deposição tecidual e níveis séricos de minerais, peso relativo de órgãos, coeficientes de digestibilidade aparente total e ileal e morfometria intestinal.

2 Projeto de Pesquisa

Projeto cadastrado no COCEPE sob o nº 5329
Registro no Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEEA/UFPEL): 6866

Eficiência da fitase na dieta para frangos de corte

2.1 Equipe

Aiane Aparecida da Silva Catalan (Executora); Victor Fernando Büttow Roll (Coordenador); Eduardo Gonçalves Xavier (Co-orientador), Valdir Silveira de Avila (Co-orientador); Everton Luis Krabbe, Ana Paula Nunes

Aiane Aparecida da Silva Catalan

Pelotas, 24 de fevereiro de 2015.

2.2 Caracterização do Problema

Com os avanços em genética, manejo e nutrição, a avicultura é uma das atividades de produção animal que mais se desenvolveu nos últimos anos, quantitativa e qualitativamente (BRUM JR, 2006). Entretanto um dos componentes que ainda oneram o custo de produção nos sistemas de criação intensiva é a ração, representando cerca de 70% desse custo. As fontes de energia e proteína são os ingredientes mais caros, em torno de 90% do custo da dieta, seguidos pela de fósforo, que é o ingrediente de origem mineral mais caro, participando com 2 a 3% do custo total da ração (SCHOULTEN et al., 2003).

Dentro deste contexto, um fator importante é trabalhar com um novo conceito, que é a nutrição de precisão, onde o animal aproveita ao máximo o alimento ofertado aumentando a eficiência produtiva e reduzindo os impactos ambientais, além de buscar alimentos alternativos a fim de reduzir os custos de produção.

Mas, o grande inconveniente ainda destes alimentos alternativos são os fatores antinutricionais, um exemplo são os fitatos que podem formar complexos insolúveis com proteínas e minerais – reduzindo a disponibilidade destes nutrientes. Oliveira et al. (2008) resume a importância do fósforo principalmente quanto a mineralização óssea dos animais, porém quando fornecido grãos de cereais e farelos de sementes oleaginosas este mineral se encontra na forma de fitato (fósforo fítico), o qual é a principal fonte natural de fósforo no alimento animal.

A concentração de fósforo fítico nos alimentos depende principalmente da parte da planta a partir dos quais eles são derivados. Pode-se considerar que farinhas de oleaginosas e subprodutos de cereais contenham grande quantidade de fósforo fítico. Esta grande variabilidade pode ser, em parte, devido ao estágio de maturidade, o grau de processamento, cultivar, fatores climáticos, disponibilidade de água, fatores do solo, localização e da época do ano em que são cultivadas essas plantas, mas também pode surgir de diferenças no método de análise do fósforo fítico. Estudos apontam que o fósforo fítico em arroz e trigo aumentou com a maturidade dos grãos e com adubação fosfatada. Outros demonstraram que os níveis de fertilização de nitrogênio e fósforo não teve influência na concentração de fósforo fítico no trigo. Tipicamente, dietas contendo milho e farelo de soja apresentam 0,22 a 0,25% de fósforo fítico, contudo, os níveis vão ser bem maiores caso subprodutos de cereais ou outra fonte de alimentação – alimentos alternativos forem utilizados nas dietas de aves. Por exemplo, incluindo 10% de farelo de arroz

ou farelo de trigo na dieta de aves vai aumentar a concentração de fósforo fítico em 0,35 ou 0,40% (RAVINDRAM, 1999).

Entretanto, o fósforo nestas condições apresenta baixa disponibilidade para não-ruminantes, pois a fitase no trato gastrointestinal é baixa ou nula, sendo que uma das melhores opções é a inclusão de fitase exógena, para melhorar o crescimento e a mineralização óssea, reduzindo ao máximo a excreção e minimizando o impacto ambiental.

A fitase ou mio-inositol hexaqui-fosfato fosfohidrolase é uma enzima pertencente ao grupo de fosfatases de histidina ácida, que hidrolisa o fitato para mio-inositol e ácido ortofosfórico, necessário ao processo metabólico na biossíntese celular (VOHRA & SATYANARAYANA, 2003). A atividade desta enzima é expressa em FTU ou simplesmente U (unidade de fitase ativa), definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico em um minuto em substrato de sódio fitato a temperatura de 37°C e pH 5,5 (CONTE, 2000; ENGELEN et al., 1994).

Sobre o mecanismo de ação da fitase, sabe-se que ela age como um catalisador. Os catalisadores são substâncias que aumentam a taxa de uma reação química, sem causar alterações químicas permanentes. As enzimas são proteínas que catalisam as reações químicas nos sistemas biológicos, podendo conter outras substâncias tais como vitaminas e minerais. No trato digestivo, a enzima adicionada à ração é ativada quando se mistura aos fluidos digestivos e sob a temperatura do organismo.

Segundo Classen (1996) as enzimas exógenas utilizadas na nutrição animal visam quatro objetivos: a remoção ou a hidrólise de fatores antinutricionais, aumento da digestibilidade dos nutrientes existentes, suplementação das enzimas endógenas e hidrólise de polissacarídeos não amiláceos solúveis.

Entre os benefícios proporcionados pelo uso de enzimas em dietas vegetais, pode-se inferir que um dos mais importantes é o de colaborar com a melhoria da saúde intestinal das aves. Neste sentido, as enzimas favorecem a digestibilidade das dietas, reduzindo o substrato que poderia favorecer a proliferação de patógenos na porção distal do intestino.

Dependendo da matriz nutricional, a cada 0,1% de P disponível liberado pela fitase, corresponde 4,5 a 5,5kg de fosfato bicálcico, por tonelada de ração (LECZNIESKI, 2006).

Para isso, é importante a correta determinação de fósforo, que além de ter alto custo, suas fontes são limitadas. Porém a exigência de fósforo depende do animal, como espécie, idade, estado fisiológico, nível de desempenho, entre outros. Vale ressaltar que quando o fósforo está em excesso nas dietas, este é excretado, sendo acumulado no solo e causando contaminação ambiental (RODEHUTSCORD, 2013). Entretanto, pesquisas no sentido de reduzir o erro padrão dos resultados se fazem necessárias, buscando encontrar as principais falhas ao longo de todo processo experimental, desde a seleção e/ou escolha dos animais, preparo das dietas, pré-processamento laboratorial de excretas e por fim as análises laboratoriais.

Diante disso, uma das alternativas é estar avaliando a eficiência da fitase na liberação do fósforo, pois este nutriente tem importância nutricional e econômica no que diz respeito a formulações de dietas, para melhorar o desempenho animal, os custos de produção e minimizar os impactos ambientais.

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência da fitase em dietas experimentais sobre o desempenho zootécnico, integridade óssea e intestinal, deposição mineral nos tecidos e sangue, digestibilidade aparente total e ileal em frangos de corte.

2.3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito das dietas testes quanto ao desempenho zootécnico em frangos de corte;
- Analisar a integridade óssea, determinando a resistência óssea à quebra, análise de minerais nos ossos;
- Realizar a análise morfológica da mucosa intestinal, a fim de acompanhar o efeito das dietas e enzima sobre a integridade intestinal das aves;
- Determinar a concentração de minerais sérico e tecidual das aves;
- Determinar a digestibilidade dos nutrientes através de ensaio de digestibilidade utilizando a coleta de excretas total e ileal;
- Observar qual é o efeito da adição da enzima nas dietas experimentais sobre as variáveis analisadas.

2.4 Metas

Ao final do experimento, espera-se conhecer os ganhos ou perdas para o desempenho zootécnico de frangos de corte, relacionado ao efeito das dietas testes. Ao analisar a integridade óssea, concentração mineral sérico e tecidual, conteúdo ileal, morfometria intestinal, espera-se contrastar os resultados e verificar qual o efeito da fitase sobre estes parâmetros.

2.5 Metodologia e Estratégia de ação

O experimento será composto por um ensaio a ser desenvolvido na sala de Metabolismo e no LAFQ (Laboratório de Análises Físico-Químicas) da EMBRAPA/CNPISA.

2.5.1 Animais experimentais e manejo

Serão alojados 384 frangos de corte – machos, da linhagem Cobb, distribuídos em baterias de arame galvanizado (0,90 x 0,90 x 0,25 m) com 12 aves cada, iniciando com um dia de idade até os 32 dias. Cada gaiola estará equipada com comedouro metálico do tipo calha e bebedouros do tipo *nipple*. A iluminação da sala, temperatura e umidade será de acordo com o POP4-PESQ-EMA-01 em utilização na EMBRAPA/CNPISA, sendo realizados a aferição e os registros diariamente (*datalogger*).

2.5.2 Tratamentos

Os tratamentos consistirão de dietas formuladas para atender as exigências nutricionais, de acordo com as recomendações de Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011), com a inclusão diferentes matérias-primas, resultando nos seguintes tratamentos:

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos (11 a 21 dias e 22 a 32 dias)

Tratamento	Dieta	Matérias-Primas Principais	Fitase (FTU)
T1	Controle Milho e soja (neg)	M+FS	0
T2	Controle Milho e soja (enz)	M+FS	500
T3	Teste Farelo trigo (neg)	FT+M+FS	0
T4	Teste Farelo trigo (enz)	FT+M+FS	500

2.5.3 Programa de alimentação e coleta de dados

Na Tabela 2 está apresentada a sistemática de arrazoamento, avaliações e coletas de amostras ao longo do período experimental. Para fins de uniformização dos animais durante a fase pré-inicial (1-10 dias) será empregada uma dieta única basal. As dietas experimentais passam a ser fornecidas por cinco dias (11-16 dias) para adaptação, seguindo até os 22 dias, estando às coletas programadas para o período de 17-22 dias. Para a fase de crescimento (22 a 32 dias), uma nova dieta será elaborada, para a fase específica, atendendo as exigências nutricionais.

Tabela 2 – Programa de alimentação e coleta de dados

Idade (dias)	Alimentação	Fase	Coleta	Avaliação
1-10	Basal	Pré-inicial	-	Desempenho
11-16	Experimental	Inicial- adaptação	-	Desempenho
17-21	Experimental	Inicial	-	Desempenho
22-32	Experimental	Crescimento	-	Desempenho
32	Experimental	Crescimento	tíbia, histológico, sangue, peito, excretas total e ileal	-

2.5.4 Variáveis analisadas

Desempenho zootécnico: Serão avaliadas as variáveis peso vivo, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, aos 10, 21 e 32 dias.

Integridade óssea: Aos 22 e 32 dias de idade serão abatidos alguns animais (duas aves/unidade experimental) e destes retirado a tíbia, para determinação da resistência óssea à quebra e análise mineral dos ossos.

Análise morfométrica da mucosa intestinal: Dos animais abatidos aos 32 dias de idade, será retirada uma amostra de 2cm do intestino delgado (íleo), para a análise morfométrica (altura das vilosidades, profundidade da cripta e relação vilo/cripta).

Composição mineral sérica e tecidual: Aos 22 e 32 dias, amostras de sangue e peito das aves abatidas, serão coletadas para análise de minerais.

Peso relativo dos órgãos: Aos 22 e 32 dias de idade, as aves serão abatidas para mensurar o peso corporal e peso relativo dos órgãos (moela, fígado, coração, ceco e bolsa cloacal), em função das dietas experimentais.

Ensaio II - Digestibilidade aparente total da dieta

Seguindo o POP4-PESQ-EMA-01, que representa o procedimento tradicional da EMBRAPA, será realizada a coleta total de excretas de 28 a 32 dias de idade das aves. Essa coleta será realizada uma vez ao dia, no período da manhã, sendo que cada coleta será acondicionada em saco plástico devidamente identificado, relativo a cada unidade experimental, pesadas e posteriormente armazenadas em freezer.

Neste período será também mensurado o consumo total de ração de cada gaiola experimental. Ao final de todo período de coletas será realizada homogeneização das coletas relativas a cada unidade experimental, para posterior retirada de uma alíquota para secagem (48hs e 55°C em estufa de circulação de ar forçado) e análise.

Ensaio III - Digestibilidade ileal da dieta

Aos 32 dias de idade, duas aves por unidade experimental serão sacrificadas e o seu conteúdo ileal será coletado para a determinação da digestibilidade ileal, como proposto por Rodehutschord (2013).

Esta etapa representa um grande esforço analítico que permitirá a reavaliação do método tradicional, que podem não apresentar o grau de precisão demandado atualmente.

A nutrição animal ao longo dos anos em função de diversos avanços busca métodos de avaliação mais refinados para avaliação de alimentos, aditivos, entre outros, onde as margens de ganho são menos expressivas numericamente, entretanto de grande impacto econômico.

2.5.5 Análises laboratoriais (excretas e rações)

As amostras serão mantidas em estufas ventiladas, a 55°C por 48 horas, para secagem e posterior análise da Pré-MS, segundo Mazzuco et al. (2002). As determinações MS (105°C), CZ e P seguirão as metodologias de análises de rotina do LAFQ (Laboratório de Análises Físico-Químicas) seguindo protocolos propostos

pelo AOAC, (1995). Com bases nestas informações de análises químicas serão calculados os coeficientes de digestibilidade aparente de alguns componentes.

2.5.6 Delineamento experimental e Análise estatística

Será utilizado o delineamento em blocos casualizados para peso ao nascer e localização das gaiolas, onde as aves serão distribuídas em baterias, sendo a unidade experimental o box com 12 animais, com oito repetições por tratamento. As médias dos tratamentos serão submetidas à análise de variância e comparadas através do Teste t ($P < 0,05$). Essas análises serão realizadas utilizando o programa estatístico SAS 2008.

2.6 Resultados e Impactos esperados

Com a realização deste projeto, espera-se obter informações importantes sobre a eficiência da fitase junto as dietas experimentais em questão, para frangos de corte. É esperado que sejam obtidas informações que possam vir a beneficiar o meio científico, a indústria e os produtores, demonstrando os benefícios das análises realizadas, além de estar trabalhando dentro de um conceito novo, que é a nutrição de precisão onde busca-se o máximo de aproveitamento das dietas com um mínimo de excreção de nutrientes. Espera-se poder levar para o meio acadêmico-científico, através de resumos, artigos, palestras, seminários e aulas, informações relevantes para a formação e preparação dos profissionais das áreas de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, às novas exigências do mercado nacional e internacional com relação à produção e nutrição animal.

Indicadores de resultados ao final do projeto: O projeto poderá destacar os benefícios de usar fitase e alimentos alternativos, além de contribuir para um novo método para determinar a digestibilidade dos nutrientes. Estes resultados poderão sugerir medidas estratégicas para baixar os custos de produção, garantir o máximo desempenho animal e reduzir o impacto ambiental.

Repercussão e/ou impactos dos resultados: Levar ao meio científico os conhecimentos adquiridos com a execução deste projeto, podendo revelar os benefícios de utilizar a fitase e alimentos alternativos, e estar proporcionando avanços no conhecimento no que diz respeito a novos conceitos na nutrição animal.

2.7 Cronograma, Riscos e Dificuldades

Item	Atividades	2014						2015	
		J	A	S	O	N	D	J	F
1	Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x
2	Preparo das instalações	x							
3	Aquisição dos animais	x							
4	Começo do experimento	x							
5	Coleta de dados	x	x						
6	Fim do experimento e abate		x						
7	Análises de desempenho		x						
8	Análises laboratoriais		x	x					
9	Tabulação dos dados		x	x					
10	Análise estatística			x	x				
11	Elaboração de resumos			x	x				
12	Elaboração do material didático			x	x				
13	Elaboração de artigos e envio para revista			x	x	x	x		
14	Elaboração e Defesa da tese			x	x	x	x	x	x

2.8 Aspectos Éticos

Trata-se de um experimento onde somente são realizadas práticas comuns de cunho zootécnico (produção animal) sem que ocorra qualquer tipo de tratamento que implique dor ou sofrimento aos animais.

Durante o planejamento experimental, questões relacionadas ao bem-estar animal, tais como: número de aves por metro quadrado (densidade), condições ambientais apropriadas de criação para a espécie (ventilação, temperatura) e fornecimento de água e alimento, serão atendidas conforme a determinação Protocolo de Bem-Estar de Frangos de Corte, Protocolo de Boas Práticas de Produção de Frangos e Norma Técnica de Produção Integrada de Frango, da União Brasileira de Avicultura (UBA, 2008a; 2008b; 2009).

Como o projeto envolve a utilização de animais, os aspectos éticos serão contemplados através do (a):

- Manutenção da saúde e bem-estar das aves, sendo evitadas situações de estresse;
- Treinamento dos funcionários, para que tenham conhecimentos básicos do comportamento animal, e também, para que estejam cientes dos procedimentos relevantes em situações de emergência que representem perigo à saúde humana, segurança dos alimentos ou saúde e bem-estar das aves;
- Higienização de equipamentos e instalações de produção;
- Registro de ocorrências da produção;
- Isolamento do aviário de forma que não haja o acesso de outros animais e visitantes;
- Controle de insetos e roedores que representam riscos eminentes de infecções além de ecto e endoparasitas;
- Disponibilização de espaço suficiente nas gaiolas para que as aves expressem o seu comportamento natural;
- Aferição e registro da temperatura e umidade máximas e mínimas dentro do aviário;
- Manuseio da temperatura e do nível de ventilação do aviário de forma apropriada ao sistema de criação, idade, peso e estado fisiológico das aves, evitando assim a elevação da temperatura acima da zona de conforto térmico;
- Uniformização da iluminação do aviário;
- Cuidado com o manuseio das aves que serão pesadas periodicamente;
- Fornecimento de água limpa, potável, que não ofereça riscos à saúde e de forma que o consumo seja à vontade;
- Análise bromatológica dos ingredientes utilizados para a preparação da ração;
- Armazenamento das rações em local adequado e sobre estrados de madeira;
- Fornecimento de alimentação e nutrição adequadas a cada fase de criação;
- Cumprimento do protocolo de vacinações realizado de acordo o plano contra os desafios de enfermidades aviárias da região, respeitando-se as recomendações do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (1994 e normativas posteriores);
- Registro da administração de vacinas e/ou medicamentos contendo o nome do produto, número do lote/partida, número de aves tratadas, quantidade utilizada, período de carência;

- Retirada diária de aves mortas e/ou eliminadas do interior do aviário, sendo destinadas à compostagem;
- Aves com problemas no crescimento ou que apresentam alguma patologia individual que as cause sofrimento, serão retiradas do lote;
- Criação de aves de mesma origem e idade no galpão, operando no sistema todos dentro-todos fora;
- Utilização de pedilúvio na entrada do aviário;
- Manutenção da unidade de produção livre de lixo e resíduos, armazenando-os em local adequado até o seu descarte;
- Respeito à legislação ambiental vigente.

Aos 22 e 32 dias de idade, algumas aves sofrerão deslocamento cervical (Art. 14 da Resolução nº1000 CFMV, 2012), para coleta e análise de órgãos, de acordo com o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves do Ministério da Agricultura e Abastecimento. O abate das aves será realizado no setor de necropsia da EMBRAPA/CNPQA. As demais aves, deste experimento, serão transferidas para outro galpão até atingirem idade e peso para abate.

