

Universidade Federal de Minas Gerais

FITASE NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Mariana Maseo Saldanha

Belo Horizonte

2015

Mariana Masseo Saldanha

Fitase na alimentação de frangos de corte

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

Área de concentração: Nutrição de não-ruminantes

Prof. Orientador: Dr. Leonardo José Camargos Lara

Belo Horizonte

2015

Dedicatória aos meus pais, Sueli e Sálvio, por todo o esforço despendido pela minha educação e formação.

Agradecimentos

À Deus que me permitiu a vida.

Aos meus pais Sueli e Sálvio, pelo grande incentivo e amor.

Ao Leo pelo amor, paciência, carinho e amizade, estando sempre ao meu lado e me apoiando.

Às minhas irmãs Ana Luiza e Ana Flávia, pelo carinho e incentivo.

Ao meu Orientador, Professor Leonardo Lara, pelos grandes ensinamentos, disponibilidade e orientação.

Ao Professor Baião por todos os ensinamentos e por estar sempre disponível a nos ajudar.

Ao Professor Louzada e a aluna Bruna da UNESP Araçatuba, pela disponibilidade e grande ajuda nas análises ósseas.

À Professora Roselene e seus alunos Rodrigo e Juliana, pela grande atenção e ajuda nas análises de histopatologia.

A todos meus amigos da avicultura, que tive o grande prazer de conhecer e que tornaram a realização desse trabalho possível.

A todos os professores da pós-graduação, com os quais convive e que com certeza me ensinaram muito.

A meu grande amigo Luiz que me ajudou em toda a execução do experimento.

A todos meus colegas de mestrado, com os quais fiz grandes amizades.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Hélio Barbosa.

À Escola de Veterinária da UFMG, pela estrutura e apoio.

A todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO NA NUTRIÇÃO DAS AVES	11
2.2 ÁCIDO FÍTICO	133
2.3 UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL	15
2.4 FITASE.....	15
2.4.1 MECANISMO DE HIDROLISE DA FITASE	16
2.4.2 CLASSIFICAÇÃO DA FITASE	16
2.4.3 EFEITO DA ADIÇÃO DE FITASE NO DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE	188
2.4.4 EFEITO DA ADIÇÃO DE FITASE NA QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 EXPERIMENTO I.....	23
3.1.1 Condições Experimentais.....	23
3.1.2 Local e Período	23
3.1.3 Aves	244
3.1.4 Tratamentos.....	244
3.1.5 Rações.....	24
3.2 EXPERIMENTO II.....	277
3.2.1 Condições Experimentais.....	277
3.2.2 Local e Período	277
3.2.3 Aves	27

3.2.4 Tratamentos.....	27
3.2.5 Rações.....	28
3.3 VARIÁVEIS ANALISADAS NOS DOIS EXPERIMENTOS.....	30
3.3.1 MEDIDAS DE DESEMPENHO	30
3.3.1.1 Peso corporal/ Ganho de peso.....	30
3.3.1.2 Consumo de Ração	30
3.3.1.3 Conversão Alimentar	311
3.3.1.4 Taxa de Viabilidade	311
3.3.2 MEDIDAS ÓSSEAS	31
3.3.2.1 Conteúdo de cinzas e fósforo dos ossos.....	31
3.3.2.2 Histopatologia.....	31
3.3.2.3 Índice de Seedor.....	322
3.3.2.4 Densitometria óssea	32
3.3.2.5 Parâmetros biomecânicos.....	33
3.3.2.5.1 Força máxima (N).....	34
3.3.2.5.2 Resiliência (mJ)	34
3.3.2.5.3 Rigidez (Mpa)	355
3.4 Delineamento experimental	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 EXPERIMENTO I.....	36
4.1.1 Desempenho.....	36
4.1.2 Qualidade óssea.....	40
4.2 EXPERIMENTO II.....	43
4.2.1 Desempenho.....	43
4.2.2 Qualidade óssea	48
5 CONCLUSÕES.....	52
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Conteúdo de fósforo em alguns ingredientes de origem vegetal.....	12
Tabela 2: Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas.....	24
Tabela 3: Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas.....	25
Tabela 4: Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas.....	28
Tabela 5: Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas.....	29
Tabela 6: Desempenho das aves de um a sete dias de acordo com os tratamentos.....	36
Tabela 7: Desempenho das aves de um a 21 dias de acordo com os tratamentos.....	37
Tabela 8: Desempenho das aves de um a 35 dias de acordo com os tratamentos.....	38
Tabela 9: Análises ósseas aos 21 dias de vida das aves.	40
Tabela 10: Análises ósseas aos 35 dias de vida das aves.	42
Tabela 11: Desempenho das aves de um a sete dias de acordo com os tratamentos.....	43
Tabela 12: Desempenho das aves de um a 21 dias de acordo com os tratamentos.....	45
Tabela 13: Desempenho das aves de um a 35 dias de acordo com os tratamentos.....	46
Tabela 14: Análises ósseas aos 21 dias de vida das aves.	48
Tabela 15: Análises ósseas aos 35 dias de vida das aves.	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Molécula de ácido fítico (De Carliet al., 2006)	13
Figura 2: pH do alimento nos diferentes segmentos do trato de digestório de frangos de corte (Gauthier, 2002).....	17
Figura 3: Densitômetro modelo DPX-ALPHA.....	33
Figura 4: Software especial para pequenos animais, pertencente ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – FMVA/UNESP	33
Figura 5: Máquina universal de ensaio EMIC®, modelo DL 3000, em ensaio mecânico de flexão de três pontos da tíbia esquerda.....	344
Figura 6: Gráfico Carga x Deformação utilizado para determinação das propriedades biomecânicas. C ₁ : Carga no limite elástico; D ₁ : Deformação no limite elástico; C ₂ : Carga máxima; O/C ₁ /D ₁ : a área desta região corresponde a resiliência (energia absorvida na fase elástica); T: tangente da região O/C ₁ da curva, sendo o ângulo desta correspondente a rigidez (Bogni, 2013).....	35
Figura 7: Frango de corte, tibiotarso proximal normal. A imagem A é referente ao tratamento F aos 21 dias, as fotos B, C e D são referentes ao tratamento D aos 35 dias de vida das aves. Em A e B podem ser observadas epífise (a), placa de crescimento ou fise (b), metáfise (c) e diáfise (d). Em C e D são observadas as zonas da placa de crescimento (b): zona de proliferação (ZP), zona pré-hipertrófica (ZPH) e zona hipertrófica (ZH). Em todas as imagens são visualizados os vasos da metáfise (*), ocasionalmente invadindo a zona hipertrófica da placa de crescimento (Figura 1D). Hx E, X (1A), XX (1B), 100X (1C) e 200X (1D).....	52

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos para avaliar os efeitos da inclusão de fitases, com níveis normais e reduzidos de fósforo em dietas para frango de corte Cobb[®] sobre o desempenho produtivo (peso inicial, consumo de ração, peso médio, ganho de peso, conversão alimentar e viabilidade) e qualidade óssea das aves (conteúdo mineral ósseo, área óssea, densidade mineral óssea, índice de Seedor, força máxima suportada pelo osso antes da quebra, resiliência óssea, rigidez óssea, cinzas óssea e porcentagem de fósforo na tíbia). O desempenho produtivo foi realizado no período de um a 35 dias de idade das aves e a qualidade óssea foi avaliada aos 21 e 35 dias de idade das aves. Os delineamentos experimentais foram inteiramente casualizados com quatro tratamentos e seis repetições para cada experimento. Os tratamentos do experimento I foram: A- Controle: 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento), sem fitase; B- 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento) + Finase[®] com valorização; C- 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento) + Hostazym[®] com valorização; D- Controle Negativo: 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento) sem fitase, com valorização. Os tratamentos do experimento II foram: E- Controle: 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento), sem fitase; F- 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento) + Finase[®] com valorização; G- 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento) + Hostazym[®] com valorização; H- Controle negativo: 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento) sem fitase com valorização. No experimento I, a utilização do nível de 0,35% Pd na fase inicial e 0,30% na fase de crescimento sem inclusão de fitase (controle negativo) piorou o desempenho e a qualidade óssea das aves. Além disso, a enzima Finase[®] se mostrou mais eficiente, apresentando resultados semelhantes ao controle no período total de criação. No experimento II, a utilização do nível de 0,25% Pd na fase inicial e 0,20% na fase de crescimento sem inclusão de fitase (controle negativo) piorou o desempenho e a qualidade óssea das aves. Assim como no experimento I, a enzima Finase[®] se mostrou mais eficiente, apresentando resultados semelhantes ao tratamento controle para todos os períodos de criação.

Palavras-chave: frango de corte, fitase, desempenho, qualidade óssea, fósforo.

ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate the effects of phytase inclusion, with normal and reduced levels of phosphorus, in diets for Cobb® broiler on performance (initial weight, feed intake, weight, weight gain, feed conversion and viability) and broiler bone quality (bone mineral content, bone area, bone mineral density, Seedor index, bone breaking strength, bone resilience, bone stiffness, bone ash and phosphorus percent in tibia). Performance was evaluated in a period from one to 35 days of age of broilers, and bone quality was evaluated at 21 and 35 days of age. The experimental designs were completely randomized with four treatments and six replicates for each experiment. The treatments of the first study were: A – Control: 0,45% Pd (initial)/0,40%Pd (growth), without phytase; B – 0,45% Pd (initial)/0,40% Pd (growth) + Finase considering recovery; C – 0,45% Pd (initial)/0,40% Pd (growth) + Hostazym considering recovery; D – negative control: 0,45% Pd (initial)/0,40% Pd (growth) without phytase, considering recovery. The treatments of the second study were: E- Control: 0,35% Pd (initial)/0,30% Pd (growth), without phytase; F- 0,35% Pd (initial)/0,30% Pd (growth) + Finase® considering recovery; G- 0,35% Pd (initial)/0,30% Pd (growth) + Hostazym® considering recovery; H- negative control: 0,35% Pd (initial)/0,30% Pd (growth) without phytase, considering recovery. In the first trial, the use of 0,35% de Pd in the initial phase and 0,30% in the growth phase, without the inclusion of phytase (negative control), resulted in a decreased performance and bone quality of broilers. Furthermore, the enzyme Finase appeared to be more efficient, with similar results to control treatment during the entire rearing period. In the second study, the use of 0,25% Pd in the initial phase and 0,20% in the growth phase, without inclusion of phytase (negative control) resulted in a decreased performance and bone quality of broilers. As in the first study, the Finase enzyme appeared to be more efficient, with similar results to control treatment during de entire rearing period.

Keywords: broiler chicken, phytase, performance, bone quality, phosphorus.

1 INTRODUÇÃO

O fósforo é um mineral essencial para o crescimento e desenvolvimento estrutural e metabólico das aves, além disso, é um dos componentes que mais onera a ração de frangos de corte, sendo apontado como o terceiro nutriente mais caro, ficando atrás apenas da energia e da proteína (Runhoet al., 2001).

Cereais como o milho e a soja apresentam teores elevados de fósforo, cerca de 0,25% no milho e 0,56% no farelo de soja. No entanto, até 70% deste mineral pode estar presente na forma de fósforo fítico, o que representa um problema para os animais não ruminantes, pois estes não são capazes de produzirem quantidades suficientes de fitase para hidrolisar os complexos de fitato (Bollinget al., 2000). Sendo assim, é necessária a suplementação da ração com outras fontes de fósforo, como a farinha de carne e o fosfato bicálcico na nutrição das aves, resultando em aumento dos custos da ração além de maior poluição ambiental, pois o fósforo que for indisponível para ave será excretado e acumulado no ambiente, podendo contaminar lagos, córregos, rios e oceanos, além de aumentar o crescimento de algas que competem por oxigênio, levando a grande mortalidade de peixes (Syerset al., 2008).

No Brasil ainda não se tem uma grande preocupação com a excreção de fósforo, pois o solo é pobre nesse mineral, no entanto, alguns países da Europa e os Estados Unidos já sofrem com problemas devido ao excesso desse mineral no solo e conseqüentemente, no lençol freático.

Nesse contexto, métodos que consigam quebrar o ácido fítico, para liberação de minerais e outros nutrientes complexados ou que possibilitem a redução da excreção de fósforo pelas aves, reduzindo assim, a poluição ambiental e o custo da ração, se tornam interessantes para a avicultura.

A utilização de fitase exógena se tornou uma boa alternativa, uma vez que ela possui a capacidade de hidrolisar o ácido fítico e seus sais (fitato), liberando fósforo inorgânico e outros minerais (Casey e Walsh, 2004).

Em países onde é proibida a utilização de farinha de carne e ossos e a fonte de fósforo passa a ser completamente inorgânica, como o fosfato bicálcico, a fitase torna-se ainda mais interessante, uma vez que essa fonte é não renovável e muito cara.

Com isso objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito da suplementação de duas fitases comerciais de origem bacteriana (*Escherichia coli*) com diferentes níveis de fósforo, sobre o desempenho e qualidade óssea de frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO NA NUTRIÇÃO DAS AVES

O fósforo (P) é indicado como o macro mineral mais caro nas rações de monogástricos, sendo que seu excesso ou deficiência pode causar danos ao desempenho das aves.

Esse mineral participa de inúmeras funções no organismo, estando envolvido em várias reações metabólicas e sendo responsável juntamente com o cálcio principalmente pela formação e manutenção dos ossos. O esqueleto ósseo funciona como um reservatório para o cálcio e o fósforo, sendo que 99% do cálcio e 80% do fósforo do organismo encontram-se nos ossos (Junqueira e Carneiro, 2004). Assim, os ossos além de serem componentes estruturais ou de suporte do corpo, servem também como reserva de cálcio e fósforo e podem ser mobilizados quando o fornecimento desses minerais for inadequado para atender as necessidades do organismo (Maynard et al., 1984).

O fósforo é também essencial para utilização e transferência de energia na forma de ATP, além disso, é integrante dos ácidos nucleicos, e em associação aos lipídios forma os compostos de fosfolipídios que são os principais componentes da membrana plasmática. Além disso, esse mineral participa como componente ativador e constituinte de complexos coenzimáticos como o NAD e NADP e forma o sistema tampão fosfato, visando a manutenção do equilíbrio ácido-básico e osmótico do organismo (Pinheiro, 2009).

O fósforo é absorvido no intestino delgado e após sua absorção, esse mineral circula pelo corpo sendo retirado do sangue para ser depositado nos ossos, podendo também ser reabsorvido dos ossos para manter níveis plasmáticos normais (Maiorka e Macari, 2002). O excesso de cálcio resulta em menor absorção de fósforo, devido a formação de fosfatos insolúveis no intestino delgado, por isso, é sempre importante manter relações adequadas nos níveis de cálcio e fósforo para frangos de corte (Bertechini, 2012).

Os minerais podem ser descritos como total, digestível e disponível. O fósforo considerado total em um alimento é aquele que compreende tanto a porção disponível como a indisponível do mineral, ou seja, é todo o fósforo presente no alimento, mesmo que esse não seja aproveitado pelo animal. O fósforo digestível é dado pela diferença entre a quantidade de fósforo ingerido e a quantidade encontrada nas excretas. A digestibilidade aparente subestima

a utilização do fósforo pelas aves, por isso, valores de digestibilidade verdadeira corrigida pelas perdas endógenas de fósforo devem ser utilizados (Shen et al., 2002).

Já o fósforo disponível é definido como a porção desse mineral ingerido, capaz de ser absorvido e estar disponível tanto para as funções metabólicas, quanto para o armazenamento nos tecidos dos animais. Sua determinação é feita por meio da avaliação de parâmetros ósseos, sanguíneos e enzimáticos (Spencer et al., 2000).

A biodisponibilidade do fósforo vai depender da fonte desse mineral, sendo que o fósforo inorgânico e de fontes proteicas animais são considerados como 100% disponíveis, já o fósforo de origem vegetal possui uma disponibilidade média de 1/3 do total, dependendo do teor de ácido fítico presente no vegetal (Bertechini, 2012).

Na tabela 1, estão apresentados o conteúdo de fósforo fítico de alguns ingredientes, sendo os principais para avicultura o milho e a soja (Rostanho et al., 2011).

TABELA 1. Conteúdo de fósforo em alguns ingredientes de origem vegetal

Ingredientes	Fósforo (%)		
	Total	Fítico	Não fítico
Farelo de arroz	1,67	1,43	0,24
Milho	0,25	0,19	0,06
Sorgo	0,26	0,18	0,08
Farelo de soja (45%)	0,56	0,34	0,22
Farelo de soja (48%)	0,63	0,39	0,24
Farelo de trigo	0,97	0,64	0,33

Fonte: Rostanho et al., 2011

Como pode ser observada a porcentagem de fósforo fítico nesses ingredientes é alta, sendo 76% do fósforo total no milho e 61% no farelo de soja. O fósforo fítico é muito pouco aproveitado pelas aves, devido a deficiência dessas em produzir fitase endógena, por isso, atualmente vem sendo muito utilizada fontes exógenas de fitase a fim de aumentar a disponibilidade desse fósforo complexado.

2.2 ÁCIDO FÍTICO

O ácido fítico (mio-inositolhexaquisfosfato, IP₆) é um complexo orgânico que ocorre naturalmente nas plantas, formando uma variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes, sendo uma das formas pelas quais as plantas armazenam nutrientes para seu uso durante a germinação (Consuegro, 1999).

Segundo Almeida et al. (2003), o fitato é sintetizado a partir da fosforilação completa do mio-inositol que, por sua vez, tem a glicose como precursora, resultando no inositolhexafosfato. Quanto maior o grau de fosforilação do mio-inositol, maior é o seu poder de complexação.

Esse complexo possui baixo peso molecular, sendo formado por seis grupos fosfato ligados a uma molécula chamada de mio-inositol com seis carbonos (figura 1). Em pH neutro cada grupo fosfato apresenta um ou dois átomos de oxigênio carregados negativamente, podendo assim, o fitato chegar a ter até doze oxigênios ionizados, que se tornam fortes quelantes (Silva, 2004). A capacidade da ligação do inositol fosfato aos íons metálicos depende do número de grupos fosfatos desprotonados da molécula (De Carliet al., 2006).

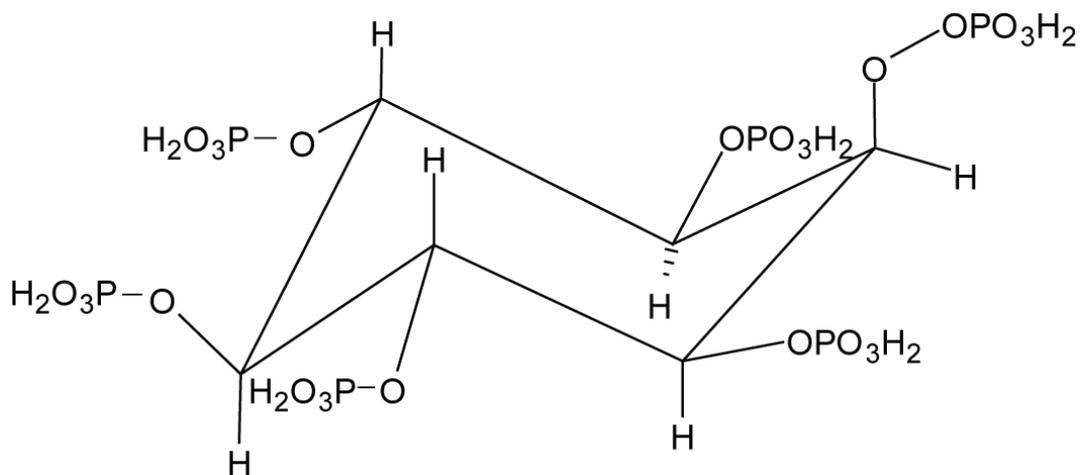


FIGURA 1: Molécula de ácido fítico (De Carliet al., 2006)

A molécula de fitato polianiónica pode transportar 12 cargas negativas que conferem a ela, uma grande capacidade para quelar cátions divalentes, incluindo Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} e Cu^{2+} , tornando-os indisponíveis para serem absorvidos no intestino de aves e suínos, sendo assim, excretados (Ligeiro, 2007).