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

2.9 Referências bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: 1995. 1094p.
- BRUM JR, B.S. **Quirera de arroz na dieta de frangos de corte e coelhos em crescimento**. 46 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Santa Maria, 2006.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 1000 de 11 maio 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 maio 2012. Seção 1, n. 95, p.124-125.
- CLASSEN, H. L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technology**. v.62, p.21-27, 1996
- CONTE, A.J. **Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte, suplementadas com fitase e xilanase**. Lavras: Universidade Feral de

- Lavras, 2000. 164p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2000.
- ENGELEN, A. J.; VAN DER HEEFT, F.C.; RANDSDORP, P.H.G.; SMIT, ELC. Simple and rapid determination of phytase activity. **J. AOAC Int.**, v.77, p.760-764, 1994.
- LECZNIESKI, J. L. Considerações práticas do uso de enzimas. V Seminário Internacional de Aves e Suínos – AVESUI 2006. **Anais...** p.34-46. 2006.
- MAZZUCO, H.; LORINI, I.; BRUM, P.A.R. et al. Composição química e energética do milho com diversos níveis de unidade na colheita e diferentes temperaturas de secagem para franos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2216-2220, 2002.
- OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. H.; GRAVENA, R. A.; GIUSTI BRUNO, L. D.; RODRIGUES, E. A.; MORAES, V. M. B. Qualidade óssea de frangos alimentados com dietas com fitase e níveis reduzidos de fósforo disponível. **Acta Scientiarum Animal Science**. Maringá, v. 30, n. 3, p. 263-268, 2008
- RAVINDRAN, V. Occurrence of phytic acid in plant feed ingredients. In: **Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF Reference Manual**. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey, 1999. p.85-92.
- RODEHUTSCORD, M. Determination of phosphorus availability in poultry. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 69, 2013.
- ROSTAGNO H.S., ALBINO L.F.T., DONZELE J.L, GOMES P.C., OLIVEIRA R. F., LOPES D. C., FERREIRA A.S. , BARRETO S.L.T, EUCLIDES R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011. 252p.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal:Funep, 2007. 283p.
- SCHOULTEN, N.A.; TEIXEIRA, A.S.; RILKE, T.F.F.; BERTECHINI, A.G.; CONTE, A.J.; SILVA, H.O. Níveis de cálcio em rações de frangos de corte na fase inicial suplementadas com fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1190-1197, 2003.
- UBA – União Brasileira de Avicultura. Boas Práticas de Produção de Frangos, 2008b. Disponível em: <http://www.abef.com.br/uba/corte.php> Acesso em: 20/03/2012.
- UBA – União Brasileira de Avicultura. Norma Técnica de Produção Integrada de Frango, 2009. Disponível em: http://www.abef.com.br/uba/releases/norma_tecnica_de_producao_integrada_de_frangos.pdf. Acesso em: 21/03/2012.
- UBA – União Brasileira de Avicultura. Protocolo de Bem-Estar para Frangos e Perus, 2008a. Disponível em: <http://www.abef.com.br/uba/corte.php> Acesso em: 20/03/2012.
- VOHRA, A.; SATYANARAYANA, T. Phytases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v.23, n.1, p. 29-60, 2003.

3 Relatório do trabalho de campo

3.1 Local e período experimental

O experimento iniciou em novembro de 2013, estendendo-se até dezembro de 2013, totalizando 32 dias experimentais. O mesmo foi realizado na sala de metabolismo da Embrapa Suínos e Aves, na cidade de Concórdia, Santa Catarina (SC). E as análises laboratoriais foram conduzidas no Laboratório de Análises Físico-Químicas (LAFQ), Laboratório de Patologia da mesma instituição e no Laboratório de Histologia da Universidade Federal de Pelotas.

As aves foram alojadas em gaiolas metabólicas com dimensões de 0,90 x 0,90 x 0,25 m (C x L x A), equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo *nipple*, sendo o alimento e água fornecidos à vontade. As variáveis ambientais, temperatura e umidade relativa do ar foram registradas e ajustadas diariamente, conforme o manual da linhagem.

3.2 Animais

Foram alojados 384 frangos de corte, machos, da linhagem *Cobb 500*, com um dia de idade, provenientes de um incubatório comercial localizado no município de Concórdia, SC. As aves foram imunizadas *in ovo* contra Gumboro, Marek e Bouda Aviária, e no incubatório contra bronquite infecciosa.

3.3 Dietas experimentais e manejo

As dietas foram elaboradas com a finalidade de obter dietas com diferentes níveis de fósforo fítico, uma com baixo teor (milho e farelo de soja) e outra com alto teor de fósforo fítico (inclusão de farelo de trigo), sendo formuladas de acordo com as exigências nutricionais para frangos de corte conforme proposto por Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011), seguindo uma formulação para que as dietas apresentassem níveis similares de energia metabolizável, proteína bruta, cálcio, fósforo disponível, sódio e aminoácidos digestíveis, apesar de ter sido necessário a

inclusão de inerte, farelos com elevado teor de fibra e óleo vegetal, assumiu-se a ideia de que os níveis estavam dentro de uma faixa fisiologicamente aceitável, a ponto de não afetar o desempenho animal e as respostas avaliadas.

No manejo alimentar, visando atender a metodologia proposta por Rodehutschord (2013), do início até os 10 dias de idade, todas as aves receberam a mesma dieta basal. Com 11 dias de idade as aves receberam as dietas experimentais que consistiram em: T1 – dieta com baixo teor de fósforo fítico; T2 – dieta com baixo teor de fósforo fítico com fitase (500 FTU/kg); T3 – dieta com alto teor de fósforo fítico e T4 – dieta com alto teor de fósforo fítico com fitase (500 FTU/kg)), conforme apresentado na Tabela 1. Foi utilizada uma fitase comercial, produzida a partir do *Aspergillus ficuum* (3-phytase (EC 3.1.3.8)).

O teor de fitase presente em cada alimento foi analisado seguindo a metodologia ISO (2008) e o teor de fósforo fítico foi determinado conforme De Boever et al. (1994), para posteriormente determinar o percentual de fósforo fítico, obtido com base no peso molecular das seis moléculas de fósforo em relação ao peso molecular da molécula de fitato íntegra.

3.4 Delineamento experimental

As aves foram distribuídas em quatro tratamentos resultantes de um arranjo fatorial 2x2 (dois níveis de P_{fít} x presença ou ausência de fitase) em um delineamento experimental de blocos casualizados, com oito repetições por tratamentos e 12 aves por gaiola (unidade experimental).

No início do experimento as aves foram pesadas individualmente e distribuídas de acordo com o peso inicial, permitindo que todos os tratamentos tivessem oito blocos, que corresponderam às repetições, com aves de peso uniforme dentro de cada bloco, em uma faixa que variou de 51,3 a 40,1g.

3.5 Variáveis analisadas

3.5.1 Desempenho

As variáveis de desempenho foram avaliadas de 11 a 21 e 22 a 32 dias de idade, onde as aves foram pesadas para obter o peso médio corporal (PMC) e ganho de peso médio (GPM). A ração fornecida e as sobras também foram pesadas

em cada fase, para determinar o consumo médio de ração (CMR) e a conversão alimentar (CA), obtida através da relação CMR/GPM.

3.5.2 Coleta de amostras

Aos 22 e 32 dias de idade duas aves por unidade experimental foram separadas aleatoriamente, pesadas, sacrificadas por deslocamento cervical (Art.14 da Resolução nº1000, CFMV, 2012) e delas retirada a tíbia esquerda, uma porção do músculo peitoral (*Pectoralis major*) sem pele, sangue, moela, coração, fígado, ceco, Bolsa cloacal, conteúdo ileal e uma porção do duodeno, jejuno e íleo para análises, descritas a seguir.

3.5.2.1 Características físicas e deposição mineral na tíbia

A avaliação da resistência óssea foi realizada usando-se um texturômetro¹. Os ossos foram posicionados sob dois suportes com espaço entre eles de 40 mm. Rath et al. (1999) descreve que a resistência à quebra é representada pelo valor de força e está relacionada entre fatores tais como o tamanho e à composição mineral do osso; a relação entre a força e a distância (tamanho do osso) representa a rigidez do osso; as medidas de força e a rigidez estão relacionadas ao estresse (fratura) e tensão do osso; o estresse representa a resistência à deformação, enquanto a tensão representa a percentagem de deformação.

Após a análise física, as tíbias foram secas em estufas à 105°C (Instituto Adolfo Lutz, 2008) e submetidas à mufla para obtenção da matéria mineral (CBAA, 2009), que posteriormente foram utilizadas para determinação do Ca e P, conforme metodologia de AOAC (1995).

¹Texture Analyser - TA XT Plus Texture Analyzer ©Texture Technologies Corporation) com sonda 3-Point Bending Rig (HDP/3PB e HDP/90) e o software Exponent (Stable Micro Systems

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para frangos de corte

Ingredientes (kg)	1-10d		11-21d (Inicial)			22-32d (Crescimento)			
	Dieta Basal Pré-Inicial	Baixo Pfit* Sem fitase	Baixo Pfit Com fitase	Alto Pfit Sem fitase	Alto Pfit Com fitase	Baixo Pfit Sem fitase	Baixo Pfit Com fitase	Alto Pfit Sem fitase	Alto Pfit Com fitase
Milho (7,5%)	50,69	63,92	63,92	48,69	48,69	72,42	72,42	52,91	52,91
Farelo Soja (45%)	42,01	30,21	30,21	25,45	25,45	24,66	24,66	20,32	20,32
Farelo Trigo (14%)	0,00	0,00	0,00	20,00	20,00	0,00	0,00	20,00	20,00
Óleo de soja	3,14	0,00	0,00	2,90	2,90	0,00	0,00	4,41	4,41
Caulin	0,00	2,83	2,83	0,06	0,06	0,58	0,58	0,00	0,00
Fosfato bicálcico ¹	1,80	1,00	1,00	0,76	0,76	0,78	0,78	0,54	0,54
Calcário ²	0,97	0,71	0,71	0,83	0,83	0,62	0,62	0,73	0,73
Sal iodado	0,53	0,44	0,44	0,56	0,56	0,35	0,35	0,34	0,34
DL-metionina	0,32	0,22	0,22	0,23	0,23	0,16	0,16	0,18	0,18
L-lisina	0,24	0,32	0,32	0,38	0,38	0,22	0,22	0,28	0,28
Premix vitamínico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix mineral ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
L-treonina	0,11	0,13	0,13	0,17	0,17	0,05	0,05	0,09	0,09
Fitase ⁵	0,00	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Composição nutricional									
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2950	2850	2850	2850	2850	3000	3000	3000	3000
Proteína Bruta (%)	22,98	18,59	18,59	18,58	18,58	16,46	16,46	16,37	16,37
Cálcio (%)	0,920	0,601	0,601	0,600	0,600	0,500	0,500	0,500	0,500
Sódio (%)	0,220	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
Fibra Bruta (%)	-	2,70	2,70	4,09	4,09	2,55	2,55	3,89	3,89
Extrato Etéreo (%)	-	2,84	2,84	5,78	5,78	3,06	3,06	7,34	7,34
Lisina dig.	-	1,100	1,100	1,100	1,100	0,890	0,890	0,900	0,900
Metionina dig.	-	0,460	0,460	0,460	0,460	0,370	0,370	0,390	0,390
Fósforo disponível (%)	0,470	0,300	0,300	0,300	0,300	0,249	0,249	0,250	0,250
Fósforo total (%)	0,734	0,542	0,542	0,622	0,622	0,485	0,485	0,559	0,559
Pfit calculado (%) ⁶	-	0,242	0,242	0,322	0,322	0,236	0,236	0,309	0,309
Pfit analisado (%) ⁷	-	0,225	0,225	0,335	0,335	0,250	0,250	0,327	0,327
Fitase adicionada	-	0	500	0	500	0	500	0	500
Fitase determinada ^{8, 9}	-	0	690	640	1315	135	725	330	1175

¹Pfit – fósforo fítico; ²Cálcio: mínimo 210g/kg, máximo 250g/kg; Fósforo: 180g/kg; ³Cálcio: mínimo 33%; ⁴Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A: 9000000.000 UI, Vitamina D3: 2500000.00 UI, Vitamina E: 20000.00 UI, Vitamina K3: 2500.00mg, Vitamina B1: 1500.00mg, Vitamina B2: 6000.00mg, Vitamina B6: 3000.00mg, Vitamina B12: 12000.00mcg, Ácido Pantotênico: 12g, Niacina: 25g, Ácido Fólico: 800.00mg, Biotina: 60.00mg, Selênio: 250.00mg. ⁵Níveis de garantia por kg do produto: Cobre: 20g, Ferro: 100g, Manganês: 160g, Cobalto: 2000.00mg, Iodo: 2000.00mg, Zinco: 100g. ⁶Natuphos®, 10000 FTU/g; ⁷Fósforo Fítico calculado = fósforo total – fósforo disponível; ⁸Níveis obtidos conforme relatório de *Enzyme Services and Consultancy* – AB Vista; ⁹Nível de fitase (FTU/kg de alimento) conforme certificado de Ensaio CBO – Análises laboratoriais; ⁹ Os níveis esperados normalmente não coincidem com os níveis suplementados em função da fitase natural presente na matéria prima, porém assume-se que esta não tem atuação a nível de trato gastrointestinal.

3.5.2.2 Deposição mineral no músculo peitoral

Após o congelamento, a porção do músculo peitoral (*Pectoralis major*) sem pele foi cortada em cubos e depositada em bandeja de alumínio identificada e submetida à desidratação em um liofilizador², durante 48 horas, para obtenção da matéria seca liofilizada (MSLio). Em seguida, a amostra foi devidamente moída para determinações dos minerais cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na), conforme metodologia de AOAC (1995). Obteve-se a matéria seca (MS) em estufa convencional a 105°C (Instituto Adolfo Lutz, 2008) e da matéria mineral (MM), o qual foi determinado com a queima das amostras em mufla, a 600°C, durante 24 horas (CBAA, 2009).

3.5.2.3 Nível mineral sérico

Duas aves por unidade experimental foram sacrificadas e sangradas com corte na jugular para a coleta do sangue para mensuração do teor mineral sanguíneo, onde as análises foram realizadas a partir do soro, que foi obtido por centrifugação do sangue. Para as análises de cálcio, fósforo e sódio foram utilizados kits comerciais Ebram[®], Labtest[®] e CELM[®], respectivamente e seguindo metodologia proposta pelos fabricantes.

3.5.2.4 Peso relativo dos órgãos

A moela (sem conteúdo), coração, fígado, cecos e Bolsa cloacal foram pesados utilizando-se uma balança digital³, para mensurar o peso relativo (%PR = peso do órgão x 100/ peso corporal) em relação ao peso corporal de cada ave no momento do sacrifício.

3.5.4.5 Morfometria intestinal

Para a análise da morfometria intestinal foi coletado uma amostra de dois centímetros de comprimento de cada um dos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), que em seguida foram fixadas por 48 horas em solução de formol a 10%.

Após a fixação, as peças foram desidratadas em bateria de álcool etílico em concentrações crescentes (70, 80, 90 e absoluto), seguida de diafanização com xilol

² JJ Científica LJI-030

³ Marca Bel Engineering, modelo Mark 5200 e com precisão de 0,01g

e inclusão em parafina. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo rotativo à espessura de cinco micrômetros em 10 cortes transversais e semisseriados. Posteriormente foram dispostos em lâminas para serem coradas com hematoxilina e eosina (HE), seguida de montagem entre lâmina e lamínula e fixadas com resina Entellan^{®4}.

Os cortes histológicos foram analisados por meio de imagens digitalizadas com cinco vezes de aumento, obtidas em microscópio⁵, onde foi acoplada uma câmera⁶. Nas imagens foram mensuradas as alturas de 10 vilosidades e as profundidades de 10 criptas intestinais, sendo que a medição das mesmas foi através de um programa⁷, e posteriormente foram calculadas as relações entre altura de vilos e profundidade das criptas.

3.5.3 Digestibilidade dos nutrientes – Coleta total de excretas

Para avaliar a energia metabolizável e o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes foi realizada a coleta total de excretas, de 28 a 31 dias de idade. A excreta foi coletada uma vez ao dia, armazenada em sacos plásticos identificados, pesadas e congeladas para que ao final do período de coleta fossem descongeladas e homogeneizadas. Retirou-se uma amostra de aproximadamente 500g que foi seca em estufa a 60°C, durante 72 horas para a pré-secagem. Posteriormente foram realizadas as análises de matéria seca (Instituto Adolfo Lutz, 2008), matéria mineral (CBAA, 2009), proteína bruta (CBAA, 2013), extrato etéreo (AOCS, 2005), energia bruta em bomba calorimétrica⁸ e minerais (AOAC, 1995).

Durante este período de coleta de excreta foi determinada a quantidade de ração consumida por unidade experimental e amostras das dietas experimentais foram coletadas para análises químicas.

Com os resultados obtidos das análises laboratoriais das rações e excretas, foram calculados os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn), conforme equações propostas por Matterson et al. (1965). Calculou-se ainda o coeficiente de metabolizabilidade aparente total da energia bruta (CMATEB), sendo este em função

⁴ Merk

⁵ Zeiss, Scope A1

⁶ Zeiss, Axio Cam ICc 3

⁷ Image Pro-Plus 4.5

⁸ LECO AC500

da energia bruta e expresso em porcentagem; os coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes (CDAT) – matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio, fósforo e sódio, através da fórmula: $CDAT (\%) = [(NC - NEx)/NC] \times 100$, onde NC = quantidade do nutriente consumido e NEx = quantidade do nutriente excretado, conforme metodologia proposta por Sakomura; Rostagno (2007).

3.5.4 Digestibilidade dos nutrientes - Coleta da digesta ileal

Este ensaio foi conduzido em função da proposta de Rodehutschord (2013), o qual sugere que sejam alojados ao menos oito frangos de corte machos por gaiola, com um número mínimo de seis repetições por tratamento. As condições de manejo e alojamento devem seguir o manual da linhagem avaliada. Antes do período experimental, as aves devem receber uma dieta inicial com níveis adequados de todos os nutrientes, sendo que as dietas experimentais devem ser ofertadas de modo que o consumo seja à vontade durante cinco dias que precedem a coleta da digesta ileal, sendo esta realizada quando as aves estiverem entre 21 e 28 dias de idade. O conteúdo ileal coletado deve ser lavado com água destilada, realizado um pool para todas as aves da gaiola, imediatamente congelado e depois seco e moído.

Contudo, algumas adaptações foram necessárias, pois em um primeiro momento as coletas ileais seriam realizadas em diferentes idades (22 e 32 dias de idade), mas em virtude do número de animais em cada gaiola optou-se por utilizar duas aves por unidade experimental e avaliar o conteúdo individualmente, porém aos 22 dias de idade a amostragem foi significativamente pequena, inviabilizando a análise.

Então, aos 32 dias de idade foi realizada a coleta da digesta ileal para determinar o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes, onde as aves receberam as dietas experimentais durante cinco dias para adaptação, depois passaram a receber as dietas com 1% de Celite (indicador - fonte de sílica para determinação da cinza insolúvel em ácido, CIA).

Depois de sacrificadas, o íleo de cada ave foi exposto por incisão abdominal e seu conteúdo foi recolhido individualmente em recipiente plástico devidamente identificado, em seguida as digestas foram congeladas para desidratação em um

liofilizador⁹ por 48 horas. Após a liofilização, as amostras foram moídas para determinação dos teores de MS (Instituto Adolfo Lutz, 2008) e MM. Para a obtenção da MM as amostras foram queimadas em mufla a 600°C, durante 24 horas (CBAA, 2009). A partir da MM foi possível a obtenção do Ca, P e Na (AOAC, 1995) e cinza insolúvel em ácido (Van Keulen & Young, 1977) nas rações e na digesta ileal.

Com os resultados laboratoriais, foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente ileal (CDAI) de MS, MM e minerais utilizando-se as fórmulas: Fator de indigestibilidade no íleo (FI) = (CIA na dieta) / (CIA no íleo) e posteriormente: Digestibilidade dos nutrientes (%) = Nutriente na dieta (%) - (Nutriente na digesta ileal (%) x FI) / Nutriente na dieta (%).

3.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, com nível de significância de 5%, através do procedimento MIXED do SASTM (2008). Foram testados os efeitos fixos de dieta e fitase e a interação entre os fatores, bem como o efeito aleatório de bloco, conforme modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + B_i + D_j + F_k + DF_{jk} + \varepsilon_{ijk}$, onde, Y_{ijk} = valor observado no i -ésimo bloco, no j -ésimo teor de fósforo fítico, no k -ésimo nível de fitase; μ = média geral; B_i = efeito de bloco; $i = 1, 2, \dots, 8$; D_j = efeito do teor de fósforo fítico; $j =$ alto, baixo; F_k = efeito do nível de fitase; $k = 0, 500$; DF_{jk} = efeito da interação do teor de fósforo fítico com o nível de fitase; ε_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

3.7 Resultados

Os resultados obtidos no estudo serão encaminhados na forma de artigo para publicação para o periódico científico *Poultry Science*, conforme apresentado na sequência.