Tais complexos são formados principalmente em pH neutro e básico, pois em pH ácido a protonação parcial ou total do ácido fítico diminui sua capacidade de ligar-se a nutrientes catiônicos como, por exemplo, minerais divalentes (Naves, 2012).

Devido esses fatores, Swick e Ivey (1992) descreveram a molécula de fitato como um fator anti-nutricional, além de um nutriente indigestível.

O cálcio, mineral que possui grande importância para o animal, assim como o fósforo, é comumente adicionado à ração na forma de calcário, e também pode ser complexado com o ácido fítico tornando-se indisponível para a ave. Segundo Selleet al. (2009), é possível que o cálcio não esteja complexado com o fitato na ração, uma vez que ele se apresenta em baixa concentração nos ingredientes como o milho e a soja, portanto, provavelmente esse complexo do fitato com o cálcio ocorre no trato digestório das aves e é de grande relevância nutricional, pois cerca de um terço do cálcio ingerido é complexado com o fitato durante a passagem da ração pelo intestino, o que compromete sua absorção.

O complexo fitato-Ca é formado principalmente em pH de 5,0 a 8,5 sendo que a afinidade do fitato pelo Ca^{2+} aumenta com o aumento do pH. Portanto, teoricamente, esse tipo de complexo não pode ser formado *in vivo* apenas no proventrículo e moela devido ao forte caráter ácido desses segmentos (Oh et al., 2006).

O ácido fítico além de se ligar a minerais, dependendo do pH em que se encontra, pode ligar-se também à proteínas. Segundo Ligeiro (2007), estes complexos de ácido fítico com minerais e proteínas são de difícil digestão, reduzindo assim a absorção destes nutrientes. Estes complexos ocorrem naturalmente em ingredientes de origem vegetal, como o milho e a soja largamente utilizados na avicultura e também podem ser formados na porção inicial do trato gastrointestinal.

A interação entre o fitato e a proteína aparentemente se dá por uma ligação iônica que depende das condições de pH. Em pH baixo, o fitato forma ligações eletrostáticas com resíduos básicos como a arginina, lisina e histidina resultando num complexo insolúvel. Quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico, a carga da proteína passa a ser neutra e ela não irá se ligar ao fitato. Sob condições básicas, o fitato forma complexo com proteína na presença de cátions divalentes, sendo que esses cátions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}) agem como uma ponte entre o grupo carboxila carregado negativamente e o fitato (Cousins, 1999).

Segundo Naves (2012), ocorre grande variação na concentração de ácido fítico nos ingredientes de origem vegetal, devido a vários fatores como variações no clima, solo/adubação, idade, cultivar, grau de processamento e melhoramento genético. No entanto, mesmo em pequena concentração a molécula de ácido fítico apresenta alto conteúdo de

fósforo, aproximadamente 28,2% (Kornegayet al., 2001), justificando assim a utilização de fitase exógena para reduzir o custo da ração e a excreção de nutrientes no ambiente.

2.3 UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

As enzimas são proteínas catalisadoras que aumentam a velocidade das reações químicas sem sofrerem alterações (Champeet al., 2006). São altamente específicas para os substratos e possuem um sítio ativo que permite que atuem na ruptura de uma determinada ligação química, sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade (Penz Júnior, 1998).

Todos os animais utilizam as enzimas durante a digestão dos alimentos, essas enzimas são produzidas pelo próprio animal, ou por microrganismos presentes no intestino. No entanto, o processo digestivo não é 100% eficiente, as aves, por exemplo, não podem digerir cerca de 15 a 25% dos alimentos que consomem, devido aos ingredientes da ração possuírem fatores antinutricionais não digestíveis e/ou devido a esses animais não produzirem enzimas capazes de quebrar certos componentes do alimento (Bedfordand e Partridge, 2011).

A suplementação de enzimas na ração pode aumentar a eficiência da digestão, pois essas enzimas vão auxiliar na quebra dos fatores antinutricionais que estão presentes em muitos ingredientes. Dentre os seus benefícios incluem: a melhora na eficiência digestiva, redução na excreção de nutrientes e redução do custo (Campestriniet al., 2005).

As enzimas são classificadas de acordo com os substratos em que agem. Atualmente na alimentação animal os tipos de enzimas mais utilizadas são aquelas que quebram a fibra, as proteínas, o amido e o fitato (Bedfordand e Partridge, 2011). Sendo que a fitase é a mais difundida comercialmente na produção de frangos de corte.

2.4 FITASE

As tentativas de desenvolver uma fitase para inclusão na alimentação de aves e suínos começaram na década de 1960, em resposta à capacidade do fitato em limitar a disponibilidade de cálcio e fósforo para esses animais (Wodzinski e Ullah, 1996).

O aumento no número de produtos comerciais de fitase, a redução dos custos de inclusão, o aumento dos preços dos suplementos de fósforo, a proibição do uso da farinha de carne e ossos por vários países, juntamente com a crescente preocupação de alguns países em relação a poluição e contaminação por fósforo, foram fatores fundamentais para a crescente utilização dessa enzima. Além disso, o desenvolvimento da compreensão científica sobre a

relação fitato-fitase na nutrição das aves, e seus efeitos, também contribuíram para esse crescimento (Bedford, 2003).

2.4.1 MECANISMO DE HIDROLISE DA FITASE

A fitase (mio-inositolhexaquisfosfatofosfohidrolase) é uma enzima capaz de hidrolisar as ligações fosfoéster da molécula de fitato, por meio de uma série de reações sequenciais de desfosforilação, as quais resultam em ésteres de fosfato de mio-inositol menores e fósforos inorgânicos que podem ser aproveitados pela ave (Hanet al., 2009). Teoricamente, a hidrólise enzimática completa do fitato produz uma molécula de mio-inositol e seis fósforos inorgânicos. No entanto, em geral, as fitases não têm capacidade de desfosforilar o fitato completamente, resultando na molécula de mio-inositol (2) fosfato (Bedford and Partridge, 2011).

A hidrólise do fitato pela fitase é um processo serial, portanto, cada intermediário fosfatado do mio-inositol é liberado do sítio ativo da enzima, mas pode ser substrato para a hidrólise seguinte. O mecanismo de catálise e o grau de desfosforilação do ácido fítico são variáveis entre as diferentes fitases (Greiner et al., 2002).

Esta variação entre as fitases fez com que fosse criada uma medida para avaliar a atividade da enzima para possibilitar uma comparação entre elas, originando assim, a unidade de atividade de fitase (FTU), sendo que um FTU é a quantidade de fósforo inorgânico liberado (μmol) durante um minuto de reação em uma solução de fitato de sódio 5,1 mmol/L em pH 5,5 e temperatura de 37 °C (Engelen et al., 1994).

2.4.2 CLASSIFICAÇÃO DA FITASE

As fitases são um grupo de enzimas que possuem diversos tamanhos, estruturas e mecanismos catalíticos.

Com base no mecanismo catalítico as fitases podem ser divididas em histidina fosfatase ácida (HFA), fitase β -hélice (FBH) e fosfatase ácida “purple” (FAP), sendo que a mais utilizada comercialmente é a HFA (Mullaney e Ullah , 2003). Em relação ao átomo de carbono no anel de mio-inositol de fitato em que a desfosforilação é iniciada, elas podem ser divididas em 3-fitases, quando a desfosforilação começa no carbono 3, em 6-fitases quando começa no carbono 6 e em 5-fitases, quando começa no carbono 5 (Bedford and Partridge, 2011).

Já em relação ao pH, as fitases são divididas em ácidas (pH ótimo entre 2,5 e 6) ou alcalinas (pH ótimo entre 6,0 e 8,0), sendo que as mais utilizadas são as fitases ácidas principalmente com pH ótimo entre 4,0 e 6,0, pois essas atuam na porção inicial do trato digestório das aves (papo, moela e proventrículo) como pode ser visto na figura 2, disponibilizando o fósforo e outros nutrientes para posterior absorção no intestino, além disto nessa região do trato digestório é o local onde o alimento permanece por maior tempo, possibilitando maior contato do ácido fítico com a fitase (Naves, 2012).

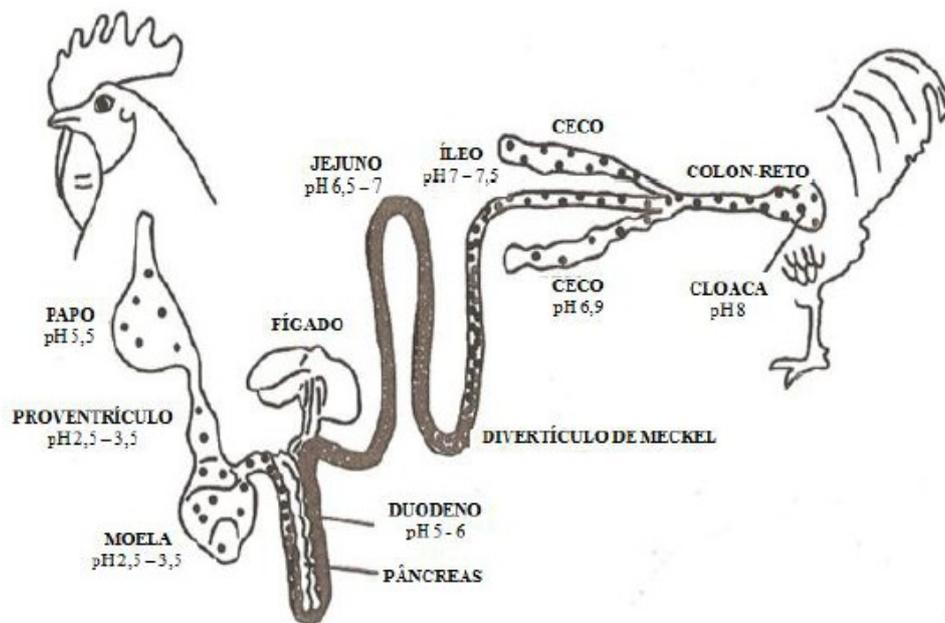


FIGURA 2. pH do alimento nos diferentes segmentos do trato de digestório de frangos de corte (Gauthier, 2002)

A fitase é amplamente encontrada em microrganismos, plantas e certos tecidos animais, podendo assim ter diferentes formas de origem. No entanto, do ponto de vista comercial as de origem microbiana (por exemplo *Escherichia coli*) são as mais utilizadas, devido a sua grande capacidade de crescimento e replicação, sendo facilmente produzidas em larga escala. Outra característica das enzimas microbianas é seu caráter ácido, tendo como pH ótimo em torno de 4,5, o que possibilita sua boa atuação na porção inicial do trato digestório das aves, proporcionando maior aproveitamento dos nutrientes, como já foi mencionado (Vats e Banerjee, 2004).

2.4.3 EFEITO DA ADIÇÃO DE FITASE NO DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

Atualmente a fitase é amplamente utilizada na produção de frangos de corte, principalmente com o objetivo de reduzir a suplementação da fonte de fósforo e consequentemente o custo de produção. Com isso, diversas pesquisas têm sido feitas e a literatura com relação ao uso de fitase em rações de aves é vasta. Estes trabalhos têm mostrado benefícios na suplementação de fitase em rações com níveis reduzidos de fósforo sobre o desempenho de frangos de corte.

Silva et al. (2006), avaliando a utilização de fitase com níveis reduzidos de proteína bruta (15%, 17% e 19%) e fósforo disponível (0,45%, 0,34% e 0,25%) para frangos de corte na fase de 1 a 21 dias, observaram que níveis de 17% de PB e 0,34% de Pd podem ser utilizados, apresentando bom desempenho desde que a ração seja suplementada com aminoácidos e fitase (500 FTU/Kg). Esses autores também observaram redução nos teores de P, Ca, Cu e Zn na cama dos frangos alimentados com esse tratamento, o que pode ser explicado pela menor concentração de fósforo total na ração e redução dos complexos com ácido fítico devido a suplementação com fitase.

Laurentiz et al. (2007) também observaram que é possível reduzir a inclusão de fósforo, quando a ração é suplementada com fitase, sendo que para fase final de criação os autores conseguiram reduzir 63% do nível de fósforo disponível, passando de 0,38% para 0,14% com suplementação de fitase, sem alterar o desempenho das aves.

Ao realizarem ensaio metabólico e de desempenho para avaliar os efeitos do fornecimento de rações com níveis reduzidos de proteína bruta (20, 19,18 e 17%), cálcio (0,30 pontos percentuais a menos que o recomendado) e fósforo disponível (0,15 pontos percentuais a menos que o recomendado), com suplementação de fitase e aminoácidos, Gomide et al. (2011) concluíram que é possível reduzir o nível proteico em até em três pontos percentuais na fase de 8 a 35 dias de idade e o nível de fósforo disponível e de cálcio em 0,15 e 0,30 pontos percentuais, respectivamente, sem prejudicar o desempenho dos frangos de corte.

Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2011), estes autores verificaram que a redução do nível de fósforo disponível na fase final para 0,28%, não causa redução do desempenho dos frangos, desde que suplementados com fitase.

Em contrapartida, Brunelli et al. (2012) não observaram diferenças significativas nos resultados de desempenho com adição de fitase, provavelmente devido a não valorização da matriz nutricional da enzima. Segundo Qian et al. (1996), a eficiência da fitase nos parâmetros

de desempenho é aumentada quando esta participa de dietas que contém baixos níveis de fósforo disponível, sendo sua função inibida quando estes níveis atendem as exigências nutricionais do frango.

Além disso, a idade da ave é um fator muito importante para avaliação da exigência nutricional de P. Aves na fase final de criação podem aumentar o aproveitamento do P complexado ao ácido fítico, em consequência da plena atividade enzimática do sistema digestivo e, além disso, é na fase inicial e na de crescimento que ocorrem tanto o maior desenvolvimento quanto a formação geral da ave (Laurentiz et al., 2007). Por isso, normalmente a ave apresenta pior desempenho quando ocorre redução brusca de P na fase inicial.

Como mostrado, o ácido fítico pode se complexar com o cálcio tornando-o indisponível, podendo assim, diminuir a inclusão desse mineral quando se utiliza fitase. Donato et al. (2011) verificaram que é possível reduzir em até 30% o nível nutricional de cálcio, em dietas com nível reduzido de fósforo disponível e com adição de fitase, pois desta forma ocorre o ajuste da relação Ca:P para 2:1 favorecendo o melhor desempenho das aves e menor mortalidade. Segundo Schoulten et al. (2003), os níveis de cálcio devem ser reduzidos proporcionalmente à redução dos níveis de fósforo total quando se utiliza fitase, pois tanto níveis elevados de cálcio como níveis muito baixos em relação ao fósforo pioram o desempenho das aves. Segundo Bertechini (2012), o excesso de cálcio de alta solubilidade intestinal resulta em redução da absorção de fósforo, devido a formação de fosfatos insolúveis no intestino delgado. Sendo assim, é importante manter um nível ideal de cálcio na dieta, para que se tenha uma máxima absorção de fósforo.

Acredita-se que o ácido fítico também possa complexar proteína, sendo mais uma razão para utilização da fitase. Gomide et al. (2007) observaram que a proteína bruta pode ser reduzida em até 16% na fase de crescimento desde que a ração seja suplementada com fitase e aminoácidos. Segundo Diambra e McCartney (1995), aves alimentadas com rações com níveis reduzidos de proteína tendem a aumentar o consumo na tentativa de suprir possíveis deficiências em proteína e/ou aminoácidos. Este fato não foi observado por Gomide e colaboradores, possivelmente, em razão da suplementação com aminoácidos, que supriu as exigências da ave.

No trabalho realizado por Costa et al. (2007), a adição da enzima fitase nas rações das aves reduziu a excreção de fósforo e aumentou a disponibilidade de outros nutrientes, tais como minerais (cálcio, zinco e cobre), proteínas, aminoácidos e energia, diminuindo desta maneira as excreções destes e melhorando conseqüentemente, o desempenho dos animais.

De acordo com Sebastian et al. (1996), a melhora no desempenho das aves alimentadas com dietas suplementadas com fitase pode ter três razões: a liberação dos minerais presentes no complexo fitato-mineral; a utilização do inositol (produto final da desfosforalização do ácido fítico) pelos animais e o aumento da digestibilidade do amido e da disponibilidade da proteína.

Teixeira et al. (2013) avaliaram o efeito da suplementação de fitase com diferentes níveis de fósforo disponível sobre o desempenho de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade e observaram que a utilização de dietas suplementadas com 1.500 UF kg⁻¹ permitiu reduzir o nível de fósforo disponível para 0,30% sem prejudicar o desempenho de frangos de corte para esse período de criação.

Em relação à definição de planos nutricionais com utilização de fitase, Naves et al. (2014), definiu como melhor plano nutricional a utilização de 4,7 g kg⁻¹ de P-disponível sem fitase (1 a 7 dias); 2,0 g kg⁻¹ de P-disponível suplementada com fitase (8 a 21 dias); 3,4 kg⁻¹ de P-disponível em ração sem fitase (22 a 35 dias); e 3,0 g kg⁻¹ de P-disponível em ração sem fitase (36 a 42 dias). Dessa forma, concluiu que o melhor plano nutricional é aquele no qual a redução de fósforo pela equivalência estabelecida para a fitase é realizada apenas no período de criação de 8 a 21 dias de idade das aves, ou seja, nesse período foi possível utilizar a redução de fósforo correspondente à quantidade que a enzima libera de acordo com a recomendação da enzima, sem prejudicar o desempenho das aves.

2.4.4 EFEITO DA ADIÇÃO DE FITASE NA QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE

O tecido ósseo é o segundo tecido a ter seu desenvolvimento priorizado pelo organismo, atrás somente do sistema nervoso e à frente dos tecidos muscular e adiposo. Tal fato ilustra bem a importância do correto e adequado desenvolvimento deste tecido (Souza, 2012).

A nutrição desempenha papel essencial para a obtenção de tecido ósseo de alta qualidade. Dentre os nutrientes o cálcio e o fósforo são os principais formadores da matriz mineral, contribuindo com 95% (Rathet al., 2000), sendo que o cálcio é o mineral encontrado em maior quantidade, estando presente quase que em sua totalidade (99%) no tecido ósseo, sendo exigido em quantidade maior que qualquer outro mineral. Os principais constituintes do tecido ósseo são o carbonato de cálcio, fosfato de cálcio, colágeno e água. O carbonato e o fosfato de cálcio dão rigidez ao osso e são os responsáveis pela resistência à compressão, o

colágeno dá elasticidade e contribui para a resistência à tração, assim como a água que também é importante para a resistência óssea (Sa et al., 2004).

O fósforo (P) é o segundo mineral mais abundante no corpo, e a maior parte dele é encontrada nos ossos. A deficiência de P em frangos de corte pode resultar em quebra ou defeitos nos ossos durante o processamento, causando o descarte de partes da carcaça (Brenes et al., 2003).

A rigidez do tecido ósseo é resultante da deposição de cálcio e fósforo, na forma de hidroxiapatita, durante o processo de mineralização óssea. Esses dois minerais perfazem cerca de 70% da composição óssea e os 30% restantes são compostos de matéria orgânica, principalmente o colágeno (Bruno, 2002). Como a hidroxiapatita e o alumínio possuem densidades muito semelhantes, muitos autores realizaram estudos com o objetivo de relacionar o grau de mineralização óssea e a densidade do alumínio e concluíram que é possível comparar, por estudo radiológico, a quantidade de cálcio e fósforo depositados nos ossos com a quantidade de alumínio encontrada em uma escala pré-definida, pela análise de densitometria óssea em imagens radiográficas (Louzada, 1994).