⁹ JJ Científica LJI-030

1 **4 Artigo I¹**

2
3 **METABOLISMO E NUTRIÇÃO**

4
5 **FITASE NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE**

6
7 **Fósforo fítico e fitase sobre o desempenho, características da tíbia, deposição mineral**
8 **tecidual e sérica de frangos de corte²**

9
10 A. A. S. Catalan^{*3}, V. S. Avila[‡], E. L. Krabbe[‡], L. S. Lopes[‡], V. L. Kawski[‡], E. G. Xavier^{*}, V.
11 F. B. Roll^{*}
12

13 **Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de*
14 *Zootecnia, Caixa Postal 354, 96010-000 – Pelotas, RS, Brasil; ‡Empresa Brasileira de*
15 *Pesquisa Agropecuária – Suínos e Aves, Caixa Postal 21, 89700-000 – Concórdia, SC.*
16

17 **RESUMO** Para mensurar a eficiência da fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo
18 fítico (P_{fít}), em função da inclusão ou não do farelo de trigo, sobre o desempenho,
19 características físicas da tíbia, deposição mineral tecidual e sérico, foram alojados 384 frangos
20 de corte, machos da linhagem *Cobb500*, os quais foram alojados em gaiolas metabólicas e
21 distribuídos em quatro tratamentos em um arranjo fatorial 2x2 em delineamento de blocos
22 casualizados com oito repetições e 12 aves por unidade experimental. A partir de 11 dias de
23 idade as aves receberam as dietas experimentais, que consistiram em: T1 – dieta com baixo
24 teor de P_{fít}; T2 – dieta com baixo teor de P_{fít} com fitase (500 FTU/kg); T3 – dieta com alto
25 teor de P_{fít} e T4 – dieta com alto teor de P_{fít} com fitase (500 FTU/kg). No período de 11 a 21
26 e 22 a 32 dias de idade foram avaliados o consumo médio de ração, peso médio corporal,

¹ Formatado conforme as normas do periódico Poultry Science.

² Parte da tese de doutorado apresentado à UFPel pelo primeiro autor

³ Autor para correspondência: aianec@yahoo.com.br

27 ganho de peso médio e conversão alimentar. Aos 22 e 32 dias de idade foram sacrificadas
28 duas aves por unidade experimental e delas foi coletada a tíbia esquerda para análise das
29 características físicas e deposição mineral, uma porção do músculo peitoral sem pele e o
30 sangue para avaliação dos níveis de cálcio, fósforo e sódio sérico. Os dados foram submetidos
31 à análise de variância, onde foram testados os efeitos fixos de dieta e fitase e a interação entre
32 os fatores, bem como o efeito aleatório de bloco. Houve interação para a variável rigidez
33 óssea e cálcio sérico. A inclusão de fitase em dietas com baixo e alto teor de P_{fit} não alterou o
34 desempenho, a resistência e flexibilidade óssea, a deposição mineral na tíbia e no músculo
35 peitoral, mas aumentou a rigidez óssea aos 22 dias de idade, e proporcionou maior teor de
36 cálcio sérico em aves alimentadas com a dieta baixo teor de P_{fit}, aos 32 dias de idade.

37 **Palavras-chave:** enzima, farelo de trigo, fósforo fítico, deposição mineral

38

39

INTRODUÇÃO

40 Altos índices produtivos e eficiente conversão alimentar são características da
41 moderna indústria avícola. Devido aos avanços no conhecimento das exigências nutricionais
42 dos animais e do conteúdo nutricional dos alimentos ofertados para as aves (Classen e
43 Bedford, 2001), esta evolução tem se mantido. Estes autores já salientavam que as melhorias
44 na nutrição deveriam estar voltadas para a máxima utilização dos nutrientes, mesmo daqueles
45 alimentos tidos como de menor qualidade ou pouco explorados em virtude da baixa
46 disponibilidade de nutrientes ou pela presença de fatores antinutricionais.

47 Em virtude disso, a enzima fitase tem sido largamente estudada e utilizada nas dietas
48 de não ruminantes com o intuito de aumentar a disponibilidade do fósforo fítico (P_{fit}) e de
49 outros minerais e nutrientes (Amerah et al., 2014; Liu et al., 2014).

50 Segundo Guenter (1997) a degradação do P_{fit} no trato digestivo pode ocorrer devido à
51 fitase intestinal, a produzida por microrganismos presentes no intestino ou pela fitase natural

52 das matérias primas, contudo as ações destas fitases são pouco significantes. Em virtude disso
53 e dos avanços da biotecnologia, a produção da fitase em nível industrial a partir de cepas
54 microbiana ou bacteriana é vasta.

55 Com a inclusão da fitase, e obtendo um maior aproveitamento do fósforo, é possível
56 aumentar a qualidade óssea, a qual é de extrema importância na produção de frangos de corte
57 tendo em vista a velocidade de crescimento ósseo e ganho de peso corporal. Problemas de
58 lesões durante a captura, transporte e abate de frangos podem ser agravadas quando estas aves
59 não apresentam uma boa formação óssea, repercutindo em elevado índice de condenação de
60 carcaças e perdas econômicas.

61 Outro fator importante da utilização da fitase é a possibilidade de inclusão de
62 alimentos alternativos, como o farelo de trigo que é rico em substrato para a enzima atuar.
63 Mas dados que demonstrem os efeitos da suplementação da enzima fitase em dietas de
64 frangos de corte contendo farelo de trigo, ainda são escassos. Entretanto, existem evidências
65 que a adição de fitase pode aumentar a degradação do P_{fit} do farelo de trigo, permitindo que o
66 alimento seja usado em níveis mais elevados, disponibilizando proporções consideráveis de
67 fósforo e outros minerais como cálcio, zinco, cobre e outros, reduzindo os custos com
68 alimentação, excreção e a consequente poluição ambiental (Pourreza e Classen, 2001; Classen
69 e Bedford, 2001; Kerr et al., 2010).

70 Os dados obtidos até então quanto a biodisponibilidade do fósforo são qualitativos,
71 mas que para uma eficiente formulação de dietas, visando o mínimo de excreção de
72 nutrientes, é necessário ter conhecimento do percentual do mineral que é retido pelo animal
73 (Shastak e Rodehustscord, 2013).

74 Diante disso, com este trabalho objetivou-se avaliar a eficiência de fitase em diferentes
75 dietas (baixo e alto teor de P_{fit}) para frangos de corte sobre o desempenho, características
76 físicas da tíbia e deposição mineral tecidual e sérica.

77

78

MATERIAL E MÉTODOS

79

80 Todos os procedimentos de experimentação animal utilizados no presente estudo
81 foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade
82 Federal de Pelotas, sob o número 6866.

83

84 *Animais, instalações e manejo experimental*

85 O experimento foi conduzido na sala de metabolismo da Embrapa Suínos e Aves,
86 durante 32 dias experimentais, onde foram alojados 384 frangos de corte com um dia de
87 idade, da linhagem *Cobb500*, distribuídos em gaiolas metabólicas de metal, equipadas com
88 comedouro tipo calha e bebedouro tipo *nipple*, sendo o alimento e água fornecidos à vontade.
89 As variáveis ambientais, temperatura e umidade relativa do ar foram registradas e ajustadas
90 diariamente, conforme o manual da linhagem (*Cobb500*, 2009).

91

92 *Delineamento experimental e dietas*

93 As aves foram distribuídas em quatro tratamentos resultantes de um arranjo fatorial
94 2x2 (dois níveis de fósforo fítico x presença ou ausência de fitase) em um delineamento
95 experimental de blocos casualizados, com oito repetições por tratamentos e 12 aves por gaiola
96 (unidade experimental).

97 No início do experimento as aves foram pesadas individualmente e distribuídas de
98 acordo com o peso inicial, permitindo que todos os tratamentos tivessem oito blocos, que
99 corresponderam às repetições, com aves de peso uniforme dentro de cada bloco, em uma faixa
100 que variou de 51,3 a 40,1g.

101 As dietas foram formuladas com a finalidade de obter dietas com diferentes níveis de
102 fósforo fítico, uma com baixo teor (milho e farelo de soja) e outra com alto teor de fósforo

103 fítico (inclusão de farelo de trigo), sendo estas formuladas de acordo com as exigências
104 nutricionais para frangos de corte conforme proposto por Tabelas Brasileiras para Aves e
105 Suínos (2011), seguindo uma formulação para que as dietas apresentassem níveis similares de
106 energia metabolizável, proteína bruta, cálcio, fósforo disponível, sódio e aminoácidos
107 digestíveis, apesar de ter sido necessário a inclusão de inerte, farelos com elevado teor de
108 fibra e óleo vegetal, assumiu-se a ideia de que os níveis estavam dentro de uma faixa
109 fisiologicamente aceitável, a ponto de não afetar o desempenho animal e as respostas
110 avaliadas.

111 No manejo alimentar, visando atender a metodologia proposta por Rodehutschord
112 (2013), do início até os 10 dias de idade, todas as aves receberam a mesma dieta basal. Com
113 11 dias de idade as aves receberam as dietas experimentais que consistiram em: T1 – dieta
114 com baixo teor de fósforo fítico; T2 – dieta com baixo teor de fósforo fítico com fitase (500
115 FTU/kg); T3 – dieta com alto teor de fósforo fítico e T4 – dieta com alto teor de fósforo fítico
116 com fitase (500 FTU/kg)), conforme apresentado na Tabela 1. Foi utilizada uma fitase
117 comercial, produzida a partir do *Aspergillus ficuum* (3-phytase (EC 3.1.3.8)).

118 O teor de fitase presente em cada alimento foi analisado seguindo a metodologia ISO
119 (2008) e o teor de fósforo fítico foi determinado conforme De Boever et al. (1994), para
120 posteriormente determinar o percentual de fósforo fítico, obtido com base no peso molecular
121 das seis moléculas de fósforo em relação ao peso molecular da molécula de fitato íntegra.

122

123 ***Desempenho***

124 As variáveis de desempenho foram avaliadas de 11 a 21 e 22 a 32 dias de idade, onde
125 as aves foram pesadas para obter o peso médio corporal (PMC) e ganho de peso médio
126 (GPM). A ração fornecida e as sobras também foram pesadas em cada fase, para determinar o

127 consumo médio de ração (CMR) e a conversão alimentar (CA), obtida através da relação
128 CMR/GPM.

129

130 ***Coleta de amostras***

131 Aos 22 e 32 dias de idade duas aves por unidade experimental foram separadas
132 aleatoriamente, pesadas, sacrificadas por deslocamento cervical (Art.14 da Resolução nº1000,
133 CFMV, 2012) e delas retirada a tíbia esquerda, uma porção do músculo peitoral (*Pectoralis*
134 *major*) sem pele e sangue para análises.

135

136 ***Características físicas da tíbia***

137 A avaliação da resistência óssea foi realizada usando-se um texturômetro⁴. Os ossos
138 foram posicionados sob dois suportes com espaço entre eles de 40 mm. Rath et al. (1999)
139 descreve que a resistência à quebra é representada pelo valor de força e está relacionada entre
140 fatores tais como o tamanho e à composição mineral do osso; a relação entre a força e a
141 distância (tamanho do osso) representa a rigidez do osso; as medidas de força e a rigidez estão
142 relacionadas ao estresse (fratura) e tensão do osso; o estresse representa a resistência à
143 deformação, enquanto a tensão representa a percentagem de deformação.

144

145 ***Deposição mineral na tíbia***

146 Após a análise física, as tíbias foram secas em estufas à 105°C (Instituto Adolfo Lutz,
147 2008) e submetidas à mufla para obtenção da matéria mineral (CBAA, 2009), que
148 posteriormente foram utilizadas para determinação do Ca e P, conforme metodologia de
149 AOAC (1995).

150

⁴Texture Analyser - TA XT Plus Texture Analyzer ©Texture Technologies Corporation) com sonda 3-Point Bending Rig (HDP/3PB e HDP/90) e o software Exponent (Stable Micro Systems

151 ***Deposição mineral no músculo peitoral***

152 Após o congelamento, a porção do músculo peitoral (*Pectoralis major*) sem pele foi
153 cortada em cubos e depositada em bandeja de alumínio identificada e submetida à
154 desidratação em um liofilizador⁵, durante 48 horas, para obtenção da matéria seca liofilizada
155 (MSLio). Em seguida, a amostra foi devidamente moída para determinações dos minerais
156 cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na), conforme metodologia de AOAC (1995). Obteve-se a
157 matéria seca (MS) em estufa convencional a 105°C (Instituto Adolfo Lutz, 2008) e da matéria
158 mineral (MM), o qual foi determinado com a queima das amostras em mufla, a 600°C, durante
159 24 horas (CBAA, 2009).

160

161 ***Nível mineral sérico***

162 Duas aves por unidade experimental foram sacrificadas e sangradas com corte na
163 jugular para a coleta do sangue para mensuração do teor mineral sanguíneo, onde as análises
164 foram realizadas a partir do soro, que foi obtido por centrifugação do sangue. Para as análises
165 de cálcio, fósforo e sódio foram utilizados kits comerciais Ebram[®], Labtest[®] e CELM[®],
166 respectivamente e seguindo metodologia proposta pelos fabricantes.

167

168 ***Análise estatística***

169 Os dados foram submetidos à análise de variância, com nível de significância de 5%,
170 através do procedimento MIXED do SASTM (2008). Foram testados os efeitos fixos de dieta e
171 fitase e a interação entre os fatores, bem como o efeito aleatório de bloco, conforme modelo
172 estatístico: $Y_{ijk} = \mu + B_i + D_j + F_k + DF_{jk} + \varepsilon_{ijk}$, onde, Y_{ijk} = valor observado no i -ésimo
173 bloco, no j -ésimo teor de fósforo fítico, no k -ésimo nível de fitase; μ = média geral; B_i =
174 efeito de bloco; $i = 1, 2, \dots, 8$; D_j = efeito do teor de fósforo fítico; $j =$ alto, baixo; F_k =

⁵ JJ Científica LJI-030

175 efeito do nível de fitase; $k = 0, 500$; DF_{jk} = efeito da interação do teor de fósforo fítico com o
176 nível de fitase; ε_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

177

178 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

179

180 ***Desempenho***

181 Na tabela 2 são apresentados os resultados obtidos para o desempenho no período
182 experimental, onde é possível observar que não houve interação entre os fatores analisados
183 para nenhuma variável estudada. Entretanto, considerando os efeitos separadamente, as aves
184 alimentadas com a dieta com baixo teor de P_{fít}, no período de 11 a 21 dias de idade,
185 apresentaram maior CMR, PMC, GPM e a melhor CA em comparação as aves que receberam
186 a alto teor de P_{fít} na dieta.

187 Na fase de crescimento, de 22 a 32 dias de idade, as aves que receberam a dieta com
188 alto teor de P_{fít} apresentaram maior CMR em comparação as aves que receberam baixo
189 fósforo fítico. Esta dieta mesmo apresentando alto teor de fibra (3,89%), em função do farelo
190 de trigo, o que pode ter colaborado com a redução no consumo alimentar das aves.

191 A suplementação de fitase na dieta de aves tem apresentado efeitos positivos para o
192 desempenho dos animais (Technical Information, 2003). Mas no presente estudo, tal fato não
193 foi observado, mesmo utilizando um alimento com alto teor de P_{fít} (farelo de trigo), o que é
194 substrato para atuação da enzima, logo esta não proporcionou melhorias no desempenho dos
195 animais. Liu et al. (2014) salientam que o P_{fít} presente no trigo é localizado no aleurona e em
196 virtude da natureza fibrosa desta porção acaba limitando o acesso da fitase ao seu substrato,
197 impedindo assim a degradação do P_{fít}. Além disso, Kleyn (2013) salienta que a fitase tem
198 impacto sobre as propriedades antinutricionais do P_{fít}, na forma de ácido fítico ou mio-

199 inositol hexafosfato (IP6), e que, embora não diretamente mensuráveis poderá ter efeito
200 positivo sobre o desempenho das aves.

201 No presente trabalho a inclusão de fitase ou do farelo de trigo não proporcionaram os
202 melhores resultados, contudo os dados de desempenho estão dentro do esperado para a
203 linhagem. E, diferente destes achados, Pourreza e Classen (2001) avaliaram o efeito da
204 inclusão de 25% de farelo de trigo na dieta de frangos de corte com diferentes níveis de fitase
205 e xilanase, constataram que a fitase, no seu efeito isolado, promoveu uma melhor conversão
206 alimentar, indicando uma resposta benéfica ao uso de fitase em dietas com farelo de trigo, em
207 virtude da melhor utilização do P_{fit} e outros constituintes nutricionais.

208

209 *Características físicas da tíbia*

210 Aos 22 dias de idade dos frangos do corte foi possível observar interação significativa
211 na rigidez óssea, sendo que a adição de fitase na dieta com baixo teor de fósforo fítico
212 proporcionou maior rigidez óssea, tal fato também foi observado ao avaliar o efeito da fitase,
213 mas entre dietas, sendo que, a dieta com menor teor de P_{fit} forneceu maior rigidez óssea. A
214 resistência e flexibilidade óssea apresentaram diferença em função da dieta, em seu efeito
215 isolado, onde a dieta com baixo teor de fósforo fítico, e proporcionou melhores resultados,
216 consequentemente maior qualidade óssea.

217 Aos 32 dias de idade, foi observada diferença significativa para o efeito principal da
218 dieta, onde as aves que receberam a dieta com alto teor de P_{fit} apresentaram uma maior
219 rigidez óssea.

220 Os trabalhos encontrados na literatura apresentam resultados referentes à resistência
221 óssea e composição mineral das tíbias (Catalá-Gregori et al., 2006; Fukayama et al., 2008;
222 Oliveira et al., 2008; Selle et al., 2009; Jiang et al., 2013; Olukosi e Fru-Nji, 2014), porém a

223 rigidez e a flexibilidade são outras variáveis que podem determinar a qualidade óssea, onde
224 segundo Currey (2003) quanto maior a rigidez óssea, mais susceptível à quebra o osso estará.

225 Neste estudo, a fitase não foi eficiente para melhorar as características ósseas
226 avaliadas, pois não foi observado efeito da fitase para nenhuma das variáveis, tanto aos 22
227 quanto aos 32 dias de idade. Contudo, Fukayama et al. (2008) testando dietas que
228 proporcionaram uma maior quantidade de ácido fítico e diferentes níveis de inclusão de fitase
229 constataram que a inclusão de até 750 FTU de fitase/kg na ração melhora a resistência óssea e
230 consequentemente a mineralização óssea.

231

232 ***Deposição mineral tecidual – tíbia***

233 Não houve interação significativa entre os fatores avaliados para a deposição mineral
234 na tíbia de frangos de corte. Entretanto, o efeito principal de dieta foi significativo aos 22 dias
235 de idade, para a matéria mineral e fósforo, onde aves alimentadas com a dieta com baixo teor
236 de P_{fit} apresentaram uma maior deposição destes, conforme apresentado na tabela 4.

237 Segundo Rath et al. (2000) altos níveis de fibras e fósforo fítico nas dietas pode
238 interferir na absorção dos minerais, especialmente cálcio e fósforo, deixando o osso mais
239 susceptível a quebra, e estes fatores podem ser amenizados com a adição de enzimas
240 exógenas. Porém, no presente estudo a ação da enzima não foi observada, pois a fitase não foi
241 eficiente para proporcionar uma maior deposição dos minerais, e sim, a dieta com baixo teor
242 de fósforo fítico. Tal fato é abordado por Kornegay et al. (1999), os quais relataram a
243 eficiência da fitase em aumentar a disponibilidade do fósforo em dietas a base de milho e
244 farelo de soja, ou seja, baixo teor de fósforo fítico.

245

246 ***Deposição mineral tecidual – músculo peitoral***

247 Na tabela 5 são apresentados os resultados referentes à deposição mineral no músculo
248 peitoral. Não houve interação significativa entre dieta e fitase, entretanto a dieta, em seu efeito
249 principal, apresentou diferença para a variável matéria mineral e sódio aos 32 dias de idade.
250 Aves alimentadas com a dieta com alto teor de Pfit apresentaram uma maior concentração de
251 matéria mineral, mas o mesmo não foi observado para a variável sódio.

252 Os resultados para esta variável ainda são inconsistentes e de difícil comparação, pois
253 não existem trabalhos neste sentido, porém Shastak e Rodehutsord (2013) salientam a
254 importância de buscar alternativas para determinação quantitativa de disponibilidade de
255 fósforo, com isso a avaliação tecidual torna-se uma opção. Silva e Pascoal (2014) descrevem
256 que determinar a quantidade de mineral retido no corpo do animal é um excelente parâmetro,
257 contudo existem várias desvantagens para este método, pois é problemas na amostragem
258 podem conduzir a uma variação do valor estimado do mineral do corpo.