O tecido ósseo é dinâmico e está em constante renovação para adaptar-se às cargas as quais são impostas. Em condições normais, o equilíbrio entre a formação (osteoblastos) e a reabsorção (osteoclastos) está ligado às vias metabólicas associadas à homeostasia mineral necessária para manter a integridade estrutural e manutenção dos estoques de cálcio e fósforo (Bogni, 2013).

O desequilíbrio de cátions e ânions na dieta pode influenciar na incidência de problemas de pernas em frangos de corte, visto que estes tem crescimento extremamente rápido, por isso, drásticas alterações nesse equilíbrio podem acarretar em severos danos em seu desempenho (Souza, 2012). Deve-se salientar que as exigências nutricionais de cálcio e de fósforo para o desenvolvimento ósseo são superiores àquelas para o ganho de peso (Veloso et al., 2000).

Como a fitase proporciona um maior aproveitamento de fósforo e cálcio, e esses minerais estão diretamente relacionados com a formação óssea, parâmetros ósseos passam a ser bons indicadores da eficiência da enzima. Segundo Onyango et al. (2003), dentre os métodos usados para avaliar a mineralização óssea em aves, encontram-se as análises do teor de minerais, resistência à quebra, peso do osso e a densitometria óssea. Embora o desempenho e a retenção de minerais sejam medidas importantes em qualquer alteração dietética, as concentrações plasmáticas e ósseas são geralmente mais sensíveis do que os fatores de desempenho para avaliar disponibilidade de minerais.

Com isso diversos trabalhos são realizados para avaliar a qualidade óssea quando se utiliza fitase, a fim de fornecer informações indiretas sobre a eficiência da enzima e sua capacidade de disponibilizar minerais como o cálcio e o fósforo.

Oliveira et al. (2008) avaliaram diferentes parâmetros de qualidade óssea, quando utilizaram níveis reduzidos em 85% e 70% da exigência de fósforo disponível dos frangos de corte com a inclusão de fitase (25 FTU/kg). Eles não observaram diferença para concentração de fósforo e cinzas nos ossos entre nenhum dos tratamentos, já em relação ao cálcio, os tratamentos com inclusão de fitase apresentaram maior concentração de cálcio nos ossos, do que os que não tiveram fitase. Isso pode ser explicado devido a essa enzima liberar além do fósforo, o cálcio, e como as dietas eram isocálcicas, provavelmente ocorreu excesso de cálcio em relação ao fósforo, aumentando assim sua deposição nos ossos. Para o parâmetro de resistência óssea, a resistência diminuiu ao utilizar 70% da exigência de fósforo.

Com isso, eles concluíram que é possível utilizar dietas com 85% das exigências de fósforo disponível suplementadas com 25 FTU/kg de fitase, sem apresentar efeitos negativos ao teor de minerais, densidade, peso, morfometria e resistência óssea.

Laurentiz et al. (2007) avaliaram a redução de fósforo nas diferentes fases de criação, sendo que um tratamento reduziu o fósforo na fase final (0,14% Pd), outro na fase de crescimento e final (0,17% e 0,14% Pd respectivamente), e por último com redução em todas as fases de criação (0,21%, 0,17% e 0,14% Pd respectivamente), sendo que quando houve redução de fósforo foi adicionado fitase (500 FTU/kg). Esses autores observaram que a redução de fósforo na fase inicial e de crescimento mesmo com a utilização de fitase, determinou diminuição na deposição de fósforo e cinzas na tíbia. Já a redução de Pd na fase final não comprometeu esses parâmetros. Isso pode ser explicado devido a maior exigência de fósforo na fase inicial e de crescimento para a formação óssea.

Fukayama et al. (2008) avaliaram três níveis de suplementação de fitase: 500, 750 e 1000 FTU/kg ração, com redução de energia (2940 kcal EM/kg), proteína (21,2%), cálcio (0,9% Ca) e fósforo (0,27% Pd) na ração, sobre a digestibilidade de fósforo e qualidade óssea das aves. Eles observaram maior digestibilidade de fósforo com a suplementação de 1.000 FTU/kg, o que não refletiu na melhor mineralização e resistência óssea, sendo que para esses parâmetros a adição de 750 FTU/kg de fitase na ração proporcionou os melhores resultados, apresentando valores semelhantes ao do controle positivo. Isso ocorreu provavelmente em virtude da utilização do fósforo em outros processos vitais do organismo do animal. Além disso, considerando que o Ca e o P são os minerais em maior proporção na estrutura óssea, a

maior disponibilidade desses minerais pela adição da fitase, foi provavelmente, a principal causa de melhora na porcentagem de cinzas e resistência à quebra.

Avaliando o efeito da adição da enzima fitase, associada a baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta, sobre os parâmetros ósseos de frangos de corte de um a 21 dias de idade, Vaz et al. (2013) encontraram que a porcentagem de cálcio e fósforo nas tíbias é influenciada pelos níveis de proteína e de fósforo na dieta com a utilização de fitase. Os teores de matéria mineral nas tíbias apresentou maior valor com o nível de 22,5% de proteína, 0,45% de fósforo disponível e 1200 FTU/Kg de fitase na dieta.

A maioria das pesquisas utilizando fitases indicam boa efetividade dessas enzimas em hidrolisar o fósforo das moléculas de fitato dos ingredientes vegetais. Por outro lado, novas moléculas são lançadas no mercado indicando diferenças na eficiência, havendo assim, a necessidade de avaliações técnicas desses produtos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 EXPERIMENTO I- Utilização de duas fitases comerciais na alimentação de frangos de corte, avaliando seu desempenho e qualidade óssea.

3.1.1 Condições Experimentais

3.1.2 Local e Período

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental “Prof. Hélio Barbosa”, localizada no município de Igarapé – Minas Gerais, no período de 16 de agosto a 20 de setembro de 2013.

As aves foram alojadas em galpão experimental, com boxes forrados com cepilho de madeira, sendo que em cada boxe foram alojadas 30 aves (14 aves/m²). Os pintos foram aquecidos até os 14 dias por meio de lâmpada infravermelha e durante os primeiros sete dias cada boxe foi equipado com bebedouro tipo copo de pressão e posteriormente, bebedouro pendular automático, com água à vontade. Do alojamento aos 14 dias de idade foi utilizado comedouro tubular infantil e posteriormente, um comedouro tubular por boxe, com ração à vontade. Os pintos foram vacinados no incubatório contra a doença de Marek.

Durante os primeiros 14 dias de idade, as aves receberam 24 horas de luz artificial (em função da Lâmpada de 250 W do aquecimento), passando a receber iluminação natural a partir dessa idade.

3.1.3 Aves

Foram utilizados 720 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb, criados durante o período de um a 35 dias de idade.

3.1.4 Tratamentos

Os tratamentos foram definidos pela valorização da enzima, sua inclusão ou não e os teores de fósforo. As duas enzimas foram de origem bacteriana, utilizadas comercialmente (Finase[®] (A) e Hostazym[®] (B)) com inclusão de 500 FTU/kg de ração, sendo a valorização do fósforo utilizada de 0,10% Pd.

Assim os tratamentos foram os seguintes:

- Tratamento A:** 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento), sem fitase e sem valorização (controle)
- Tratamento B:** 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento) + fitase A com valorização
- Tratamento C:** 0,45% Pd (inicial)/0,40% Pd (crescimento) + fitase B com valorização
- Tratamento D:** 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento) sem fitase, com valorização (controle negativo)

3.1.5 Rações

Para os cálculos dos níveis nutricionais das dietas foram utilizados os dados dos valores nutricionais dos ingredientes de acordo com Rostagno et al. (2011). As composições das dietas, com seus respectivos valores nutricionais calculados, encontram-se nas tabelas 2 e 3.

As rações foram divididas em duas fases, inicial e de crescimento, sendo que a ração inicial foi fornecida aos animais de um a 21 dias e a de crescimento de 22 a 35 dias, ambas fornecidas à vontade.

TABELA 2. Composição e valores nutricionais calculados das dietas

Ingredientes	Tratamento A		Tratamento B	
	Inicial	Crescimento	Inicial	Crescimento
Milho 7,26% PB	595	635	604	645
Farelo de soja 47% PB	312	270	323	280

Farinha de carne 41,86% PB	50	43	32	26
Óleo vegetal	27	35	21	29
Calcário 37% Ca	3,30	4,90	7,40	8,00
Sal	4,00	3,80	4,20	4,00
DL-Metionina 99%	2,85	2,45	2,75	2,40
L-Lisina 98%	1,85	1,95	1,70	1,80
Premix ¹	2,00	2,00	2,00	2,00
L-Treonina	0,90	0,85	0,75	0,65
Cloreto de colina 70%	0,55	0,45	0,55	0,45
Salinomicina*	-	0,55	-	0,55
Nicarbazina+ Maduramicina*	0,50	-	0,50	-
Halquinhol 60%	0,05	0,05	0,05	0,05
Finase EC 5P 5000 100g/ton ²	-	-	0,10	0,10
Peso total	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0

Níveis nutricionais

Energia Met. Aves Kcal/kg	3050	3147	3050	3151
Proteína Bruta %	21,48	19,49	21,51	19,51
Extrato Etéreo %	6,03	6,83	5,29	6,11
Fibra Bruta %	2,99	2,86	3,05	2,92
Matéria Mineral %	5,45	5,12	5,22	4,84
Cálcio %	0,95	0,91	0,96	0,89
Fósforo total %	0,67	0,61	0,67	0,62
Fósforo disponível %	0,45	0,40	0,45	0,40
Sódio %	0,20	0,19	0,20	0,19
Cloro %	0,33	0,32	0,34	0,33
Potássio %	0,78	0,71	0,80	0,73
Colina mg	1,54	1,37	1,54	1,38
Lisina dig. Aves %	1,17	1,06	1,17	1,06
Metioninadig. Aves %	0,59	0,53	0,58	0,53
MetCisDig. Aves %	0,85	0,77	0,85	0,77

¹Premix (Fase inicial), cada kg contém: 9.000 UI de vit. A, 2.500 UI de Vit. D3, 14,0 mg de vit. E, 2,0 mg de vit. k3, 2,5 mg de vit. B1, 6,2 mg de vit. B2, 4,0 mg de vit. B6, 14,0 mcg de vit. de vit. B12, 40,0 mg de niacina, 15,0 mg de ácido pantatênico, 1,0 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio. ¹Premix (Fase crescimento), cada tonelada contém: 7.000 UI de vit. A, 2.000 UI de Vit. D3, 11,0 mg de vit. E, 1,6 mg de vit. k3, 1,6 mg de vit. B1, 4,5 mg de vit. B2, 2,2 mg de vit. B6, 10,0 mcg de vit. de vit. B12, 32,0 mg de niacina, 12,0 mg de ácido pantatênico, 0,8 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio.

²Valorização Finase (100g/ton): 328.000 Kcal/kg EMA, 2.250% PB, 1.000% de Ca, 1.150% de Pd.

* Coxistac PX 12% e MNGrow.

TABELA 3. Composição e valores nutricionais calculados das dietas

Ingredientes	Tratamento C		Tratamento D	
	Inicial	Crescimento	Inicial	Crescimento
Milho 7,26% PB	604	645	604	645

Farelo de soja 47% PB	323	280	323	280
Farinha de carne 41,86% PB	32	26	32	26
Óleo vegetal	21	29	21	29
Calcário 37% Ca	7,45	8,05	7,50	8,10
Sal	4,20	4,00	4,20	4,00
DL-Metionina 99%	2,75	2,40	2,75	2,40
L-Lisina 98%	1,70	1,80	1,70	1,80
Premix	2,00	2,00	2,00	2,00
L-Treonina	0,75	0,65	0,75	0,65
Cloreto de colina 70%	0,55	0,45	0,55	0,45
Salinomicina*	-	0,55	-	0,55
Nicarbazina+ Maduramicina*	0,50	-	0,50	-
Halquinhol 60%	0,05	0,05	0,05	0,05
Hostazym P 10000 50g/ton	0,05	0,05	-	-
Peso total	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0

Níveis nutricionais

Energia Met. Aves Kcal/kg	3050	3151	3017	3118
Proteína Bruta %	21,51	19,52	21,29	19,29
Extrato Etéreo %	5,29	6,11	5,29	6,11
Fibra Bruta %	3,05	2,92	3,05	2,92
Matéria Mineral %	5,23	4,85	5,23	4,85
Cálcio %	0,96	0,89	0,87	0,80
Fósforo total %	0,67	0,61	0,56	0,50
Fósforo disponível %	0,45	0,40	0,35	0,30
Sódio %	0,20	0,19	0,20	0,19
Cloro %	0,34	0,33	0,34	0,33
Potássio %	0,80	0,73	0,80	0,73
Colina mg	1,54	1,38	1,54	1,38
Lisina dig. Aves %	1,17	1,06	1,16	1,05
Metioninadig. Aves %	0,58	0,53	0,58	0,53
MetCisDig. Aves %	0,85	0,77	0,84	0,77

¹Premix (Fase inicial), cada tonelada contém: 9.000 UI de vit. A, 2.500 UI de Vit. D3, 14,0 mg de vit. E, 2,0 mg de vit. k3, 2,5 mg de vit. B1, 6,2 mg de vit. B2, 4,0 mg de vit. B6, 14,0 mcg de vit. de vit. B12, 40,0 mg de niacina, 15,0 mg de ácido pantatênico, 1,0 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio. ¹Premix (Fase crescimento), cada tonelada contém: 7.000 UI de vit. A, 2.000 UI de Vit. D3, 11,0 mg de vit. E, 1,6 mg de vit. k3, 1,6 mg de vit. B1, 4,5 mg de vit. B2, 2,2 mg de vit. B6, 10,0 mcg de vit. de vit. B12, 32,0 mg de niacina, 12,0 mg de ácido pantatênico, 0,8 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio.

²Valorização Hostazym (50g/ton): 328.000 Kcal/kg EMA, 2.250% PB, 1.000% de Ca, 1.150% de Pd.

* Coxistac PX 12% e MNGrow.

3.2 EXPERIMENTO II- Utilização de duas fitases comerciais, com níveis reduzidos de fósforo na alimentação de frangos de corte, avaliando seu desempenho e qualidade óssea.

3.2.1 Condições Experimentais

3.2.2 Local e Período

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental “Prof. Hélio Barbosa”, localizada no município de Igarapé – Minas Gerais, no período de 16 de agosto a 20 de setembro de 2013.

As aves foram alojadas em galpão experimental, com boxes forrados com cepilho de madeira, sendo que em cada boxe foram alojadas 30 aves (14 aves/m²). Os pintos foram aquecidos até os 14 dias por meio de lâmpada infravermelha e durante os primeiros sete dias cada boxe foi equipado com bebedouro tipo copo de pressão e posteriormente, bebedouro pendular automático, com água a vontade. Do alojamento aos 14 dias de idade foi utilizado comedouro tubular infantil e posteriormente, um comedouro tubular por boxe, com ração a vontade. Os pintos foram vacinados no incubatório contra a doença de Marek.

Durante os primeiros 14 dias de idade, as aves receberam 24 horas de luz artificial (em função da Lâmpada de 250 W do aquecimento), passando a receber iluminação natural nas fases posteriores.

3.2.3 Aves

Foram utilizados 720 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb, criados durante o período de um a 35 dias de idade.

3.2.4 Tratamentos

Os tratamentos foram definidos pela valorização da enzima, sua inclusão ou não e os teores de fósforo. As duas enzimas foram de origem bacteriana, utilizadas comercialmente (Finase[®] (A) e Hostazym[®] (B)) com inclusão de 500 FTU/kg de ração, sendo a valorização do fósforo utilizada de 0,10% Pd.

Assim os tratamentos foram os seguintes:

-Tratamento E: 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento), sem fitase e sem valorização (controle)

-Tratamento F: 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento) + Fitase A com valorização

-Tratamento G: 0,35% Pd (inicial)/0,30% Pd (crescimento) + Fitase B com valorização

-Tratamento H: 0,25% Pd (inicial)/0,20% Pd (crescimento) sem fitase com valorização (controle negativo)

3.2.5 Rações

Para os cálculos dos níveis nutricionais das dietas foram utilizados os dados dos valores nutricionais dos ingredientes de acordo com Rostagno et al. (2011). As composições das dietas, com seus respectivos valores nutricionais calculados, encontram-se nas tabelas 4 e 5.

As rações foram divididas em duas fases, inicial e de crescimento, sendo que a ração inicial foi fornecida aos animais de um a 21 dias e a de crescimento de 22 a 35 dias, ambas fornecidas à vontade.

TABELA 4. Composição e valores nutricionais calculados das dietas

Ingredientes	Tratamento E		Tratamento F	
	Inicial	Crescimento	Inicial	Crescimento
Milho 7,26% PB	587	626	597	637
Farelo de soja 47% PB	328	286	338	296
Farinha de carne 41,86% PB	35	28	17	10
Óleo vegetal	29	38	23	31
Calcário 37% Ca	8,45	10,05	12,55	14,15
Sal	4,20	4,00	4,40	4,20
DL-Metionina 99%	2,80	2,40	2,70	2,35
L-Lisina 98%	1,65	1,75	1,50	1,60
Premix	2,00	2,00	2,00	2,00
L-Treonina	0,80	0,75	0,65	0,55
Cloreto de colina 70%	0,55	0,45	0,55	0,45
Salinomicina*	-	0,55	-	0,55
Nicarbazina+ Maduramicina*	0,50	-	0,50	-
Halquinhol 60%	0,05	0,05	0,05	0,05
Finase EC 5P 5000	-	-	0,10	0,10
Peso total	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0
Níveis nutricionais				
Energia Met. Aves Kcal/kg	3047	3150	3049	3146
Proteína Bruta %	21,51	19,51	21,51	19,51
Extrato Etéreo %	6,05	6,95	5,31	6,11
Fibra Bruta %	3,04	2,91	3,09	2,97
Matéria Mineral %	5,45	5,13	5,23	4,91
Cálcio %	0,96	0,91	0,96	0,91
Fósforo total %	0,58	0,51	0,58	0,52

Fósforo disponível %	0,35	0,30	0,35	0,30
Sódio %	0,20	0,19	0,20	0,19
Cloro %	0,34	0,33	0,35	0,33
Potássio %	0,81	0,74	0,83	0,76
Colina mg	1,55	1,39	1,55	1,39
Lisina dig. Aves %	1,17	1,06	1,17	1,06
Metinoninadig. Aves %	0,59	0,53	0,58	0,52
MetCisDig. Aves %	0,85	0,77	0,85	0,77

¹Premix (Fase inicial), cada tonelada contém: 9.000 UI de vit. A, 2.500 UI de Vit. D3, 14,0 mg de vit. E, 2,0 mg de vit. k3, 2,5 mg de vit. B1, 6,2 mg de vit. B2, 4,0 mg de vit. B6, 14,0 mcg de vit. de vit. B12, 40,0 mg de niacina, 15,0 mg de ácido pantatênico, 1,0 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio. ¹Premix (Fase crescimento), cada tonelada contém: 7.000 UI de vit. A, 2.000 UI de Vit. D3, 11,0 mg de vit. E, 1,6 mg de vit. k3, 1,6 mg de vit. B1, 4,5 mg de vit. B2, 2,2 mg de vit. B6, 10,0 mcg de vit. de vit. B12, 32,0 mg de niacina, 12,0 mg de ácido pantatênico, 0,8 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio.