259

260 *Nível mineral sérico*

261 Na tabela 6 são apresentados os resultados dos níveis séricos de cálcio, fósforo e sódio
262 avaliados aos 22 e 32 dias de idade dos frangos de corte.

263 É possível observar interação entre os fatores teor de Pfit e fitase para o cálcio sérico
264 aos 32 dias de idade das aves. Aves que receberam a dieta com baixo teor de Pfit e fitase
265 apresentaram maior nível de cálcio sérico quando comparado à mesma dieta sem fitase. E as
266 aves que receberam a dieta com baixo teor de Pfit e fitase apresentaram o maior nível de
267 cálcio sérico quando comparado às que receberam a dieta com alto teor de Pfit e fitase.

268 Resultados semelhantes foram encontrados por Ghasemi et al. (2006), demonstrando
269 que a suplementação de fitase na dieta de frangos de corte promoveu a liberação do fósforo e
270 cálcio complexados ao Pfit, potencializando assim a disponibilidade do cálcio para ser
271 absorvido pelas aves. Também salientam que as aves tiveram uma melhor resposta em

272 virtude da adequação do fósforo não fítico presente na dieta, corroborando assim com os
273 achados do presente trabalho, onde as dietas com baixo teor de Pfit e fitase apresentaram
274 maior concentração do cálcio a nível sérico, permitindo a utilização do mesmo pelos tecidos
275 que o demandam, conforme demonstrado nos resultados deste estudo ao analisar tíbias e
276 músculo peitoral.

277 Cromwell (1999) salienta que em função dos mecanismos homeostáticos que
278 controlam o cálcio e fósforo sérico, a concentração destes minerais no soro não é indicador de
279 adequação dietética, mas a porcentagem de cinzas no osso, peso das cinzas dos ossos e
280 resistência à quebra são indicadores muito mais sensíveis do que as concentrações séricas,
281 pois, as aves demandam um maior aporte de cálcio e fósforo em função da formação óssea.

282 Conclui-se que a inclusão de fitase em dietas com alto e baixo teor de Pfit não
283 melhorou o desempenho, a resistência e flexibilidade óssea, a deposição mineral na tíbia e no
284 músculo peitoral, mas aumentou a rigidez óssea aos 22 dias de idade, e proporcionou maior
285 teor de cálcio sérico em aves alimentadas com a dieta contendo baixo teor de Pfit aos 32 dias
286 de idade.

287

288

REFERÊNCIAS

289 Amerah, A. M., P. W. Plumstead, L. P. Barnard e A. Kumar. 2014. Effect of calcium level
290 and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers
291 fed corn-based diets. *Poult. Sci.* 93:906–915.

292

293 AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. *Official Methods of Analysis*.
294 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

295

296 Catalá-Gregori, P., V. García, F. Hernández, J. Madrid e J. J. Cerón. 2006. Response of
297 broilers to feeding low-calcium and phosphorus diets plus phytase under different
298 environmental conditions: body weight and tibiotarsus mineralization. *Poult. Sci.* 85:1923–
299 1931.

300

301 CBAA (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal). 2009. Cinzas ou matéria mineral.
302 Página 137. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*, São Paulo.

303

- 304 Classen, H. L. e M. R. Bedford. 2001. The use of enzymes to improve the nutritive value of
305 poultry feeds. Páginas 285-308 in Recent Developments in Poultry Nutrition. 2nd ed.
306 Wiseman, J. and P. C. Garnsworthy, Nottingham.
307
- 308 *Cobb500*. 2009. Manual de manejo de frangos de corte Cobb. Cobb-Vantress, Arkansas. 70p.
309
- 310 Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1000 de 11 maio 2012. Dispõe sobre
311 procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Diário Oficial
312 [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 maio 2012. Seção 1, n. 95, p.124-
313 125.
314
- 315 Cromwell, G. L. 1999. Metabolism and role of phosphorus, calcium and vitamin D3 in swine
316 nutrition. Páginas 101-110 in Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF
317 Reference Manual. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey.
318
- 319 Currey, J. D. 2003. The many adaptation of bone. *J.Biomechs.* 36: 1487–1495.
320
- 321 De Boever, J. L., W. Eeckhout e Ch. V. Boucque. 1994. The possibilities of near infrared
322 spectroscopy to predict total-phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in
323 vegetable feedstuffs. *Neth. J. Agric. Sci.* 42: 357–369.
324
- 325 Fukayama, E. H., N. K. Sakomura, L. R. B. Dourado, R. Neme, J. B. K. Fernandes e S. M.
326 Marcato. 2008. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade
327 dos nutrientes em frangos de corte. *R. Bras. Zootec.* 37: 629-635.
328
- 329 Ghasemi, H. A., A. M. Tahmasbi, Gh. Moghaddam, M. Mehri, S. Alijani, E. Kashefi e A.
330 Fasihi. 2006. The effect of phytase and *Saccharomyces cerevisiae* (sc47) supplementation
331 on performance, serum parameters, phosphorous and calcium retention of broiler chickens.
332 *Int. J. Poult. Sci.* 5:162-168.
333
- 334 Guenter, W. Phytases in cereals and hemicelluloses in canola (rapeseed) meal and lupins.
335 1997. Páginas 99-114 in *Enzymes in Poultry and Swine Nutrition*. Marquardt R. R. e Z. Han,
336 Ottawa.
337
- 338 Instituto Adolfo Lutz. 2008. Page 98 in *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4th
339 ed. Zenebon, O., N. S. Pascuet e P. Tiglea, São Paulo.
340
- 341 International Organization for Standardization. 2008. ISO/DIS 30024: Animal feeding stuffs:
342 determination of phytase activity. Geneva. 16 p.
343
- 344 Jiang, X. R., F. H. Luo, M. R. Qu, V. Bontempo, S. G. Wu, H. J. Zhang, H. Y. Yue e G. H.
345 Qi. 2013. Effects of nonphytate phosphorus levels and phytase sources on growth
346 performance, serum biochemical and tibia parameters of broiler chickens. *Italian J. Anim.*
347 *Sci.* 12:e53.
348
- 349 Kerr, B. J., T. E. Weber, P. S. Miller e L. L. Southern. 2010. Effect of phytase on apparent
350 total tract digestibility of phosphorus in corn-soybean meal diets fed to finishing pigs. *J.*
351 *Anim. Sci.* 88: 238-247.
352

- 353 Kleyn, R. 2013. Enzymes in poultry nutrition. Páginas 251-272 in *Chicken Nutrition: a guide*
354 *for nutritionists and poultry professional*. Kleyn, R., Leicestershire.
355
- 356 Kornegay, E. T., H. Qian e D. M. Dendow. 1999. Influence of dietary calcium levels or
357 calcium:phosphorus ratios on effectiveness of Natuphos[®] phytase for broilers and turkeys.
358 Páginas 411-420 in *Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF*
359 *Reference Manual*. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey.
360
- 361 Liu, S. Y., D. J. Cadogan, A. Péron, H. H. Truong e P. H. Selle. 2014. Effects of phytase
362 supplementation on growth performance, nutrient utilization and digestive dynamics of
363 starch and protein in broiler chickens offered maize-, sorghum- and wheat-based diets.
364 *Anim. Feed Sci. Technol.* 194: 164-175.
365
- 366 Oliveira, M. C., R. H. Marques, R. A. Gravena, L. D. G. Bruno, E. A. Rodrigues e V. M. B.
367 Moraes. 2008. Qualidade óssea de frangos alimentados com dietas com fitase e níveis
368 reduzidos de fósforo disponível. *Acta Sci. Anim. Sci.* 30: 263-268.
369
- 370 Olukosi, O. A. e F. Fru-Nji. 2014. The interplay of dietary nutrient specification and varying
371 calcium to total phosphorus ratio on efficacy of a bacterial phytase: 1. Growth performance
372 and tibia mineralization. *Poult. Sci.* 93: 3037–3043.
373
- 374 Pourreza, J. e H. L. Classen. 2001. Effects of supplemental phytase and xylanase on phytate
375 phosphorus degradation, ileal protein and energy digestibility of a corn-soybean-wheat
376 bran diets in broiler chicks. *J. Agric. Sci. Technol.* 3: 19-25.
377
- 378 Rath, N. C., G. R. Huff, W. E. Huff e J. M. Balog. 2000. Factors regulating bone maturity and
379 strength in poultry. *Poult. Sci.* 79: 1024-1032.
380
- 381 Rath, N. C., J. M. Balog, W. E. Huff, G. B. Kulkarni e J. F. Tierce. 1999. Comparative
382 differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven- and
383 seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. *Poult. Sci.* 78:1232–
384 1239.
385
- 386 Rodehutsord, M. 2013. Determination of phosphorus availability in poultry. *World's Poult.*
387 *Sci. J.* 69: 687-698.
388
- 389 Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.
390 2011. 3rd ed. Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira,
391 D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. Viçosa. 252 páginas.
392
- 393 SAS Institute. 2008. *SAS User's Guide: Statistics*. Version 9.2 ed. SAS Institute Inc., Cary,
394 NC.
395
- 396 Selle, P. H., V. Ravindran e G.G. Partridge, 2009. Beneficial effects of xylanase and/or
397 phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention
398 and growth performance in wheat-based broiler diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153: 303–
399 313.
400

- 401 Shastak, Y. e M. Rodehutsord. 2013. Determination and estimation of phosphorus
402 availability in growing poultry and their historical development. *World's Poult. Sci. J.* 69:
403 569-586.
- 404
- 405 Silva, J. H. V., e L. A. F. Pascoal. 2014. Função e disponibilidade dos minerais. Pages 127-
406 142 in *Nutrição de Não Ruminantes*. Sakomura, N. K., J. H. V. Silva, F. G. P. Costa, J. B.
407 K. Fernandes e L. Hauschild, Jaboticabal.
- 408
- 409 Technical Information. 2003. Enzymes. Páginas 124-139 in *Products for the Feed Industry*.
410 BASF, Ludwigshafen.

411 **Tabela 1.** Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para frangos de corte

Ingredientes (kg)	1-10d		11-21d (Inicial)				22-32d (Crescimento)			
	Dieta Basal Pré-Inicial	Baixo Pfit* Sem fitase	Baixo Pfit Com fitase	Alto Pfit Sem fitase	Alto Pfit Com fitase	Baixo Pfit Sem fitase	Baixo Pfit Com fitase	Alto Pfit Sem fitase	Alto Pfit Com fitase	
Milho (7,5%)	50,69	63,92	63,92	48,69	48,69	72,42	72,42	52,91	52,91	
Farelo Soja (45%)	42,01	30,21	30,21	25,45	25,45	24,66	24,66	20,32	20,32	
Farelo Trigo (14%)	0,00	0,00	0,00	20,00	20,00	0,00	0,00	20,00	20,00	
Óleo de soja	3,14	0,00	0,00	2,90	2,90	0,00	0,00	4,41	4,41	
Caulin	0,00	2,83	2,83	0,06	0,06	0,58	0,58	0,00	0,00	
Fosfato bicálcico ¹	1,80	1,00	1,00	0,76	0,76	0,78	0,78	0,54	0,54	
Calcário ²	0,97	0,71	0,71	0,83	0,83	0,62	0,62	0,73	0,73	
Sal iodado	0,53	0,44	0,44	0,56	0,56	0,35	0,35	0,34	0,34	
DL-metionina	0,32	0,22	0,22	0,23	0,23	0,16	0,16	0,18	0,18	
L-lisina	0,24	0,32	0,32	0,38	0,38	0,22	0,22	0,28	0,28	
Premix vitamínico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	
Premix mineral ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	
L-treonina	0,11	0,13	0,13	0,17	0,17	0,05	0,05	0,09	0,09	
Fitase ⁵	0,00	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Composição nutricional										
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2950	2850	2850	2850	2850	3000	3000	3000	3000	
Proteína Bruta (%)	22,98	18,59	18,59	18,58	18,58	16,46	16,46	16,37	16,37	
Fibra Bruta (%)	-	2,70	2,70	4,09	4,09	2,55	2,55	3,89	3,89	
Extrato Etéreo (%)	-	2,84	2,84	5,78	5,78	3,06	3,06	7,34	7,34	
Cálcio (%)	0,920	0,601	0,601	0,600	0,600	0,500	0,500	0,500	0,500	
Sódio (%)	0,220	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	
Lisina dig.	-	1,100	1,100	1,100	1,100	0,890	0,890	0,900	0,900	
Metionina dig.	-	0,460	0,460	0,460	0,460	0,370	0,370	0,390	0,390	
Fósforo disponível (%)	0,470	0,300	0,300	0,300	0,300	0,249	0,249	0,250	0,250	
Fósforo total (%)	0,734	0,542	0,542	0,622	0,622	0,485	0,485	0,559	0,559	
Pfit calculado (%) ⁶	-	0,242	0,242	0,322	0,322	0,236	0,236	0,309	0,309	
Pfit analisado (%) ⁷	-	0,225	0,225	0,335	0,335	0,250	0,250	0,327	0,327	
Fitase adicionada	-	0	500	500	500	0	500	0	500	
Fitase determinada ^{8,9}	-	0	690	640	1315	135	725	330	1175	

412 *Pfit – fósforo fítico; ¹Cálcio: mínimo 210g/kg, máximo 250g/kg; Fósforo: 180g/kg; ²Cálcio: mínimo 33%; ³Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A: 9000000.000 UI, Vitamina D3: 2500000.00 UI, Vitamina
413 E: 20000.00 UI, Vitamina K3: 2500.00mg, Vitamina B1: 1500.00mg, Vitamina B2: 6000.00mg, Vitamina B6: 3000.00mg, Vitamina B12: 12000.00mcg, Ácido Pantotênico: 12g, Niacina: 25g, Ácido Fólico: 800.00mg,
414 Biotina: 60.00mg, Selênio: 250.00mg. ⁴Níveis de garantia por kg do produto: Cobre: 20g, Ferro: 100g, Manganês: 160g, Cobalto: 2000.00mg, Iodo: 2000.00mg, Zinco: 100g. ⁵Natuphos®, 10000 FTU/g; ⁶Fósforo Fítico
415 calculado = fósforo total – fósforo disponível; ⁷Níveis obtidos conforme relatório de *Enzyme Services and Consultancy* – AB Vista; ⁸Nível de fitase (FTU/kg de alimento) conforme certificado de Ensaio CBO – Análises
416 laboratoriais; ⁹ Os níveis esperados normalmente não coincidem com os níveis suplementados em função da fitase natural presente na matéria prima, porém assume-se que esta não tem atuação a nível de trato
417 gastrointestinal.

418 **Tabela 2.** Consumo médio de ração (CMR), peso médio corporal (PMC), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA) para frangos
 419 de corte, machos, *Cobb 500* alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}), com e sem fitase (média±erro padrão).

Período (dias de idade)	Variáveis	Dieta P _{fít}	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação		
			0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
11 a 21 ¹	CMR (g/ave)	Alto	724,25± 2,92 ^B	716,81± 5,15 ^B	0,0003	0,6644	0,3888
		Baixo	743,46± 6,51 ^A	745,94±11,19 ^A			
	PMC (g/ave)	Alto	756,98± 8,44 ^B	758,71± 8,69 ^B	<0,0001	0,5616	0,4527
		Baixo	816,02±16,20 ^A	802,66±13,38 ^A			
	GPM (g/ave)	Alto	495,26± 5,92 ^B	496,05± 6,16 ^B	<0,0001	0,5483	0,4909
		Baixo	554,77±11,29 ^A	543,39±12,18 ^A			
	CA (g/g)	Alto	1,463±0,013 ^B	1,446±0,016 ^B	<0,0001	0,6499	0,1360
		Baixo	1,343±0,020 ^A	1,375±0,013 ^A			
22 a 32 ²	CMR (g/ave)	Alto	1413,45± 17,91 ^A	1418,55± 19,41 ^A	0,0319	0,9924	0,6266
		Baixo	1395,17± 15,29 ^B	1390,27± 20,23 ^B			
	PMC (g/ave)	Alto	1613,69± 23,43	1605,45± 20,59	0,0771	0,3948	0,6572
		Baixo	1659,12± 23,14	1633,17± 31,56			
	GPM (g/ave)	Alto	856,74±17,69	846,75±12,69	0,3221	0,4542	0,9323
		Baixo	843,04±11,22	830,51±22,89			
	CA (g/g)	Alto	1,652±0,020	1,677±0,025	0,8992	0,3056	0,9807
		Baixo	1,656±0,013	1,679±0,031			

420 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com 12 aves por unidade experimental

421 ²Médias obtidas a partir de oito repetições com 10 aves por unidade experimental

422 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

423 **Tabela 3.** Resistência óssea, flexibilidade e rigidez da tíbia aos 22 e 32 dias de idade de frangos de corte, machos, Cobb 500 alimentados com
 424 dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)

Período	Variáveis ¹	Dieta P _{fít}	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação		
			0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
22 dias de idade	Resistência óssea (kgf)	Alto	16,92± 0,88 ^B	16,60± 0,43 ^B	0,0014	0,5268	0,2802
		Baixo	18,69± 0,91 ^A	19,89± 0,30 ^A			
	Flexibilidade óssea (kgf.mm)	Alto	29,35± 1,93 ^B	27,63± 1,59 ^B	0,0209	0,8444	0,4512
		Baixo	32,42± 2,12 ^A	33,43± 1,37 ^A			
	Rigidez óssea (mm)	Alto	5,56± 0,32 ^{Bb}	5,15± 0,55 ^{Bb}	0,0059	0,3188	0,0437
		Baixo	5,89± 0,33 ^{Bb}	7,05± 0,13 ^{Aa}			
32 dias de idade	Resistência óssea (kgf)	Alto	29,46± 1,56	30,75± 1,08	0,9497	0,2795	0,8859
		Baixo	29,67± 1,17	30,67± 1,05			
	Flexibilidade óssea (kgf.mm)	Alto	53,43± 5,00	54,00± 2,90	0,8347	0,7800	0,6556
		Baixo	54,25± 3,68	51,75± 3,50			
	Rigidez óssea (mm)	Alto	9,44± 0,38 ^A	9,08± 0,61 ^A	0,0242	0,8368	0,3964
		Baixo	7,64± 0,90 ^B	8,22± 1,07 ^B			

425 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

426 ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha diferem pelo teste F (p<0,05).

427 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

428 **Tabela 4.** Matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P) na tíbia de frangos de corte, machos, Cobb 500 aos 22 e 32 dias de idade alimentados
 429 com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)

Período	Variáveis ¹	Dieta P _{fít}	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação		
			0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
22 dias de idade	MM (%)	Alto	45,68± 0,28 ^B	44,55± 0,54 ^B	0,0002	0,4537	0,1182
		Baixo	47,01± 0,62 ^A	47,42± 0,36 ^A			
	Ca (%)	Alto	15,73± 0,17	15,22± 0,28	0,2030	0,6661	0,0979
		Baixo	15,63± 0,32	15,93± 0,14			
	P (%)	Alto	8,135±0,125 ^B	8,008±0,116 ^B	0,0121	0,8607	0,2076
		Baixo	8,298±0,118 ^A	8,464±0,087 ^A			
32 dias de idade	MM (%)	Alto	41,56± 0,73	42,35± 0,63	0,0540	0,0552	0,4577
		Baixo	42,36± 0,50	44,08± 0,59			
	Ca (%)	Alto	14,82± 0,31	15,05± 0,28	0,0811	0,1942	0,6183
		Baixo	15,18± 0,26	15,68± 0,23			
	P (%)	Alto	7,636±0,152	7,849±0,188	0,1123	0,4077	0,7158
		Baixo	7,991±0,154	8,074±0,202			

430 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

431 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

432 **Tabela 5.** Matéria seca liofilizada (MSLio), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na) no músculo peitoral de frangos de corte,
 433 machos, Cobb 500 aos 22 e 32 dias de idade alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro
 434 padrão)

Período	Variáveis ¹	Dieta	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação			
			P _{fít}	0	500	Efeito Principal		Interação
						Dieta	Fitase	
22 dias de idade	MSLio (%)	Alto		25,81± 0,13	25,71± 0,16	0,1039	0,2051	0,6307
		Baixo		26,08± 0,07	25,86± 0,13			
	MM (%)	Alto		6,266±0,181	6,134±0,082	0,5168	0,6753	0,6428
		Baixo		6,100±0,148	6,106±0,174			
	Ca (%)	Alto		0,012±0,001	0,011±0,000	0,2505	0,4907	0,9439
		Baixo		0,013±0,002	0,013±0,001			
	P (%)	Alto		1,123±0,013	1,118±0,011	0,7505	0,9174	0,6683
		Baixo		1,113±0,015	1,120±0,011			
	Na (%)	Alto		0,144±0,003	0,143±0,004	0,5714	0,9278	0,5506
		Baixo		0,144±0,003	0,146±0,004			
32 dias de idade	MSLio (%)	Alto		26,51± 0,13	26,54± 0,14	0,1077	0,1047	0,0664
		Baixo		26,54± 0,04	26,09± 0,16			
	MM (%)	Alto		6,236±0,096 ^A	6,212±0,169 ^A	0,0378	0,2958	0,3825
		Baixo		6,058±0,140 ^B	5,794±0,182 ^B			
	Ca (%)	Alto		0,011±0,000	0,012±0,001	0,8692	0,0836	0,5687
		Baixo		0,011±0,000	0,011±0,000			
	P (%)	Alto		1,058±0,010	1,089±0,008	0,7118	0,0801	0,1917
		Baixo		1,075±0,012	1,079±0,006			
	Na (%)	Alto		0,135±0,003 ^B	0,139±0,006 ^B	0,0243	0,1498	0,6008
		Baixo		0,142±0,003 ^A	0,150±0,004 ^A			

435 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

436 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

437 **Tabela 6.** Cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na) sérico aos 22 e 32 dias de idade de frangos de corte, machos, Cobb 500 alimentados com dietas
 438 com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão).

Período	Variáveis ¹	Dieta P _{fít}	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação		
			0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
22 dias de idade	Ca (mg/dL)	Alto	9,29± 0,34	8,85± 0,28	0,7848	0,2567	0,8300
		Baixo	9,13± 0,32	8,83± 0,32			
	P (mg/dL)	Alto	9,34± 0,10	9,43± 0,23	0,2309	0,9236	0,7530
		Baixo	9,13± 0,33	9,08± 0,18			
	Na (mEq/L)	Alto	137,13± 1,59	137,88± 0,59	0,8332	0,8332	0,4269
		Baixo	137,88± 0,68	137,44± 0,59			
32 dias de idade	Ca (mg/dL)	Alto	9,48± 0,10 ^{Bb}	9,44± 0,06 ^{Bb}	0,0008	0,1225	0,0438
		Baixo	9,60± 0,09 ^{Bb}	9,86± 0,07 ^{Aa}			
	P (mg/dL)	Alto	7,08± 0,21	6,93± 0,09	0,8504	0,5231	0,1235
		Baixo	6,79± 0,18	7,16± 0,15			
	Na (mEq/L)	Alto	139,31± 0,65	138,94± 0,65	0,1062	0,0825	0,3226
		Baixo	139,00± 0,37	137,69± 0,49			

439 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

440 ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha diferem pelo teste F (p<0,05).

441 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

1 **5 Artigo II¹**

2
3 **METABOLISMO E NUTRIÇÃO**

4
5 **FITASE NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE**

6
7 **Baixo e alto teor de fósforo fítico e fitase sobre o peso relativo de órgãos, coeficientes de**
8 **digestibilidade total e ileal e morfometria intestinal de frangos de corte²**

9
10 A. A. S. Catalan^{*3}, E. L. Krabbe[‡], V. S. Avila[‡], L. S. Lopes[‡], D. Surek[‡], V. F. B. Roll^{*}, E. G.
11 Xavier^{*}

12
13 **Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de*
14 *Zootecnia, Caixa Postal 354, 96010-000 – Pelotas, RS, Brasil; ‡Empresa Brasileira de*
15 *Pesquisa Agropecuária – Suínos e Aves, Caixa Postal 21, 89700-000 – Concórdia, SC.*
16

17 **RESUMO** Para avaliar a eficiência da fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico
18 (P_{fít}), em função da inclusão ou não do farelo de trigo, sobre o peso relativo de órgãos,
19 coeficientes de digestibilidade total e ileal e morfometria intestinal, foram alojados 384
20 frangos de corte, machos da linhagem *Cobb500*, em gaiolas metabólicas e distribuídos em
21 quatro tratamentos em um arranjo fatorial 2x2 em delineamento de blocos casualizados com
22 oito repetições e 12 aves por unidade experimental. A partir de 11 dias de idade as aves
23 receberam as dietas experimentais, que consistiram em: T1 – dieta com baixo teor de P_{fít}; T2
24 – dieta com baixo teor de P_{fít} com fitase (500 FTU/kg); T3 – dieta com alto teor de P_{fít} e T4
25 – dieta com alto teor de P_{fít} com fitase (500 FTU/kg). Aos 22 e 32 dias de idade foram
26 sacrificadas duas aves por unidade experimental para coleta da moela, coração, fígado, ceco,
27 bolsa cloacal, do conteúdo ileal e uma porção do duodeno, jejuno e íleo. De 28 a 31 dias de
28 idade foi realizada a coleta total de excretas para quantificar os coeficientes de digestibilidade

¹ Formatado conforme as normas do periódico Poultry Science

² Parte da Tese de doutorado apresentado à UFPel pelo primeiro autor.

³ Autor para correspondência: aianec@yahoo.com.br

29 aparente total. Os dados foram submetidos à análise de variância, onde foram testados os
30 efeitos fixos de dieta e fitase e a interação entre os fatores, bem como o efeito aleatório de
31 bloco. Houve interação significativa para a energia metabolizável aparente corrigida para
32 nitrogênio (EMAn) e para o coeficiente de digestibilidade total (CDAT) do cálcio, fósforo e
33 sódio, onde a dieta com baixo teor de P_{fit} com ou sem fitase proporcionou os melhores
34 resultados, exceto para o CDAT do sódio. Pode-se concluir que a adição de fitase em dietas
35 com baixo e alto teor de P_{fit} para frangos de corte não alterou o peso relativo dos órgãos, a
36 morfometria intestinal e o CDAI, mas proporcionou maior EMAn com a dieta baixo teor de
37 P_{fit} e melhor CDAT do cálcio e do fósforo com a dieta baixo teor de P_{fit}.

38

39 **Palavras-chave:** enzima, farelo de trigo, fósforo fítico, metodologia.

40

41

42

INTRODUÇÃO

43

44 A capacidade da fitase em hidrolisar o fitato é bem compreendida a partir de ensaios *in*
45 *vitro*, mas a sua atividade *in vivo*, permanece em grande parte desconhecida (Greiner e
46 Konietzny, 2011). Isto, em virtude das diferentes metodologias preconizadas no meio
47 científico para a avaliação da eficiência enzimática.

48

49 Além disso, existe um pluralismo quanto a definição de fósforo disponível e várias
50 abordagens estão em uso para determinar a disponibilidade deste, isso faz com seja difícil
51 interpretar e comparar resultados de diferentes laboratórios (Rodehutscord, 2013; Shastak e
52 Rodehutscord, 2013).

52

53 Para mudar este cenário, Rodehutscord (2013) propôs uma metodologia referencial,
54 visando a geração de resultados a partir da mesma base metodológica. Esta proposta
55 recomenda que as aves permaneçam sob uma dieta única (basal), seguida de uma fase de

55 adaptação (cinco dias) para posterior período de coletas, que deve ser entre 21 a 28 dias de
56 idade. Sugere-se ainda que as respostas de eficiência enzimática sejam avaliadas em função
57 do local de coleta ao longo do trato digestório, como coleta total *versus* coleta ileal, com isso
58 a recomendação é utilizar como referência a digestibilidade ileal.

59 A utilização da coleta ileal da digesta, também é sugerida por Warpechowski et al.
60 (2006) pois os mesmos consideram que os resultados obtidos a partir da digestibilidade ileal
61 não sofrem interferência da fermentação microbiana que ocorre no intestino grosso, nem
62 contaminação com nitrogênio proveniente da urina, considerando assim os dados mais
63 precisos.

64 Ao mesmo tempo, é importante ter conhecimento sobre a real disponibilidade de
65 fósforo a partir das matérias-primas fornecidas aos animais e ao mesmo tempo, avaliar até que
66 ponto a suplementação de fitase é capaz de aumentar a disponibilidade do fósforo utilizando
67 diferentes ingredientes. Segundo Greiner e Konietzny (2011) em função de questões
68 econômicas, a tendência na nutrição animal é a utilização de alimentos tidos de baixa
69 qualidade, mas com suplementação de enzimas com o intuito de melhorar a digestão e
70 absorção de nutrientes de baixa disponibilidade.

71 Em virtude disso, pode-se considerar que o farelo de trigo é um ingrediente
72 economicamente viável, por apresentar vantagens para a nutrição animal (Ali et al., 2008),
73 pois possui em torno de 14% de proteína bruta, 3,0% de extrato etéreo, 11% de fibra bruta e
74 13,5% de umidade (Butolo, 2010). Porém, segundo Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos
75 (2011) este alimento apresente um alto teor de fósforo fítico, em torno de 0,64%, o que
76 representa 66% do total do fósforo contido nesta matéria prima, podendo assim ser
77 considerado como um substrato para a enzima fitase.

78 Com isso, objetivou-se avaliar a eficiência da fitase em dietas com baixo e alto P_{fit} e
79 seus efeitos sobre peso relativo de órgãos, coeficiente de digestibilidade total e ileal e
80 morfometria intestinal de frangos de corte.

81

82 MATERIAL E MÉTODOS

83

84 Todos os procedimentos de experimentação animal utilizados no presente estudo
85 foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade
86 Federal de Pelotas, sob o número 6866.

87

88 *Animais, instalações e manejo experimental*

89 O estudo foi realizado na Embrapa Suínos e Aves, na sala de metabolismo, com
90 temperatura, umidade relativa do ar e iluminação controlados, conforme o manual da
91 linhagem (*Cobb500*, 2009). Nestas instalações foram alojadas 384 frangos de corte machos,
92 da linhagem *Cobb500*, com um dia de idade, em gaiolas metabólicas de metal, equipadas com
93 comedouro tipo calha e bebedouro tipo *nipple*, onde o alimento e a água foram fornecidos *ad*
94 *libitum*.

95

96 *Delineamento e dietas experimentais*

97 As aves foram distribuídas em quatro tratamentos resultantes de um arranjo fatorial
98 2x2 (dois níveis de P_{fit} x presença ou ausência de fitase) em um delineamento experimental
99 de blocos casualizados, com oito repetições por tratamentos e 12 aves por gaiola (unidade
100 experimental). No início do experimento as aves foram pesadas individualmente e distribuídas
101 de acordo com o peso inicial, permitindo que todos os tratamentos tivessem oito blocos, que

102 corresponderam às repetições, com aves de peso uniforme dentro de cada bloco, em uma faixa
103 que variou de 51,3 a 40,1g.

104 As dietas foram elaboradas com a finalidade de obter dietas com diferentes níveis de
105 fósforo fítico, uma com baixo (milho e farelo de soja) e outra com alto teor de fósforo fítico
106 (inclusão de farelo de trigo), sendo estas formuladas de acordo com as exigências nutricionais
107 para frangos de corte conforme proposto por Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011),
108 seguindo uma formulação para que as dietas apresentassem níveis similares de energia
109 metabolizável, proteína bruta, cálcio, fósforo disponível, sódio e aminoácidos digestíveis,
110 apesar de ter sido necessário a inclusão de inerte, farelos com elevado teor de fibra e óleo
111 vegetal, assumiu-se a ideia de que os níveis estavam dentro de uma faixa fisiologicamente
112 aceitável, a ponto de não afetar o desempenho animal e as respostas avaliadas.

113 No manejo alimentar, visando atender a metodologia proposta por Rodehutschord
114 (2013), do início até os 10 dias de idade, todas as aves receberam a mesma dieta basal. Com
115 11 dias de idade as aves receberam as dietas experimentais que consistiram em: T1 – dieta
116 com baixo teor de fósforo fítico; T2 – dieta com baixo teor de fósforo fítico com fitase (500
117 FTU/kg); T3 – dieta com alto teor de fósforo fítico e T4 – dieta com alto teor de fósforo fítico
118 com fitase (500 FTU/kg)), conforme apresentado na Tabela 1.

119 Foi utilizada uma fitase comercial, produzida a partir do *Aspergillus ficuum* (3-phytase
120 (EC 3.1.3.8)). O teor de fitase presente em cada alimento foi analisado seguindo a
121 metodologia ISO (2008) e o teor de fósforo fítico foi determinado conforme De Boever et al.
122 (1994), para posteriormente determinar o percentual de fósforo fítico, obtido com base no
123 peso molecular das seis moléculas de fósforo em relação ao peso molecular da molécula de
124 fitato íntegra.

125

126 ***Amostras coletadas***

127 Foram realizados dois abates, aos 22 e 32 dias de idade, sendo que em cada um
128 retirou-se duas aves por unidade experimental, as quais foram identificadas, pesadas e
129 sacrificadas por deslocamento cervical (Art.14 da Resolução nº1000, CFMV, 2012). Aos 22
130 dias de idade foi coletado moela, coração, fígado, ceco e Bolsa cloacal para determinar o peso
131 relativo destes órgãos. Aos 32 dias coletou-se o conteúdo ileal para análise da digestibilidade
132 ileal e uma porção do duodeno, jejuno e íleo para análise de morfometria intestinal.

133

134 ***Peso relativo dos órgãos***

135 A moela (sem conteúdo), coração, fígado, cecos e Bolsa cloacal foram pesados
136 utilizando-se uma balança digital⁴, para mensurar o peso relativo (%PR = peso do órgão x
137 100/ peso corporal) em relação ao peso corporal de cada ave no momento do sacrifício.

138

139 ***Digestibilidade dos nutrientes – Coleta total de excretas***

140 Para avaliar a energia metabolizável e o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes
141 foi realizada a coleta total de excretas, de 28 a 31 dias de idade. A excreta foi coletada uma
142 vez ao dia, armazenada em sacos plásticos identificados, pesadas e congeladas para que ao
143 final do período de coleta fossem descongeladas e homogeneizadas. Retirou-se uma amostra
144 de aproximadamente 500g que foi seca em estufa de circulação de ar forçado a 60°C, durante
145 72 horas para a pré-secagem. Posteriormente foram realizadas as análises de matéria seca
146 (Instituto Adolfo Lutz, 2008), matéria mineral (CBAA, 2009), proteína bruta (CBAA, 2013),
147 extrato etéreo (AOCS, 2005), energia bruta em bomba calorimétrica⁵ e minerais (AOAC,
148 1995). Durante este período de coleta de excreta foi determinada a quantidade de ração
149 consumida por unidade experimental e amostras das dietas experimentais foram coletadas
150 para análises químicas.

⁴ Marca Bel Engineering, modelo Mark 5200 e com precisão de 0,01g

⁵ LECO AC500

151 Com os resultados obtidos das análises laboratoriais das rações e excretas, foram
152 calculados os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável
153 aparente corrigida para nitrogênio (EMAn), conforme equações propostas por Matterson et al.
154 (1965). Calculou-se ainda o coeficiente de metabolizabilidade aparente total da energia bruta
155 (CMATEB), sendo este em função da energia bruta e expresso em porcentagem; os
156 coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes (CDAT) – matéria seca (MS),
157 matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fósforo (P) e
158 sódio (Na), através da fórmula: $CDAT (\%) = [(NC - NEx)/NC] \times 100$, onde NC =
159 quantidade do nutriente consumido e NEx = quantidade do nutriente excretado, conforme
160 metodologia proposta por Sakomura; Rostagno (2007).

161

162 *Digestibilidade dos nutrientes - Coleta da digesta ileal*

163 Este ensaio foi conduzido em função da proposta de Rodehutschord (2013), o qual
164 sugere que sejam alojados ao menos oito frangos de corte machos por gaiola, com um número
165 mínimo de seis repetições por tratamento. As condições de manejo e alojamento devem seguir
166 o manual da linhagem avaliada. Antes do período experimental, as aves devem receber uma
167 dieta inicial com níveis adequados de todos os nutrientes, sendo que as dietas experimentais
168 devem ser ofertadas de modo que o consumo seja à vontade durante cinco dias que precedem
169 a coleta da digesta ileal, sendo esta realizada quando as aves estiverem entre 21 e 28 dias de
170 idade. O conteúdo ileal coletado deve ser lavado com água destilada, realizado um pool para
171 todas as aves da gaiola, imediatamente congelado e depois seco e moído.

172 Contudo, algumas adaptações foram necessárias, pois em um primeiro momento
173 coletas ileais seriam realizadas em diferentes idades (22 e 32 dias de idade), mas em virtude
174 do número de animais em cada gaiola optou-se por utilizar duas aves por unidade

175 experimental e avaliar o conteúdo individualmente, porém aos 22 dias de idade a amostragem
176 foi significativamente pequena, inviabilizando a análise.

177 Então, aos 32 dias de idade foi realizada a coleta da digesta ileal para determinar o
178 coeficiente de digestibilidade dos nutrientes, onde as aves receberam as dietas experimentais
179 durante cinco dias para adaptação, depois passaram a receber as dietas com 1% de Celite
180 (indicador - fonte de sílica para determinação da cinza insolúvel em ácido, CIA).

181 Depois de sacrificadas, o íleo de cada ave foi exposto por incisão abdominal e seu
182 conteúdo foi recolhido individualmente em recipiente plástico devidamente identificado, em
183 seguida as digestas foram congeladas para desidratação em um liofilizador⁶ por 48 horas.
184 Após a liofilização, as amostras foram moídas para determinação dos teores de MS (Instituto
185 Adolfo Lutz, 2008) e MM. Para a obtenção da MM as amostras foram queimadas em mufla a
186 600°C, durante 24 horas (CBAA, 2009). A partir da MM foi possível a obtenção do Ca, P e
187 Na (AOAC, 1995) e cinza insolúvel em ácido (Van Keulen e Young, 1977) nas rações e na
188 digesta ileal.

189 Com os resultados laboratoriais, foram determinados os coeficientes de digestibilidade
190 aparente ileal (CDAI) de MS, MM e minerais utilizando-se as fórmulas: Fator de
191 indigestibilidade no íleo (FI) = (CIA na dieta) / (CIA no íleo) e posteriormente:
192 Digestibilidade dos nutrientes (%) = Nutriente na dieta (%) - (Nutriente na digesta ileal (%) x
193 FI) / Nutriente na dieta (%).

194

195 ***Morfometria intestinal***

196 Para a análise da morfometria intestinal foi coletada uma amostra de dois centímetros
197 de comprimento de cada um dos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), que
198 em seguida foram fixadas por 48 horas em solução de formol a 10%.

⁶ JJ Científica LJI-030

199 Após a fixação, as peças foram desidratadas em bateria de álcool etílico em
200 concentrações crescentes (70, 80, 90 e absoluto), seguida de diafanização com xilol e inclusão
201 em parafina. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo rotativo à espessura de
202 cinco micrômetros em 10 cortes transversais e semisseriados. Posteriormente foram dispostos
203 em lâminas para serem coradas com hematoxilina e eosina (HE), seguida de montagem entre
204 lâmina e lamínula e fixadas com resina Entellan^{®7}.

205 Os cortes histológicos foram analisados por meio de imagens digitalizadas com cinco
206 vezes de aumento, obtidas em microscópio⁸, onde foi acoplada uma câmera⁹. Nas imagens
207 foram mensuradas as alturas de 10 vilosidades e as profundidades de 10 criptas intestinais,
208 sendo que a medição das mesmas foi através de um programa¹⁰, e posteriormente foram
209 calculadas as relações entre altura de vilos e profundidade das criptas.