²Valorização Finase (100g/ton): 328.000 Kcal/kg EMA, 2.250% PB, 1.000% de Ca, 1.150% de Pd.

* Coxistac PX 12% e MNGrow.

TABELA 5. Composição e valores nutricionais calculados das dietas

Ingredientes	Tratamento G		Tratamento H	
	Inicial	Crescimento	Inicial	Crescimento
Milho 7,26% PB	597	637	597	637
Farelo de soja 47% PB	338	296	338	296
Farinha de carne 41,86% PB	17	10	17	10
Óleo vegetal	23	31	23	31
Calcário 37% Ca	12,60	14,20	12,65	14,25
Sal	4,40	4,20	4,40	4,20
DL-Metionina 99%	2,70	2,35	2,70	2,35
L-Lisina 98%	1,50	1,60	1,50	1,60
Premix	2,00	2,00	2,00	2,00
L-Treonina	0,65	0,55	0,65	0,55
Cloreto de colina 70%	0,55	0,45	0,55	0,45
Salinomicina*	-	0,55	-	0,55
Nicarbazina+ Maduramicina*	0,50	-	0,50	-
Halquinhol 60%	0,05	0,05	0,05	0,05
Hostazyme P 10000 50g/ton	0,05	0,05	-	-
Peso total	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0
Níveis nutricionais				
Energia Met. Aves Kcal/kg	3049	3146	3016	3113
Proteína Bruta %	21,51	19,51	21,28	19,29
Extrato Etéreo %	5,31	6,11	5,31	6,11
Fibra Bruta %	3,09	2,97	3,09	2,97

Matéria Mineral %	5,23	4,91	5,24	4,92
Cálcio %	0,96	0,91	0,86	0,81
Fósforo total %	0,58	0,52	0,47	0,40
Fósforo disponível %	0,35	0,30	0,25	0,20
Sódio %	0,20	0,19	0,20	0,19
Cloro %	0,35	0,33	0,35	0,33
Potássio %	0,83	0,76	0,83	0,76
Colina mg	1,55	1,39	1,55	1,39
Lisina dig. Aves %	1,17	1,06	1,16	1,05
Metinoninadig. Aves %	0,58	0,52	0,58	0,52
MetCisDig. Aves %	0,85	0,77	0,84	0,77

¹Premix (Fase inicial), cada tonelada contém: 9.000 UI de vit. A, 2.500 UI de Vit. D3, 14,0 mg de vit. E, 2,0 mg de vit. k3, 2,5 mg de vit. B1, 6,2 mg de vit. B2, 4,0 mg de vit. B6, 14,0 mcg de vit. de vit. B12, 40,0 mg de niacina, 15,0 mg de ácido pantatênico, 1,0 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio. ¹Premix (Fase crescimento), cada tonelada contém: 7.000 UI de vit. A, 2.000 UI de Vit. D3, 11,0 mg de vit. E, 1,6 mg de vit. k3, 1,6 mg de vit. B1, 4,5 mg de vit. B2, 2,2 mg de vit. B6, 10,0 mcg de vit. de vit. B12, 32,0 mg de niacina, 12,0 mg de ácido pantatênico, 0,8 mg de ácido fólico, 10,0 mg de cobre, 50,0 mg de ferro, 80,0 mg de manganês, 60,0 mg de zinco, 1,2 mg de iodo, 0,2 mg de selênio.

²Valorização Hostazyme (50g/ton): 328.000 Kcal/kg EMA, 2.250% PB, 1.000% de Ca, 1.150% de Pd.

* Coxistac PX 12% e MNGrow.

3.3 VARIÁVEIS ANALISADAS NOS DOIS EXPERIMENTOS

3.3.1 MEDIDAS DE DESEMPENHO

3.3.1.1 Peso corporal/ Ganho de peso

As aves foram pesadas no primeiro dia, aos sete, 21 e 35 dias de idade. O ganho de peso foi calculado descontando-se o peso inicial dos pintos ao alojamento do peso aos sete, 21 e 35 dias.

3.3.1.2 Consumo de Ração

O consumo de ração foi obtido a partir da quantidade de ração oferecida durante cada semana subtraindo-se a sobra ao final da mesma. Foi calculado o consumo médio diário de acordo com as repetições e os tratamentos, e foi considerado o número de aves mortas na semana para correção dos valores finais, de acordo com Sakomura e Rostagno (2007).

3.3.1.3 Conversão Alimentar

Os dados de conversão alimentar foram obtidos dividindo o consumo médio de ração pelo ganho médio de peso das aves.

3.3.1.4 Taxa de Viabilidade

O número de aves mortas foi registrado diariamente, sendo feito o cálculo da porcentagem de mortalidade, e a partir dessa, calculada a viabilidade (100 menos a porcentagem de mortalidade).

3.3.2 MEDIDAS ÓSSEAS

Aos 21 e 35 dias de experimento foram abatidas doze aves de cada tratamento, duas por repetição, por deslocamento cervical para obtenção das tíbias esquerda e direita.

Após a retirada da pele e do tecido mole que envolve os ossos, os mesmos foram guardados em refrigerador (-3°C) até o dia da realização dos testes de qualidade.

3.3.2.1 Conteúdo de cinzas e fósforo dos ossos

Para a determinação da porcentagem de cinzas presente nos ossos, foi utilizada a tíbia esquerda de seis aves por tratamento aos 21 e 35 dias de experimento. Foi realizada extração lipídica nos ossos por imersão em éter de petróleo e o teor de cinzas foi obtido por calcinação em mufla a 600 °C, durante seis horas e posterior pesagem da amostra.

A cinza dos ossos do período de 35 dias foi utilizada para fazer a solução padrão e determinar a porcentagem de fósforo de acordo com AOAC (1980). Essas análises foram realizadas no laboratório de nutrição animal do departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

3.3.2.2 Histopatologia

Foram utilizadas as tíbias direitas para a realização da análise de histopatologia. As amostras de tecido ósseo coletadas, foram previamente fixadas em formol tamponado a 10% por 48 horas, depois foram mantidas em ácido fórmico 24% por 15 dias, para descalcificação. Para preparação das lâminas, os tecidos foram desidratados em séries crescentes de etanol,

diafanizados em xilol e incluídos em parafina para obtenção de cortes seriados à espessura de 4 micrômetros, corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) e analisados em microscópio de luz comum.

3.3.2.3 Índice de Seedor

Para a determinação do índice de Seedor (indicativo da densidade óssea, onde quanto maior seu valor, mais denso é o osso), foram utilizadas seis tíbias esquerdas por tratamento, sendo esses ossos posteriormente utilizados para análise de densitometria e resistência. As tíbias foram medidas em seu maior comprimento, com o auxílio de um paquímetro e tiveram seu peso obtido com o auxílio de uma balança semi-analítica digital. O valor obtido ao se dividir o peso do osso por seu comprimento é denominado índice de Seedor (Seedor, 1995).

Índice de Seedor = Peso (g) / Comprimento (mm)

3.3.2.4 Densitometria óssea

As mesmas tíbias utilizadas para determinação do índice de Seedor foram submetidas à análise de densidade mineral óssea (em g/cm³) medida em todo o osso dos frangos, utilizando o densitômetro modelo DPX-ALPHA (figura 3), com software especial para pequenos animais (figura 4), pertencente ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – FMVA/UNESP.



FIGURA 3. Densitômetro modelo DPX-ALPHA.

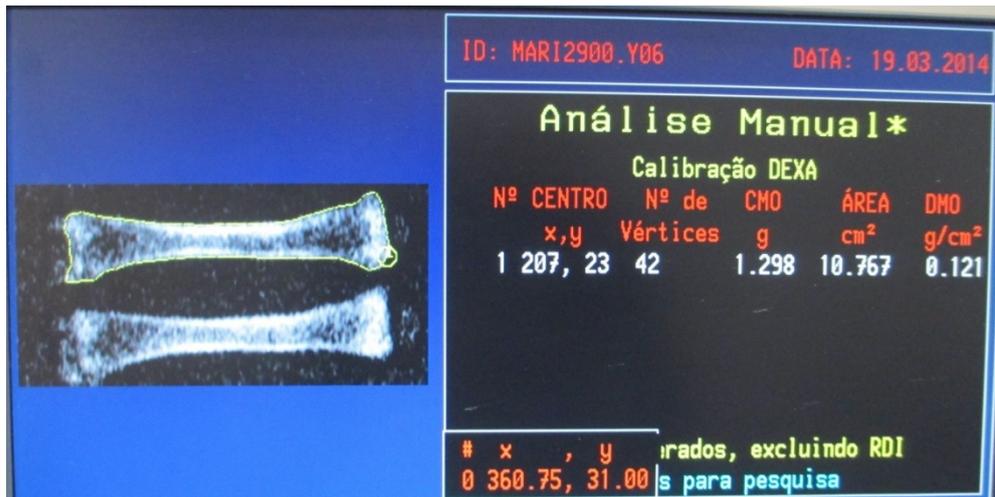


FIGURA 4. Software especial para pequenos animais, pertencente ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – FMVA/UNESP

3.3.2.5 Parâmetros biomecânicos

Os mesmos ossos utilizados para densitometria foram submetidos a ensaio mecânico, utilizando uma máquina universal de ensaio EMIC[®], modelo DL 3000, no Departamento de Materiais Dentários da FOA /UNESP-Araçatuba, com carga aplicada à velocidade de 5

mm/min. e célula de carga de 2000 N em ensaio de flexão de três pontos, sendo a região central do osso (diáfise) selecionada para aplicação da carga (figura 5).