210

211 *Análise estatística*

212 Os dados foram submetidos à análise de variância, com nível de significância de 5%,
213 através do procedimento MIXED do SAS[™] (2008). Foram testados os efeitos fixos de dieta e
214 fitase e a interação entre os fatores, bem como o efeito aleatório de bloco, conforme modelo
215 estatístico: $Y_{ijk} = \mu + B_i + D_j + F_k + DF_{jk} + \varepsilon_{ijk}$, onde, Y_{ijk} = valor observado no i -ésimo
216 bloco, no j -ésimo teor de fósforo fítico, no k -ésimo nível de fitase; μ = média geral; B_i =
217 efeito de bloco; $i = 1, 2, \dots, 8$; D_j = efeito do teor de fósforo fítico; $j =$ alto, baixo; F_k =
218 efeito do nível de fitase; $k = 0, 500$; DF_{jk} = efeito da interação do teor de fósforo fítico com o
219 nível de fitase; ε_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

220

⁷ Merk

⁸ Zeiss, Scope A1

⁹ Zeiss, Axio Cam ICc 3

¹⁰ Image Pro-Plus 4.5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

221

222

223 *Peso relativo dos órgãos*

224 Na tabela 2 são apresentados os resultados do peso relativo dos órgãos, aos 22 e 32
225 dias de idade, onde não foi observada interação entre os fatores nível de Pfit e fitase. Contudo,
226 aos 32 dias de idade houve efeito isolado tanto do teor de Pfit como da fitase. A dieta com
227 alto teor de Pfit proporcionou maior peso relativo para a moela e a dieta com baixo teor de
228 Pfit maior peso relativo para o fígado dos frangos de corte.

229 No caso da dieta com um alto teor de Pfit, também é importante considerar o alto teor
230 de fibra alimentar em função do farelo de trigo, que conforme Mateos et al. (2012) pode
231 apresentar efeitos sobre o consumo voluntário, tamanho de órgãos, motilidade intestinal,
232 produção de enzimas, crescimento da microbiota, além de resultar em um maior
233 desenvolvimento e funcionalidade da moela, o que pode ser um indicativo do bom
234 funcionamento do trato gastrointestinal.

235 Ao fornecer uma dieta com alto teor de fósforo fítico, ou seja, com a inclusão do farelo
236 de trigo ocorreu diluição energética na dieta, sendo necessária a inclusão de óleo para mantê-
237 las isoenergéticas. Segundo Silva et al. (2014) a substituição de carboidrato ou proteína por
238 lipídeos, implica na redução do incremento calórico da dieta, fazendo com que o fígado seja
239 menos exigido em função do sistema enzimático menos complexo para digestão e absorção
240 destas moléculas, justificando assim o menor peso relativo observado no fígado.

241 A presença da fitase proporcionou maior peso relativo do coração, entretanto tal fato
242 não foi observado em estudo realizado por Wang et al. (2013), onde a inclusão de fitase não
243 afetou o peso do coração.

244 O ceco das aves que receberam dietas com fitase teve um menor peso relativo na
245 presença de fitase. Han (1997) justifica que a redução do peso dos órgãos pela suplementação

246 de enzimas exógenas pode estar relacionada com a eficiência da enzima em degradar fatores
247 antinutricionais.

248

249 *Digestibilidade dos nutrientes – Coleta total de excretas*

250 Houve interação significativa para o nível de P_{fit} e fitase na dieta para a EMAn.
251 Embora a EMAn formulada tenha sido a mesma, as aves que consumiram dieta a base de
252 milho e farelo de soja (baixo P_{fit}), apresentaram EMAn superior ao valor médio de EMAn
253 das dietas que continham farelo de trigo (alto P_{fit}), independente do uso ou não de fitase.

254 No caso de dietas de baixo P_{fit} (milho e farelo de soja), a fitase elevou o valor de
255 EMAn em 63 kcal/kg e quando a dieta continha elevado P_{fit} (milho + farelo de soja + farelo
256 de trigo), a suplementação de fitase repercutiu em um ligeiro decréscimo de EMAn (-38
257 kcal/kg). Estas respostas, embora não sendo estatisticamente significativas, mostram que a
258 relação substrato – fitase é ainda um tema de pesquisa, faltando mais compreensão sobre as
259 características do substrato para a otimização da resposta enzimática.

260 Kleyn (2013) menciona a que importância nutricional do P_{fit} não é limitada à
261 disponibilidade de fósforo, pois com a utilização da fitase é possível proporcionar benefícios
262 através de um aporte em outros componentes nutricionais da dieta. Corroborando com tal
263 informação, Selle e Ravindran (2007) ao revisarem diversos trabalhos concluíram que a
264 inclusão de 662FTU de fitase por quilograma de dieta, proporcionou a liberação de 85kcal de
265 EMA. No presente estudo, a dieta com baixo teor de P_{fit} e 500FTU de fitase proporcionou
266 uma liberação de 204 kcal de EMA e 189kcal de EMAn, em comparação a dieta com alto teor
267 de P_{fit} e fitase.

268 Considerando o efeito isolado do nível de P_{fit}, todos os parâmetros estudados foram
269 significativamente inferiores nas dietas com alto teor de P_{fit}, exceto para o coeficiente de

270 digestibilidade aparente total do extrato etéreo, que foi muito superior nas dietas que
271 continham farelo de trigo (alto P_{fít}).

272 Avaliando as dietas (baixo e alto teor de P_{fít}) e comparando apenas o efeito de fitase
273 (presença *vs* ausência) não foi observada diferença significativa para as variáveis de
274 digestibilidade e energia metabolizável.

275 Para obter dietas isoenergéticas foi necessário incluir óleo nas dietas com alto teor de
276 P_{fít} (farelo de trigo), o que, além de ser um método prático para elevar o conteúdo energético
277 e melhorar a conversão alimentar, reduzir a velocidade de passagem, favorecer a digestão e
278 absorção (Bertechini, 2013), promover o aumento da palatabilidade das rações (Wiseman et
279 al., 2001) resultou em um melhor CD_{ATEE}.

280

281 *Digestibilidade dos nutrientes – Coleta total de excretas e coleta ileal da digesta*

282 Houve interação significativa para os CD_{AT} do cálcio, fósforo e sódio. O CD_{AT} do
283 cálcio (CD_{ATCa}) e fósforo (CD_{ATP}) indicaram que aves que receberam a dieta com baixo
284 P_{fít} com e sem fitase apresentaram um coeficiente de digestibilidade superior, quando
285 comparada às que receberam dietas com alto teor de P_{fít} com e sem fitase, demonstrando
286 assim que uma dieta com baixo teor de P_{fít}, independente da presença ou não da fitase,
287 proporciona um melhor aproveitamento do cálcio e fósforo.

288 Contudo, analisando a interação dentro da dieta, aves que receberam a dieta com baixo
289 teor de P_{fít} com fitase apresentaram um CD_{ATCa} e CD_{ATP} de $\pm 6,78\%$ e $\pm 4,84\%$,
290 respectivamente, superior às que ganharam a dieta com baixo P_{fít} sem fitase, comprovando
291 neste caso a eficiência da fitase no aproveitamento do cálcio e fósforo.

292 Kornegay (1999) avaliou o efeito da fitase em uma dieta a base de milho e farelo de
293 soja, ou seja, baixo teor de P_{fít}, para frangos de corte, e concluiu que a resposta da fitase é
294 influenciada pelo nível de fósforo não fítico presente na dieta e que a liberação de fósforo por

295 unidade de fitase diminuiu à medida que houve aumento do nível de fitase na dieta.
296 Demonstrando assim, a eficiência da fitase em dietas com baixo teor de Pfit e que o nível
297 dobrado de inclusão de fitase nem sempre é o mais indicado, pois ocorrerá apenas um
298 aumento no custo efetivo da ração, sem proporcionar ganhos aos animais.

299 Assim como todas as enzimas, a fitase precisa de substrato para atuar (Kleyn, 2013),
300 no presente estudo optou-se por duas bases nutricionais, uma com baixo ácido fítico (milho e
301 farelo de soja) e outra com alto ácido fítico (milho, farelo de soja e 20% de farelo de trigo),
302 entretanto não foi possível observar eficiência da fitase na dieta com alto teor de Pfit.
303 Possivelmente, porque como salientam Liu et al. (2014) o Pfit presente no trigo é localizado
304 no aleurona e a natureza fibrosa desta porção acaba limitando o acesso da fitase ao seu
305 substrato, impedindo a degradação do Pfit.

306 Para o CDAT do sódio houve interação entre dieta e fitase, onde ao fornecer às aves a
307 dieta com alto teor de Pfit sem fitase estas apresentaram um melhor CDAT quando
308 comparada com a dieta com baixo teor de Pfit sem fitase. Assim como, as aves que receberam
309 a dieta com alto teor de Pfit sem fitase apresentaram um CDATNa maior do que as que
310 receberam a dieta com alto teor de Pfit com fitase. Segundo Maiorka e Macari (2002), o sódio
311 é rapidamente absorvido na porção inicial do intestino delgado, contudo, este pode ter uma
312 constante reabsorção nos túbulos renais, sendo que conforme exposto por Selle et al. (2009), o
313 Pfit e a fitase podem alterar o balanço eletrolítico, pois o Pfit pode diminuir a homeostase
314 ácido-base e comprometer os mecanismos de transporte de Na-dependentes, além da quelação
315 mineral, tais efeitos sendo minimizados pela ação da fitase (Liu et al., 2008).

316 Diferentemente, o CDAI do sódio não apresentou interação entre os fatores fitase e
317 dieta, contudo, quando avaliado a dieta, em seu efeito principal, aves que receberam a dieta
318 com alto teor de Pfit apresentaram um menor CDAINa, corroborando com os achados por
319 Ravindran et al. (2006) que também constataram que aumentando o nível de Pfit na dieta

320 ocorre uma diminuição da digestibilidade ileal do sódio. Possivelmente em função de uma
321 secreção endógena deste mineral a nível de lúmen intestinal, pois pode-se considerar que o
322 Pfít estimula a secreção de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) para tamponar o pH intestinal e,
323 independente deste mecanismo, a fitase tem um efeito “poupador” de Na no intestino delgado
324 (Ravindran et al., 2008), pois, conforme justificam Cowieson et al. (2009), este aumento do
325 sódio no lúmen intestinal em função da maior ingestão de Pfít proporciona uma hipersecreção
326 de mucina intestinal e gástrica, além do NaHCO_3 , sendo esta considerada um mecanismo de
327 proteção, pois o Pfít complexado à proteína pode ocasionar uma maior secreção de pepsina e
328 ácido clorídrico (HCl), tidos como “agressores endógenos”, contudo, a fitase pode neutralizar
329 este processo.

330 Nas variáveis CDAT da matéria seca (CDATMS) e mineral (CDATMM) foi
331 observado efeito isolado da dieta (nível de Pfít), sendo que aves alimentadas com a dieta com
332 baixo teor de Pfít apresentaram o CDAT superior àquelas da dieta com alto teor de Pfít.

333 Para o CDAI não foi observada interação significativa nas variáveis estudadas,
334 entretanto houve efeito isolado da dieta (teor de Pfít), sendo que aves que receberam a dieta
335 com baixo teor Pfít apresentaram um CDAI superior para todos os nutrientes, em comparação
336 àquelas que receberam a dieta com alto teor de Pfít. Em seu efeito isolado, a inclusão de fitase
337 proporcionou um CDAI superior para matéria mineral e fósforo, como era esperado,
338 principalmente para o fósforo.

339 A metodologia de avaliação dos coeficientes de digestibilidade, a partir do conteúdo
340 ileal, tem recebido atenção nos últimos anos principalmente para avaliar a digestibilidade dos
341 aminoácidos, mas também tem sido considerada uma importante ferramenta para avaliar
342 fontes de fósforo. No entanto, ainda é preciso estabelecer uma metodologia padrão para ser
343 utilizada mundialmente, modificando assim a pluralidade de protocolos, que dificultam a

344 comparação e discussão dos resultados (Rodehutschord et al., 2012; Rodehutschord, 2013;
345 Shastak e Rodehutschord, 2013).

346 Os resultados de digestibilidade de fósforo na coleta total em comparação com a ileal
347 se mostraram diferentes. Esta resposta leva a concluir que no conteúdo ileal a fitase atua bem,
348 mas quando a amostra é do conteúdo total não, podendo considerar então que suplementar
349 fitase em relação a não suplementá-la resulta na mesma magnitude de resposta em termos de
350 digestibilidade total de fósforo da dieta.

351 Tal fato pode ser resultado da ação dos microrganismos presentes no ceco, que podem
352 degradar o Pfit, por isso, Mroz et al. (1994) obtiveram melhores resultados de eficiência da
353 fitase analisando a digesta ileal ao invés da excreta. Ewing e Cole (1994) também salientam
354 que, em nível de intestino grosso, é possível ocorrer degradação de alguns compostos que não
355 foram digeridos nem absorvidos no intestino delgado, pois em função do processo de
356 fermentação ocorre a produção natural de enzimas hidrolíticas pelas bactérias anaeróbias.

357 Tais diferenças entre digestibilidade ileal e retenção de fósforo podem ser em função
358 da excreção de fósforo junto à urina ou absorção e secreção de fósforo após o íleo (Shastak et
359 al., 2012). Mutucumarana et al. (2014) salientam que estas diferenças podem estar associadas
360 aos ingredientes utilizados nas dietas.

361

362 *Coefficientes de correlação entre digestibilidade dos nutrientes – coleta total versus coleta* 363 *ileal*

364 Na tabela 5 são apresentados os coeficientes de correlação para a digestibilidade
365 aparente total e ileal dos nutrientes. A resposta mais interessante está relacionada com os
366 coeficientes de digestibilidade aparente do cálcio na ausência de fitase nas dietas. Em ambos
367 os casos (alto e baixo Pfit) e na ausência de fitase, observou-se uma correlação significativa,
368 entretanto, na presença de fitase esta variável não apresentou correlação comparando a fração

369 ileal e total. No caso do nutriente fósforo, observa-se que os coeficientes de digestibilidade
370 aparente total e aparente ileal, não apresentam correlação, portanto comparar dados de
371 digestibilidade ileal e total de fósforo em ensaios que usam fitase pode levar a interpretações
372 errôneas.

373 Os métodos testados apresentam resultados diferentes, podendo considerar então a
374 influência que alguns componentes dos alimentos exercem na digestão e absorção dos
375 nutrientes. Além disso, alguns alimentos apresentam a enzima fitase natural da matéria prima,
376 principalmente os subprodutos do trigo (Adams 2001; van der Klis e Versteegh, 2001; Leeson
377 e Summers, 2005), e quando incluídos acima de 15%, a fitase do alimento pode ser maior do
378 que os níveis de fitase comercial adicionados à dieta, e assim influenciar os resultados do
379 ensaio. Embora, neste caso os níveis de fitase endógeno sejam altos, é questionável se esta
380 enzima é funcional para a ave, em virtude do pH do trato gastrointestinal (Leeson e Summers,
381 2005).

382 Por outro lado, conforme Adams (2001) deve-se considerar o efeito da fermentação
383 que ocorre no intestino grosso, pois dependendo da manipulação da microflora do trato
384 gastrointestinal esta será uma importante estratégia para a nutrição. Contudo, o mesmo
385 salienta que a avaliação da microflora intestinal é difícil devido à diversidade das populações
386 microbianas e uma incapacidade técnica para cultivar bactérias viáveis encontradas no trato
387 gastrointestinal de um animal.

388

389 *Morfometria intestinal*

390 Na tabela 6 são apresentados os resultados das variáveis altura das vilosidades (μm),
391 profundidade de cripta (μm) e a relação vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo de frangos de
392 corte, avaliados aos 32 dias de idade.

393 No presente estudo não foi observado interação significativa entre os fatores
394 estudados, nem efeito isolado dos mesmos. Contudo, Wu et al. (2004), ao avaliarem a
395 influência da fitase em dietas a base de trigo e níveis adequados de fósforo, constataram que
396 as vilosidades do duodeno das aves não suplementadas com fitase, foram relativamente mais
397 curtas e engrossadas. Já a adição da fitase proporcionou o aumento da altura das vilosidades
398 quando comparado com o tratamento controle, mas não influenciou a altura das vilosidades da
399 porção do jejuno e íleo.

400 A importância em avaliar as características morfológicas intestinais, como altura de
401 vilosidades, é devido a capacidade absorptiva da mucosa intestinal, pois quanto maior a altura
402 do vilão maior é a área de contato dos enterócitos com o alimento, o que aumenta a área de
403 absorção dos nutrientes. Além disso, o adequado e rápido ganho de peso das aves está
404 diretamente relacionado com a integridade morfofuncional do sistema digestório (Gopinger et
405 al., 2014).

406 Pode-se concluir que a adição de fitase em dietas com baixo e alto teor de P_{fit} para
407 frangos de corte não alterou o peso relativo dos órgãos, a morfometria intestinal e o CDAI,
408 mas proporcionou maior EMAn com a dieta baixo teor de P_{fit} e melhor CDAT do cálcio e do
409 fósforo com a dieta baixo teor de P_{fit}.

410

411

REFERÊNCIAS

412

413 Adams, C. A. 2001. Total nutrition: Feeding animals for health and growth. 1st ed.
414 Nottingham. 244p.

415

416 Ali, M. N., M. S. Abou Sekken e K. El-Kloub M. El. Mostafa. 2008. Incorporation of wheat
417 bran in broilers diets. Int. J. Poult. Sci. 7: 6-13.

418

419 AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis.
420 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

421

422 AOCS (American Oil Chemists' Society). 2005. Official Method Am 5-04, Rapid
423 determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. Urbana: Official
424 Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.

- 425
426 Bertechini, A. G. 2013. Metabolismo dos lipídeos. Páginas 81-106 in Nutrição de
427 Monogástricos. 2nd ed. A. G. Bertechini, Lavras.
428
- 429 Butolo, J. E. 2010. Ingredientes de origem vegetal. Páginas 93-238 in Qualidade de
430 ingredientes na alimentação animal. Butolo, J. E., Campinas.
431
- 432 CBAA (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal). 2009. Cinzas ou matéria mineral.
433 Página 137. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, São Paulo.
434
- 435 CBAA (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal). 2013. Proteína Bruta – Método
436 Kjeldahl recebimento em ácido bórico. Páginas 193-201. Compêndio Brasileiro de
437 Alimentação Animal, São Paulo.
438
- 439 *Cobb500*. 2008. Manual de manejo de frangos de corte Cobb. Cobb-Vantress, Arkansas. 70p.
440
- 441 Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1000 de 11 maio 2012. Dispõe sobre
442 procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Diário Oficial
443 [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 maio 2012. Seção 1, n. 95, p.124-
444 125.
445
- 446 Cowieson, A. J., M. R. Bedford, P. H. Selle e V. Ravindran. 2009. Phytate and microbial
447 phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's*
448 *Poult. Sci. J.* 65: 401-418.
449
- 450 De Boever, J. L., W. Eeckhout, e Ch. V. Boucque. 1994. The possibilities of near infrared
451 spectroscopy to predict total-phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in
452 vegetable feedstuffs. *Neth. J. Agric. Sci.* 42: 357–369.
453
- 454 Ewing, W. N. e D. J. A. Cole. 1994. The gastro-intestinal tract. Páginas 9-28 in *The Living*
455 *Gut: An introduction to microorganisms in nutrition*. 1st ed. Ewing, W. N. e D. J. A. Cole,
456 Nottingham.
457
- 458 Gopinger, E., E. G. Xavier, M. C. Elias, A. A. S. Catalan, M. L. S. Castro, A. P. Nunes e V. F.
459 B. Roll. 2014. The effect of different dietary levels of canola meal on growth performance,
460 nutrient digestibility, and gut morphology of broiler chickens. *Poult. Sci.* 93:1130–1136.
461
- 462 Greiner, R. e U. Konietzny. 2011 Phytases: biochemistry, enzymology and characteristics
463 relevant to animal Feed Use. Pages 96-128 in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2nd ed.
464 Bedford, M. R. and Partridge, Marlborough.
465
- 466 Han, Z. 1997. Effect of enzyme supplementation of diets on the physiological function and
467 performance of poultry. Páginas 29-44 in *Enzymes in Poultry and Swine Nutrition*. 1st ed.
468 Marquardt, R. R. e Z. Han, Nanjing.
469
- 470 Instituto Adolfo Lutz. 2008. Página 98 in *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*.
471 4th ed. Zenebon, O., N. S. Pascuet e P. Tiglea, São Paulo.
472
- 473 International Organization for Standardization. 2008. ISO/DIS 30024: Animal feeding stuffs:
474 determination of phytase activity. Geneva. 16p.

- 475
476 Kleyn, R. 2013. Enzymes in poultry nutrition. Páginas 251-272 in Chicken Nutrition: a guide
477 for nutritionists and poultry professional. Kleyn, R., Leicestershire.
478
- 479 Kornegay, E. T. 1999. Effectiveness of Natuphos phytase in improving the bioavailabilities of
480 phosphorus and other nutrients for broilers and turkeys. Páginas 275-288 in Phytase in
481 animal nutrition and waste management: A BASF Reference Manual. 2nd ed. Coelho, M.
482 B. e E. T. Kornegay, New Jersey.
483
- 484 Leeson, S. e J. D. Summers. 2005. Ingredient evaluation and diet formulation: Description of
485 ingredients – wheat by-products. Páginas 25-27 in Commercial Poultry Nutrition. 3rd ed.
486 Leeson, S. e J. D. Summers, Guelph.
487
- 488 Liu, N., Y. J. Ru, F. D. Li e A. J. Cowieson. 2008. Effect of diet containing phytate and
489 phytase on the activity and messenger ribonucleic acid expression of carbohydrase and
490 transporter in chickens. J. Anim. Sci. 86:3432–3439.
491
- 492 Liu, S. Y., D. J. Cadogan, A. Péron, H. H. Truong e P. H. Selle. 2014. Effects of phytase
493 supplementation on growth performance, nutrient utilization and digestive dynamics of
494 starch and protein in broiler chickens offered maize-, sorghum- and wheat-based diets.
495 Anim. Feed Sci. Technol. 194: 164-175.
496
- 497 Mateos, G. G., E. Jiménez-Moreno, M. P. Serrano e R. P. Lázaro. 2012 . Poultry response to
498 high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. J.
499 appl. Poult. Res. 21 :156–174.
500
- 501 Matterson, L. D., L. M. Potter e M. W. Stutz. 1965. The metabolizable energy of feed
502 ingredients for chickens. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment
503 Station. 11p.
504
- 505 Mroz, Z., A. W. Jongbloed e P. A. Kemme. 1994. Apparent digestibility and retention of
506 nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding
507 regimen in pigs'. J. Anim. Sci. 72:126-132.
508
- 509 Mutucumarana, R. K., V. Ravindran, G. Ravindran e A. J. Cowieson. 2014. Measurement of
510 true ileal digestibility and total tract retention of phosphorus in corn and canola meal for
511 broiler chickens. Poult. Sci. 93:412–419.
512
- 513 Ravindran, V., P. C. H. Morel, G. G. Partridge, M. Hruby e J. S. Sands. 2006. Influence of an
514 *Escherichia coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets
515 containing varying concentrations of phytic acid. Poult. Sci. 85: 82–89.
516
- 517 Ravindran, V., A. J. Cowieson e P. H. Selle. 2008. Influence of dietary electrolyte balance
518 and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of
519 broiler chickens. Poult. Sci. 87:677–688.
520
- 521 Rodehutsord M., A. Dieckmann, M. Witzig e Y. Shastak. 2012. A note on sampling digesta
522 from the ileum of broilers in phosphorus digestibility studies. Poult. Sci. 91: 965-971.
523

- 524 Rodehutschord, M. 2013. Determination of phosphorus availability in poultry. *World's Poult.*
525 *Sci. J.* 69: 687-698.
526
- 527 Sakomura, N. K. e H. S. Rostagno. 2007. Métodos de Pesquisa em nutrição de monogástricos.
528 Jaboticabal. 283p.
529
- 530 SAS Institute. 2008. SAS User's Guide: Statistics. Version 9.2 ed. SAS Institute Inc., Cary,
531 NC.
532
- 533 Selle, P. H. e V. Ravindran. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci.*
534 *Technol.* 135: 1-41.
535
- 536 Selle, P. H., V. Ravindran e G. G. Partridge. 2009. Beneficial effects of xylanase and/or
537 phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention
538 and growth performance in wheat-based broiler diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153: 303-
539 313.
540
- 541 Shastak, Y. e M. Rodehutschord. 2013. Determination and estimation of phosphorus
542 availability in growing poultry and their historical development. *World's Poult. Sci. J.* 69:
543 569-586.
544
- 545 Shastak, Y., M. Witzig, K. Hartung, and M. Rodehutschord. 2012. Comparison of retention and
546 prececal digestibility measurements in evaluating mineral phosphorus sources in broilers.
547 *Poult. Sci.* 91:2201-2209.
548
- 549 Silva, J. H. V., R. B. Lima, P. B. Lacerda e A. C. Oliveira. 2014. Digestão e absorção de
550 lipídeos. Páginas 466-484 in *Nutrição de Não Ruminantes*. Jaboticabal.
551
- 552 Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.
553 2011. 3rd ed. Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira,
554 D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto e R. F. Euclides. Viçosa. 252p.
555
- 556 van der Klis, J. D. e H. A. J. Versteegh. 2001. Páginas 309-320 in *Recent Development in*
557 *Poultry Nutrition 2*. 2nd ed. Wiseman, J. e P. C. Garnsworthy, Nottingham.
558
- 559 Van Keulen, J. e B. A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in
560 ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.* 44: 282-287.
561
- 562 Wang, W., Z. Wang, H. Yang, Y. Cao, X. Zhu e Y. Zhao. 2013. Effects of phytase
563 supplementation on growth performance, slaughter performance, growth of internal organs
564 and small intestine, and serum biochemical parameters of broilers. *Open J. Anim. Sci.* 3:
565 236-241.
566
- 567 Warpechowski, M. B., A. M. Kessler, S. Pophal, A. Ebert e A. M. L. Ribeiro. 2006.
568 Digestibilidade ileal verdadeira da proteína em frangos de corte sob dietas com diferentes
569 níveis de proteína bruta. *Acta Sci. Anim. Sci.* 28: 281-287.
570
- 571 Wiseman, J., N. Nicol e G. Norton. 2001. Developments in the nutritional value of wheat for
572 non-ruminants. Páginas 149-164 in *Recent Development in Poultry Nutrition 2*. 2nd ed.
573 Wiseman, J. e P. C. Garnsworthy, Nottingham.

574
575 Wu, Y. B., V. Ravindran, D. G. Thomas, M. J. Birtles e W. H. Hendriks. 2004. Influence of
576 phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent
577 metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed
578 wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *Brit. Poult. Sci.* 45: 76-84.

579 **Tabela 1.** Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para frangos de corte

Ingredientes (kg)	1-10d		11-21d (Inicial)				22-32d (Crescimento)			
	Dieta Basal Pré-Inicial	Baixo Pfit* Sem fitase	Baixo Pfit Com fitase	Alto Pfit Sem fitase	Alto Pfit Com fitase	Baixo Pfit Sem fitase	Baixo Pfit Com fitase	Alto Pfit Sem fitase	Alto Pfit Com fitase	
Milho (7,5%)	50,69	63,92	63,92	48,69	48,69	72,42	72,42	52,91	52,91	
Farelo Soja (45%)	42,01	30,21	30,21	25,45	25,45	24,66	24,66	20,32	20,32	
Farelo Trigo (14%)	0,00	0,00	0,00	20,00	20,00	0,00	0,00	20,00	20,00	
Óleo de soja	3,14	0,00	0,00	2,90	2,90	0,00	0,00	4,41	4,41	
Caulin	0,00	2,83	2,83	0,06	0,06	0,58	0,58	0,00	0,00	
Fosfato bicálcico ¹	1,80	1,00	1,00	0,76	0,76	0,78	0,78	0,54	0,54	
Calcário ²	0,97	0,71	0,71	0,83	0,83	0,62	0,62	0,73	0,73	
Sal iodado	0,53	0,44	0,44	0,56	0,56	0,35	0,35	0,34	0,34	
DL-metionina	0,32	0,22	0,22	0,23	0,23	0,16	0,16	0,18	0,18	
L-lisina	0,24	0,32	0,32	0,38	0,38	0,22	0,22	0,28	0,28	
Premix vitamínico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	
Premix mineral ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	
L-treonina	0,11	0,13	0,13	0,17	0,17	0,05	0,05	0,09	0,09	
Fitase ⁵	0,00	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Composição nutricional										
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2950	2850	2850	2850	2850	3000	3000	3000	3000	
Proteína Bruta (%)	22,98	18,59	18,59	18,58	18,58	16,46	16,46	16,37	16,37	
Fibra Bruta (%)	-	2,70	2,70	4,09	4,09	2,55	2,55	3,89	3,89	
Extrato Etéreo (%)	-	2,84	2,84	5,78	5,78	3,06	3,06	7,34	7,34	
Cálcio (%)	0,920	0,601	0,601	0,600	0,600	0,500	0,500	0,500	0,500	
Sódio (%)	0,220	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	
Lisina dig.	-	1,100	1,100	1,100	1,100	0,890	0,890	0,900	0,900	
Metionina dig.	-	0,460	0,460	0,460	0,460	0,370	0,370	0,390	0,390	
Fósforo disponível (%)	0,470	0,300	0,300	0,300	0,300	0,249	0,249	0,250	0,250	
Fósforo total (%)	0,734	0,542	0,542	0,622	0,622	0,485	0,485	0,559	0,559	
Pfit calculado (%) ⁶	-	0,242	0,242	0,322	0,322	0,236	0,236	0,309	0,309	
Pfit analisado (%) ⁷	-	0,225	0,225	0,335	0,335	0,250	0,250	0,327	0,327	
Fitase adicionada	-	0	500	0	500	0	500	0	500	
Fitase determinada ^{8,9}	-	0	690	640	1315	135	725	330	1175	

580 ¹Pfit – fósforo fítico; ¹Cálcio: mínimo 210g/kg, máximo 250g/kg; Fósforo: 180g/kg; ²Cálcio: mínimo 33%; ³Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A: 9000000.000 UI, Vitamina D3: 2500000.00 UI, Vitamina
581 E: 20000.00 UI, Vitamina K3: 2500.00mg, Vitamina B1: 1500.00mg, Vitamina B2: 6000.00mg, Vitamina B6: 3000.00mg, Vitamina B12: 12000.00mcg, Ácido Pantotênico: 12g, Niacina: 25g, Ácido Fólico: 800.00mg,
582 Biotina: 60.00mg, Selênio: 250.00mg. ⁴Níveis de garantia por kg do produto: Cobre: 20g, Ferro: 100g, Manganês: 160g, Cobalto: 2000.00mg, Iodo: 2000.00mg, Zinco: 100g. ⁵Natuphos®, 10000 FTU/g; ⁶Fósforo Fítico
583 calculado = fósforo total – fósforo disponível; ⁷Níveis obtidos conforme relatório de *Enzyme Services and Consultancy* – AB Vista; ⁸Nível de fitase (FTU/kg de alimento) conforme certificado de Ensaio CBO – Análises
584 laboratoriais; ⁹ Os níveis esperados normalmente não coincidem com os níveis suplementados em função da fitase natural presente na matéria prima, porém assume-se que esta não tem atuação a nível de trato
585 gastrointestinal.

586 **Tabela 2.** Peso relativo (%) da moela, coração, fígado, ceco e Bolsa cloacal, aos 22 e 32 dias de idade para frangos de corte, machos, Cobb 500,
 587 alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (Pfit) com e sem fitase (média±erro padrão).

Período	Variáveis ¹	Dieta Pfit	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação		
			0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
22 dias de idade	Moela	Alto	2,31± 0,07	2,19± 0,09	0,3254	0,2901	0,7110
		Baixo	2,20± 0,09	2,15± 0,05			
	Coração	Alto	0,473±0,02	0,481±0,01	0,8510	0,9436	0,6248
		Baixo	0,477±0,01	0,472±0,01			
	Fígado	Alto	2,40± 0,08	2,51± 0,10	0,3299	0,2513	0,7058
		Baixo	2,50± 0,08	2,55± 0,09			
	Ceco	Alto	0,81±0,04	0,84±0,04	0,0534	0,5926	0,8347
		Baixo	0,73±0,06	0,74±0,05			
	Bolsa cloacal	Alto	0,21±0,02	0,20±0,01	0,9389	0,8632	0,8858
		Baixo	0,20±0,01	0,20±0,02			
32 dias de idade	Moela	Alto	1,58± 0,05 ^A	1,60± 0,06 ^A	0,0109	0,1833	0,2903
		Baixo	1,39± 0,06 ^B	1,51± 0,06 ^B			
	Coração	Alto	0,38±0,02 ^b	0,42±0,01 ^a	0,0540	0,0398	0,4738
		Baixo	0,42±0,01 ^a	0,43±0,01 ^a			
	Fígado	Alto	2,02± 0,09 ^A	1,96± 0,06 ^B	0,0010	0,8581	0,3811
		Baixo	2,25± 0,05 ^A	2,33± 0,10 ^A			
	Ceco	Alto	0,70±0,04 ^a	0,54±0,05 ^b	0,2109	0,0346	0,1694
		Baixo	0,70±0,04 ^a	0,66±0,04 ^a			
	Bolsa cloacal	Alto	0,21±0,01	0,22±0,02	0,5198	0,4845	0,6118
		Baixo	0,22±0,02	0,22±0,02			

588 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

589 ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha diferem pelo teste F (p<0,05).

590 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

591 **Tabela 3.** Energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) base matéria seca,
 592 coeficiente de metabolizabilidade aparente total da energia bruta (CMATEB), coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da proteína
 593 bruta (PB) e extrato etéreo (EE) para frangos de corte, machos, *Cobb 500* de 28 aos 31 dias de idade alimentados com dietas baixo e alto teor de
 594 fósforo fítico (Pfit) com e sem fitase (média±erro padrão)

Período	Variáveis	Dieta Pfit	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação		
			0	500	Efeito Principal		
					Dieta	Fitase	Interação
28 a 31 dias de idade ¹	EMA (kcal/kg)	Alto	3127,33± 28,92 ^B	3090,41± 24,07 ^B	<0,0001	0,6389	0,0674
		Baixo	3233,50± 21,90 ^A	3294,61± 26,25 ^A			
	EMAn (kcal/kg)	Alto	2998,54± 26,95 ^B	2960,73± 22,57 ^B	<0,0001	0,6070	0,0461
		Baixo	3087,76± 20,36 ^A	3150,30± 24,32 ^A			
	CMATEB (%)	Alto	66,04± 0,61 ^B	65,16± 0,51 ^B	<0,0001	0,8336	0,0872
		Baixo	72,72± 0,49 ^A	73,82± 0,59 ^A			
	CDATPB (%)	Alto	52,26± 0,84 ^B	52,03± 0,72 ^B	<0,0001	0,8723	0,6548
		Baixo	57,96± 0,67 ^A	58,43± 0,83 ^A			
	CDATEE (%)	Alto	82,10± 0,62 ^A	81,01± 0,25 ^A	<0,0001	0,5836	0,2521
		Baixo	71,46± 0,91 ^B	71,85± 0,56 ^B			

595 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com 10 aves por unidade experimental

596 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

597 **Tabela 4.** Coeficiente de digestibilidade aparente total e ileal da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P) e sódio (Na)
 598 para frangos de corte, machos *Cobb 500* alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (Pfit) com e sem fitase (média±erro
 599 padrão)

Variáveis	Dieta	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação			
		Pfit	0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
Coeficiente de digestibilidade aparente total de 28 a 31 dias de idade ¹	MS (%)	Alto	61,76± 0,63 ^B	61,19± 0,53 ^B	<0,0001	0,7894	0,2334
		Baixo	69,59± 0,58 ^A	70,48± 0,64 ^A			
	MM (%)	Alto	10,35± 1,68 ^A	10,30± 1,41 ^B	0,0135	0,3017	0,2865
		Baixo	12,86± 1,38 ^A	16,22± 1,75 ^A			
	Ca (%)	Alto	39,82± 1,71 ^{Bb}	40,67± 1,23 ^{Bb}	<0,0001	0,0105	0,0405
		Baixo	45,95± 1,02 ^{Ab}	52,73± 1,39 ^{Aa}			
	P (%)	Alto	32,53± 1,20 ^{Bb}	29,46± 1,38 ^{Bb}	<0,0001	0,4934	0,0054
		Baixo	40,77± 1,39 ^{Ab}	45,61± 1,10 ^{Aa}			
	Na (%)	Alto	29,54± 1,99 ^{Aa}	16,94± 2,78 ^{Ab}	0,7480	0,0143	0,0160
		Baixo	22,52± 2,70 ^{Ba}	22,41± 1,98 ^{Aa}			
Coeficiente de digestibilidade aparente ileal aos 32 dias de idade ²	MS (%)	Alto	67,79± 1,58 ^B	69,85± 0,89 ^B	<0,0001	0,5731	0,2599
		Baixo	75,96± 1,25 ^A	75,27± 0,90 ^A			
	MM (%)	Alto	35,01± 1,91 ^{Bb}	39,38± 1,48 ^{Aa}	0,0291	0,0344	0,5453
		Baixo	39,51± 1,54 ^{Aa}	42,01± 1,03 ^{Aa}			
	Ca (%)	Alto	44,25± 3,39 ^B	39,88± 3,59 ^B	<0,0001	0,4531	0,4539
		Baixo	55,81± 2,26 ^A	55,81± 2,23 ^A			
	P (%)	Alto	40,61± 2,56 ^{Bb}	47,74± 4,62 ^{Ba}	0,0007	0,0011	0,2145
		Baixo	48,29± 2,36 ^{Ab}	62,69± 1,99 ^{Aa}			
	Na (%)	Alto	6,58± 6,96 ^B	21,14± 4,74 ^B	<0,0001	0,1545	0,1320
		Baixo	40,07± 3,96 ^A	39,64± 2,22 ^A			

600 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com 10 aves por unidade experimental

601 ²Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

602 ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha diferem pelo teste F (p<0,05).

603 ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem pelo teste F (p<0,05).

604 **Tabela 5.** Coeficientes de correlação para a digestibilidade aparente total e ileal de nutrientes
 605 da dieta de frangos de corte, machos, *Cobb 500* alimentados com dietas com baixo e alto teor
 606 de fósforo fítico (Pfit) com e sem fitase (média±erro padrão)

Variável	Pfit	Fitase (FTU/kg)	Coeficiente de Digestibilidade Aparente (%)		P-value	Correlação
			Total	Ileal		
Matéria seca	Alto	0	61,76±1,79	67,78±4,46	0,9260	0,03949
		500	61,19±1,48	69,84±2,51	0,3754	0,36398
	Baixo	0	69,58±1,63	75,96±3,56	0,8010	0,10695
		500	70,47±1,80	75,26±2,54	0,8880	-0,05989
Matéria mineral	Alto	0	10,35±4,74	35,00±5,41	0,0234	0,77651
		500	10,29±3,99	39,38±4,19	0,9196	0,04292
	Baixo	0	12,85±3,89	39,50±4,34	0,1001	0,62134
		500	16,21±4,93	42,01±2,92	0,7184	0,15253
Cálcio	Alto	0	39,82±4,82	44,24±9,57	0,0280	0,76207
		500	40,66±3,48	39,88±10,15	0,9974	0,00141
	Baixo	0	45,94±2,88	55,81±6,39	0,0484	0,71020
		500	52,73±3,92	55,80±6,31	0,3497	0,38250
Fósforo	Alto	0	32,52±3,39	40,61±7,25	0,9915	0,00455
		500	29,46±3,89	47,74±13,07	0,8478	-0,08154
	Baixo	0	40,77±3,92	48,29±6,67	0,7863	0,11496
		500	45,60±3,12	62,69±5,64	0,2406	-0,46938
Sódio	Alto	0	29,54±5,63	6,58±19,67	0,3483	0,38351
		500	16,93±7,85	21,14±13,42	0,6516	0,19036
	Baixo	0	22,52±7,63	40,07±11,20	0,3906	0,35331
		500	22,40±5,58	39,64±6,26	0,5314	-0,26161

607 P-value: Níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de variância a 5%.

608 **Tabela 6.** Altura das vilosidades (μm), profundidade de cripta (μm) e relação vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte, machos
 609 *Cobb 500*, aos 32 dias de idade, alimentados com dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico (P_{fít}) com e sem fitase (média±erro padrão)

Variáveis ¹	Dieta	Fitase (FTU/kg)		<i>P-value</i> para o efeito principal e interação			
		P _{fít}	0	500	Efeito Principal		Interação
					Dieta	Fitase	
Altura das vilosidades (μm)	Duodeno	Alto	1431,03± 43,86	1359,28± 68,38	0,5090	0,8823	0,1978
		Baixo	1336,87± 48,54	1391,21± 41,05			
	Jejuno	Alto	1019,16± 50,99	1096,04± 99,80	0,1994	0,6760	0,5403
		Baixo	966,02±64,75	947,86±71,99			
	Íleo	Alto	745,59±54,76	749,14±50,83	0,0670	0,3848	0,4283
		Baixo	623,65±34,18	699,12±41,82			
Profundidade de cripta(μm)	Duodeno	Alto	113,63± 6,49	99,86± 3,60	0,3588	0,1805	0,1709
		Baixo	113,14± 7,80	113,57± 8,26			
	Jejuno	Alto	133,61± 3,81	132,65± 8,42	0,5660	0,7110	0,6055
		Baixo	126,34± 8,29	131,44± 5,05			
	Íleo	Alto	114,78± 4,99	122,91± 6,08	0,2990	0,1980	0,8505
		Baixo	110,10± 5,20	116,19± 6,79			
Relação vilo:cripta	Duodeno	Alto	13,26± 1,15	14,88± 0,80	0,3467	0,0671	0,8726
		Baixo	12,73± 0,77	14,01± 1,21			
	Jejuno	Alto	8,21±0,48	8,93±0,92	0,4516	0,9318	0,2914
		Baixo	8,44±0,71	7,60±0,65			
	Íleo	Alto	6,83±0,49	6,48±0,30	0,3448	0,8875	0,3350
		Baixo	6,01±0,29	6,49±0,53			

610 ¹Médias obtidas a partir de oito repetições com duas aves por unidade experimental

611 *P-value*: Níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de variância a 5%.

6 Considerações finais

A inclusão de fitase em dietas com baixo e alto teor de fósforo fítico aumentou a rigidez óssea aos 22 dias de idade, e proporcionou maior teor de cálcio sérico em aves alimentadas com a dieta contendo baixo teor de fósforo fítico aos 32 dias de idade sem afetar o desempenho, a resistência e flexibilidade óssea, a deposição mineral na tíbia e no músculo peitoral. Por outro lado, a inclusão de fitase proporcionou maior EMAn e melhor CDAT do cálcio e do fósforo com a dieta baixo teor de fósforo fítico sem alterar o peso relativo dos órgãos, a morfometria intestinal e o CDAI.

Neste trabalho além de verificar os efeitos da fitase também buscou-se comparar diferentes metodologias para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes. Contudo, os resultados não apresentaram correlação linear, indicando que trabalhos de pesquisa que usam diferentes metodologias na determinação dos coeficientes de digestibilidade não deveriam ser diretamente comparados entre si.

O presente estudo demonstrou que o método de digestibilidade ileal é válido, tendo em vista que seus resultados não são influenciados por fatores como fermentação microbiana no ceco, absorção e secreção de minerais na porção posterior do íleo, entre outros. Entretanto, alguns pontos devem ser levados em consideração, principalmente no que se refere ao número de animais necessários para uma correta amostragem do conteúdo ileal.

Apesar da aceitação do conceito de que a ação da fitase é substrato dependente, neste projeto os resultados não evidenciaram tal fato, indicando que não somente os aspectos quantitativos de substrato são importantes, mas também os aspectos qualitativos são determinantes.

Portanto, recomenda-se para futuras pesquisas nesta área, considerar a adequação metodológica na determinação dos coeficientes de digestibilidade, além de utilização de alimentos processados adequadamente e com substratos disponíveis para a atuação das enzimas.

Referências

ADAMS, C. A. **Total Nutrition: Feeding animals for health and growth.** Nottingham: Nottingham University Press, 2001. 244p.

AFSHARMANESH, M.; POURREZA, J. Effects of calcium, citric acid, ascorbic acid, vitamin D₃ on the efficacy of microbial phytase in broiler starters fed wheat-based diets I. performance, bone mineralization and ileal digestibility. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 6, p. 418-424, 2005.

ALI, M. N., M. S. ABOU SEKKEN; K. EL-KLOUB M. EL. MOSTAFA. Incorporation of wheat bran in broilers diets. **International Journal of Poultry Science**, v.7, p.6-13, 2008.

AMERAH, A. M.; PLUMSTEAD, P. W.; BARNARD, L. P.; KUMAR, A. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. **Poultry Science**, v. 93, p. 906–915, 2014.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY - AOCS. **Official Method Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction.** Urbana: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis.** 16.ed. Washington, D.C.: 1995. 1094p.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition.** Marlborough: CABI, 2011. 313p.

BERTECHINI, A. G. Metabolismo dos lipídeos. **In:** Nutrição de monogástricos. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 81-106.

BERTECHINI, A. G. Aditivos não nutrientes. **In:** Nutrição de monogástricos. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 257-274.

BOUGOUIN, A.; APPUHAMY, J. A. D. R. N.; KEBREAB, E.; DIJKSTRA, J.; KWAKKEL, R. P.; FRANCE, J. Effects of phytase supplementation on phosphorus retention in broilers and layers: A meta-analysis. **Poultry Science**, v. 93, p. 1–12, 2014.

BRUM JR, B.S. **Quirera de arroz na dieta de frangos de corte e coelhos em crescimento.** 46 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

BUTOLO, J. E. Ingredientes de origem vegetal. **In:** Qualidade de ingredientes na alimentação animal. Butolo, J. E., Campinas. 2010, p.93-238.

CATALÁ-GREGORI, P.; GARCÍA, V.; HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; CERÓN, J. J. Response of broilers to feeding low-calcium and phosphorus diets plus phytase under different environmental conditions: body weight and tibiotarsus mineralization. **Poultry Science**, v. 85, p. 1923–1931, 2006.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL – CBAA. **Proteína Bruta – Método Kjeldahl recebimento em ácido bórico**. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, São Paulo. 2013, p.193-201.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL – CBAA. **Cinzas ou matéria mineral**. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, São Paulo. 2009, p.137.

CLASSEN, H. L. ; M. R. BEDFORD. The use of enzymes to improve the nutritive value of poultry feeds. **In: Recent Developments in Poultry Nutrition**. 2nd ed. Wiseman, J. and P. C. Garnsworthy, Nottingham, 2001. p. 285-308.

CLASSEN, H. L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technology**. v.62, p.21-27, 1996.

COBB500. 2008. **Manual de manejo de frangos de corte Cobb**. Cobb-Vantress, Arkansas. 70p.

COELHO, M. B.; E. T. KORNEGAY. **Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF Reference Manual**. New Jersey: BASF, 1999. 800p.

Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1000 de 11 maio 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 maio 2012. Seção 1, n. 95, p.124-125.

CONTE, A.J. **Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte, suplementadas com fitase e xilanase**. Lavras: Universidade Feral de Lavras, 2000. 164p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2000.

COWIESON , A. J.; PTAK, A.; MAĆKOWIAK, P.; SASSEK, M.; PRUSZYŃSKA-OSZMAŁEK, E.; ŻYŁA, K.; ŚWIĄTKIEWICZ, S.; KACZMAREK, S.; JOZEFIAK, D. 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, p. 2124–2134, 2013.

COWIESON, A. J., M. R. BEDFORD, P. H. SELLE; V. RAVINDRAN. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, p.401-418, 2009.

CROMWELL, G. L. Metabolism and role of phosphorus, calcium and vitamin D3 in swine nutrition. **In: Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF**

Reference Manual. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey, 1999. p.101-110.

CURREY, J. D. The many adaptation of bone. **Journal of Biomechanics**. v. 36, p. 1487–1495, 2003.

DE BOEVER, J. L., W. EECKHOUT, Ch. V. BOUCQUE. The possibilities of near infrared spectroscopy to predict total-phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in vegetable feedstuffs. **Netherlands Journal of Agriculture Science**, v. 42, p. 357–369, 1994.

DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K. Enzimas na Nutrição de Monogástricos. **In: Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2014. p. 466-484.

EMAMI, N. K.; NAEINI, S. Z.; RUIZ-FERIA, C. A. Growth performance, digestibility, immune response and intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. **Livestock Science**, v. 157, p. 506–513, 2013.

ENGELEN, A. J.; VAN DER HEEFT, F.C.; RANDSDORP, P.H.G.; SMIT, ELC. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**., v.77, p.760-764, 1994.

EWING, W. N.; D. J. A. COLE. The gastro-intestinal tract. **In: The Living Gut: An introduction to microorganisms in nutrition**. 1st ed. Ewing, W. N. and D. J. A. Cole, Nottingham. 1994, p. 9-28.

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

GARNSWORTHY, P. C.; WISEMAN, J. **Recent development in poultry nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. 342p.

GHASEMI, H. A.; TAHMASBI, A. M.; MOGHADDAM, GH.; MEHRI, M.; ALIJANI, S.; KASHEFI, E.; FASIHI, A. The Effect of phytase and *Saccharomyces cerevisiae* (Sc47) supplementation on performance, serum parameters, phosphorous and calcium retention of broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 162-168, 2006.

GOPINGER, E., E. G. XAVIER, M. C. ELIAS, A. A. S. CATALAN, M. L. S. CASTRO, A. P. NUNES; V. F. B. ROLL. The effect of different dietary levels of canola meal on growth performance, nutrient digestibility, and gut morphology of broiler chickens. **Poultry Science**, v.93, p.1130–1136, 2014.

GREINER, R; KONIETZNY, U. Phytases: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. **In: Enzymes in Farm Animal Nutrition**. Marlborough: CABI, 2011. p. 96-128.

GUENTER, W. Phytases in cereals and hemicelluloses in canola (rapeseed) meal and lupins. **In:** Enzymes in Poultry and Swine Nutrition. Ottawa: IDRC, 1997. p. 99-114.

HAN, Z. Effect of enzyme supplementation of diets on the physiological function and performance of poultry. **In:** Enzymes in Poultry and Swine Nutrition. 1st ed. Marquardt, R. R. and Z. Han, Nanjing. 1997, p.29-44.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4th ed. Zenebon, O., N. S. Pascuet and P. Tiglea, São Paulo. 2008, p. 98.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/DIS 30024:** Animal feeding stuffs: determination of phytase activity. Geneva. 2008, 16 p.

JIANG, X. R.; LUO, F. H.; QU, M. R.; BONTEMPO, V.; WU, S. G.; ZHANG, H. J.; YUE, H. Y.; QI, G. H. Effects of nonphytate phosphorus levels and phytase sources on growth performance, serum biochemical and tibia parameters of broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 3, 2013.

KERR, B. J., T. E. WEBER, P. S. MILLER ; L. L. SOUTHERN. Effect of phytase on apparent total tract digestibility of phosphorus in corn-soybean meal diets fed to finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.238-247, 2010.

KHALID, M.F.; HUSSAIN, M.; REHMAN, A.U.; SHAHZAD, M.A.; SHARIF, M.; RAHMAN, Z.U. Broiler performance in response to phytate and supplemented phytase. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2013.

KLEYN, R. **Chicken Nutrition:** a guide for nutritionists and poultry professional. Leicestershire: Context, 2013. 347p.

KORNEGAY, E. T. Effectiveness of Natuphos phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients for broilers and turkeys. **In:** Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF Reference Manual. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey, 1999, p. 275-288.

KORNEGAY, E. T., H. QIAN ; D. M. DENDOW. Influence of dietary calcium levels or calcium:phosphorus ratios on effectiveness of Natuphos[®] phytase for broilers and turkeys. **In:** Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF Reference Manual. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey. 1999, p.411-420.

LECZNIESKI, J. L. Considerações práticas do uso de enzimas. V Seminário Internacional de Aves e Suínos – AVESUI 2006. **Anais...** p.34-46. 2006.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Ingredient evaluation and diet formulation: Feed additives – Enzymes. **In:** Commercial Poultry Nutrition. Guelph: University Books, 2005. p. 92-95.

LELIS, G. R.; ALBINO, L. F. T.; SILVA, C. R. ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; BORSATTO, C. G. 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., Y. J. RU, F. D. LI; A. J. COWIESON. Effect of diet containing phytate and phytase on the activity and messenger ribonucleic acid expression of carbohydrase and transporter in chickens. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 3432–3439, 2008.

LIU, S. Y.; CADOGAN, D. J.; PÉRON, A.; TRUONG, H. H.; SELLE, P. H. Effects of phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization and digestive dynamics of starch and protein in broiler chickens offered maize-, sorghum- and wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 194, p. 164-175, 2014.

MARQUARDT, R. R.; HAN, Z. **Enzymes in poultry and swine nutrition**. Nanjing: IDRC, 1997. 143p.

MATEOS, G. G., E. JIMÉNEZ-MORENO, M. P. SERRANO; R. P. LÁZARO. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. **Journal Applied Poultry Research**, v. 21, p. 156–174, 2012.

MATTERSON, L. D., L. M. POTTER; M. W. STUTZ. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station., 1965, 11p.

MAZZUCO, H.; LORINI, I.; BRUM, P.A.R. et al. Composição química e energética do milho com diversos níveis de unidade na colheita e diferentes temperaturas de secagem para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2216-2220, 2002.

MROZ, Z., A. W. JONGBLOED; P. A. KEMME. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs'. *Journal of Animal Science*, v.72, p.126-132, 1994.

MUTUCUMARANA, R. K., V. RAVINDRAN, G. RAVINDRAN; A. J. COWIESON. Measurement of true ileal digestibility and total tract retention of phosphorus in corn and canola meal for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 93, p. 412–419, 2014.

NAVES, L. P.; RODRIGUES, P. B.; TEIXEIRA, L. V.; BERTECHINI, A. G.; ALVARENGA, R. R.; BERNARDINO, V. M. P.; SANTOS, L. M.; NATIVIDADE, Y. P. E. Increasing levels of phytase in diets formulated with reduced available phosphorus content supplied to male and female broilers. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1479-1485, 2014.

OLIVEIRA, M. C.; GRAVENA, R. A.; MARQUES, R. H.; GUANDOLINI, G. C.; MORAES, V. M. B. Utilização de nutrientes em frangos alimentados com dietas suplementadas com fitase e níveis reduzidos de fósforo não-fítico **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 436-441, 2008.

OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. H.; GRAVENA, R. A.; GIUSTI BRUNO, L. D.; RODRIGUES, E. A.; MORAES, V. M. B. Qualidade óssea de frangos alimentados

com dietas com fitase e níveis reduzidos de fósforo disponível. **Acta Scientiarum Animal Science**. Maringá, v. 30, n. 3, p. 263-268, 2008.

OLUKOSI, O. A.; FRU-NJI, F. The interplay of dietary nutrient specification and varying calcium to total phosphorus ratio on efficacy of a bacterial phytase: 1. Growth performance and tibia mineralization. **Poultry Science**, v. 93, p. 3037–3043, 2014.

PEREIRA, R.; MENTEN, J. F. M.; ROMANO, G. G.; SILVA, C. L. S.; ZAVARIZE, K. C.; BARBOSA, N. A. A. 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.

PINTAR, J.; HOMEN, B.; GAZIĆ, K.; JANJEČIĆ, Z.; SIKIRIĆ, M.; ČERNY, T. Effects of supplemental phytase on nutrient excretion and retention in broilers fed different cereal based diets. *Czech Journal of Animal Science*, v. 50, n. 1, p. 40–46, 2005.

POURREZA, J. ; H. L. CLASSEN. Effects of supplemental phytase and xylanase on phytate phosphorus degradation, ileal protein and energy digestibility of a corn-soybean-wheat bran diets in broiler chicks. **Journal of Agriculture and Science Technology**, v.3, p.19-25, 2001.

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

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

RAVINDRAN, V. Occurrence of phytic acid in plant feed ingredients. In: *Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF Reference Manual*. 2nd ed. Coelho, M. B. and E. T. Kornegay, New Jersey, 1999. p.85-92.

RAVINDRAN, V., A. J. COWIESON; P. H. SELLE. Influence of Dietary Electrolyte Balance and Microbial Phytase on Growth Performance, Nutrient Utilization, and Excreta Quality of Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 87, p.677–688, 2008.

RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; SELLE, P. H.; BRYDEN, W. L. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v. 41, p. 193–200, 2000.

RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; PARTRIDGE, G. G.; HRUBY, M.; SANDS, J. S. 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, p. 82–89, 2006.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, G.; MOREL, P.C.H.; KIES, A.K.; BRYDEN, W.L. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable

energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, p. 338–344, 2001.

REGINA, R. **Nutrição animal, principais ingredientes e manejo de aves e suínos**. São Paulo: Fundação Cargill, 2010. 413p.

RODEHUTSCORD M., A. DIECKMANN, M. WITZIG; Y. SHASTAK. A note on sampling digesta from the ileum of broilers in phosphorus digestibility studies. **Poultry Science**, v. 91, p. 965-971, 2012.

RODEHUTSCORD, M. Determination of phosphorus availability in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, p. 687-698, 2013.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal:Funep, 2007. 283p.

SAS Institute. 2008. **SAS User's Guide: Statistics**. Version 9.2 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SCHOULTEN, N.A.; TEIXEIRA, A.S.; RILKE, T.F.F.; BERTECHINI, A.G.; CONTE, A.J.; SILVA, H.O. Níveis de cálcio em rações de frangos de corte na fase inicial suplementadas com fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1190-1197, 2003.

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

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

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL R. A.; BRYDEN W. L. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, p. 255-278, 2000.

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

SHASTAK, Y., M. WITZIG, K. HARTUNG; M. RODEHUTSCORD.. Comparison of retention and prececal digestibility measurements in evaluating mineral phosphorus sources in broilers. **Poultry Science**, v.91, p.2201–2209, 2012.

SHASTAK, Y.; RODEHUTSCORD, M. Determination and estimation of phosphorus availability in growing poultry and their historical development. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, p. 569-586, 2013.

SILVA, J. H. V., L. A. F. PASCOAL. Função e disponibilidade dos minerais. **In: Nutrição de Não Ruminantes**. Sakomura, N. K., J. H. V. Silva, F. G. P. Costa, J. B. K. Fernandes and L. Hauschild, Jaboticabal. 2014, p.127-142.

SILVA, J. H. V., R. B. LIMA, P. B. LACERDA ; A. C. OLIVEIRA. Digestão e absorção de lipídeos. **In: Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal, 2014, p.466-484.

SINGH, P. K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, 2008.

Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2011. 3rd ed. Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto ; R. F. Euclides. Viçosa. 252p.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; LIMA, C. A. R.; VIEITES, F. M. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 809-816, 2001b.

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

UBA – União Brasileira de Avicultura. Boas **Práticas de Produção de Frangos**, 2008b. Disponível em: <http://www.abef.com.br/uba/corte.php> Acesso em: 20/03/2012.

UBA – União Brasileira de Avicultura. **Norma Técnica de Produção Integrada de Frango**, 2009. Disponível em: http://www.abef.com.br/uba/releases/norma_tecnica_de_producao_integrada_de_frangos.pdf. Acesso em: 21/03/2012.

UBA – União Brasileira de Avicultura. **Protocolo de Bem-Estar para Frangos e Perus**, 2008a. Disponível em: <http://www.abef.com.br/uba/corte.php> Acesso em: 20/03/2012.

VAN DER KLIS, J. D.; H. A. J. VERSTEEGH. Recent Development in Poultry Nutrition 2. 2nd ed. Wiseman, J. and P. C. Garnsworthy, Nottingham, 2001, p.309-320.

VAN KEULEN, J.; B. A. YOUNG.. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v. 44, p. 282-287, 1977.

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, p. 1172–1183, 2002.

VOHRA, A.; SATYANARAYANA, T. Phytases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews Biotechnology**, v.23, n.1, p. 29-60, 2003.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; MCELROY, A. P. Influence of diet, phytase, and incubation time on calcium and phosphorus solubility in the gastric and small intestinal phase of an in vitro digestion assay. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3120-3125, 2012.

WANG, W.; WANG, Z.; YANG, H.; CAO, Y.; ZHU, X.; ZHAO, Y. Effects of phytase supplementation on growth performance, slaughter performance, growth of internal organs and small intestine, and serum biochemical parameters of broilers. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 3, p. 236-241, 2013.

WARPECHOWSKI, M. B., A. M. KESSLER, S. POPHAL, A. EBERT AND A. M. L. RIBEIRO.. Digestibilidade ileal verdadeira da proteína em frangos de corte sob dietas com diferentes níveis de proteína bruta. **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 28, p.281-287, 2006.

WISEMAN, J., N. NICOL ; G. NORTON. Developments in the nutritional value of wheat for non-ruminants. **In: Recent Development in Poultry Nutrition 2.** 2nd ed. Wiseman, J. and P. C. Garnsworthy, Nottingham. 2001, p.149-164.

WU, Y. B.; RAVINDRAN, V.; THOMAS, D. G.; BIRTLES, M. J.; HENDRIKS, W. H. Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 76–84, 2004.