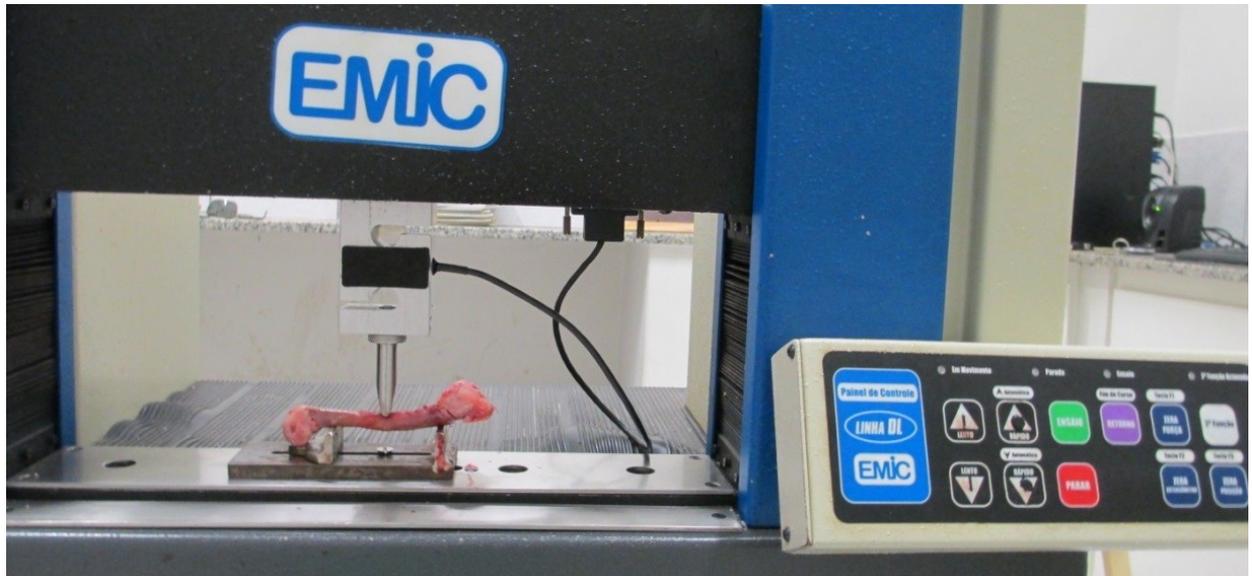


FIGURA 5. Máquina universal de ensaio EMIC®, modelo DL 3000, em ensaio mecânico de flexão de três pontos da tíbia esquerda

Os resultados dos ensaios foram registrados pelo software Instron Series IX na forma gráfica, o qual gera a curva: carga x deformação (Figura 6). Da análise das curvas obtiveram-se as seguintes propriedades biomecânicas: força máxima, resiliência e rigidez óssea.

3.3.2.5.1 Força máxima (N)

Corresponde a maior carga suportada pela amostra (tíbia) durante o ensaio (C_2 , na figura 6).

3.3.2.5.2 Resiliência (mJ)

Corresponde a área sob a curva carga x deformação até o limite elástico. Representa a energia absorvida pelo tecido ósseo durante a fase elástica, ou seja, o impacto que a amostra suporta sem deformar-se permanentemente.

3.3.2.5.3 Rigidez (Mpa)

Determinada por meio da reta (T) ajustada aos pontos da curva carga x deformação na fase elástica. Representa a capacidade de resistir a deformação.

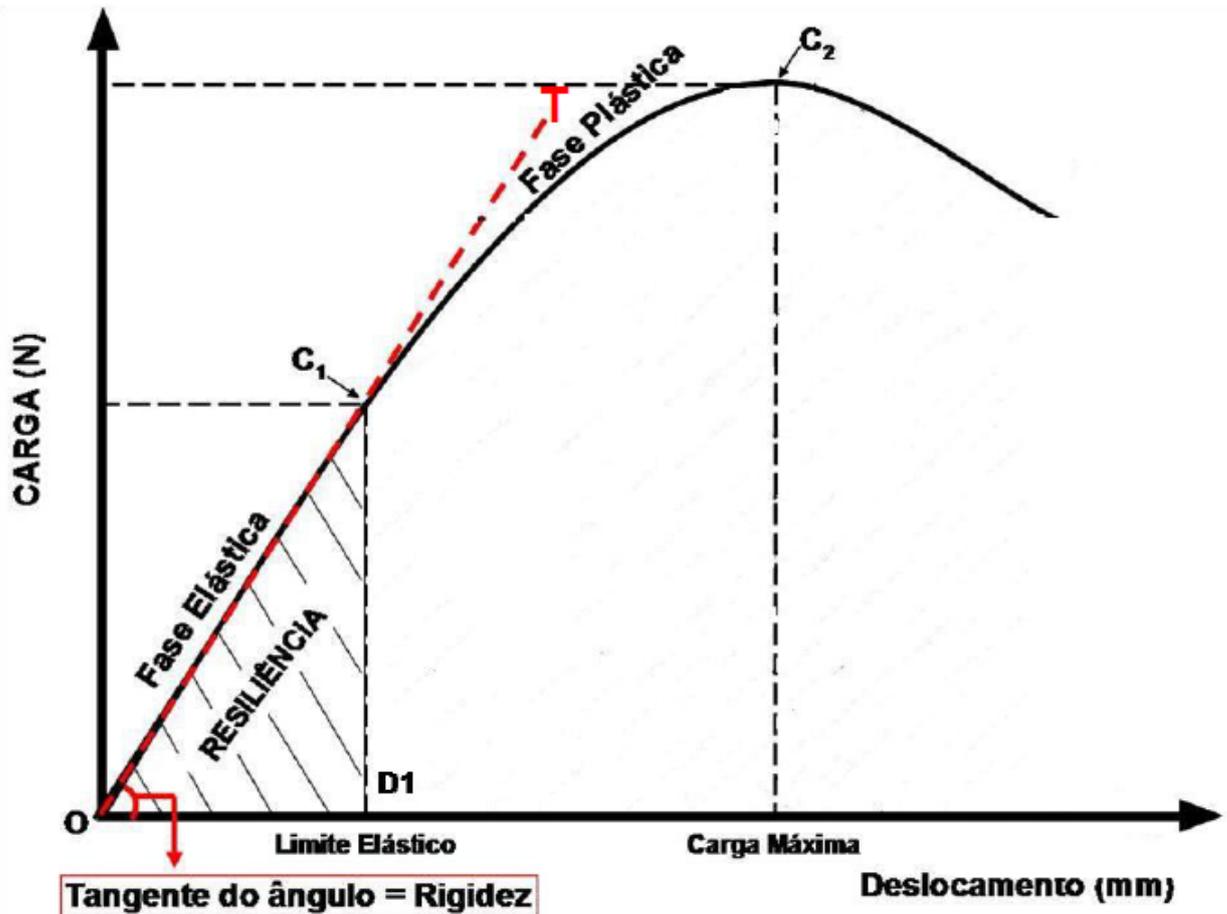


FIGURA 6. Gráfico Carga x Deformação utilizado para determinação das propriedades biomecânicas. C₁: Carga no limite elástico; D₁: Deformação no limite elástico; C₂: Carga máxima; O/C₁/D₁: a área desta região corresponde a resiliência (energia absorvida na fase elástica); T: tangente da região O/C₁ da curva, sendo o ângulo desta correspondente a rigidez (Bogni, 2013)

3.4 Delineamento experimental dos experimentos I e II

Para avaliação do desempenho o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso constituído de quatro tratamentos com seis repetições de 30 aves cada. Para avaliação dos parâmetros ósseos o delineamento foi inteiramente ao acaso constituído por seis repetições por tratamento, totalizando 24 aves, sendo que cada ave foi considerada como uma repetição.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise estatística pelo programa SAEG 9.1, utilizando os testes de Tukey para $CV < 15\%$ e SNK para $CV > 15\%$. O nível de significância utilizado foi menor que 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO I

4.1.1 Desempenho

Os resultados referentes ao peso inicial (PI), consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) das aves de um a sete dias de vida de acordo com os tratamentos estão apresentados na tabela 6.

TABELA 6. Desempenho das aves de um a sete dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	PI (g)	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
A	42,93 a	186,40 a	163,53 a	1,14 a
B	43,56 a	189,57 a	167,86 a	1,13 a
C	42,76 a	186,11 a	162,31 ab	1,15 a
D	43,25 a	186,16 a	156,80 b	1,19 a
CV (%)	1,82	4,1	2,4	3,1

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Todas as aves apresentaram peso inicial semelhante, isso é importante para que essa medida não influencie nos resultados das demais variáveis analisadas.

Não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo de ração das aves ($p > 0,05$) aos sete dias de idade, ou seja, as aves consumiram quantidades semelhantes de ração independente da inclusão ou não das fitases utilizadas. Isso significa que as variações na concentração de fósforo disponível na dieta, não alteraram o consumo de ração. Esse resultado difere do encontrado por Fukayama et al. (2008), que observaram menor consumo de ração no tratamento controle negativo, sendo que o controle positivo e os tratamentos com utilização de fitase não diferiram entre si. Essa diferença pode ser explicada devido ao controle negativo ter tido uma maior redução na concentração de fósforo (0,27% Pd), quando comparado ao presente experimento.

Houve efeito dos tratamentos ($P < 0,05$) sobre o ganho de peso, as aves dos tratamentos A e B apresentaram maior ganho de peso que as aves do tratamento D, não diferindo do

tratamento C. De acordo com esse resultado é possível observar que houve influência da inclusão de enzima para essa variável, sendo que o controle negativo, com menor nível de fósforo e sem inclusão de enzimas apresentou resultado inferior aos tratamentos com inclusão da fitase A e o controle positivo, indicando que a redução na suplementação de fósforo reduziu o ganho de peso das aves, quando não se utilizou fitase.

Esses resultados estão de acordo com Camden et al. (2001) que, ao avaliarem a influência de vários níveis de fitase microbiana (0, 250, 500 e 1000 FTU/kg de ração) no desempenho de frangos de corte na fase inicial, recebendo dietas à base de milho e farelo de soja com níveis de Pd e Ca recomendados pelo NRC (1994) e níveis reduzidos de Ca (8,0g/kg de dieta) e Pd (3,0g/kg de dieta), observaram que a redução do nível de Pd da dieta afetou negativamente o desempenho das aves e a adição de 500 FTU de fitase/kg melhorou o ganho de peso.

Para conversão alimentar, não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$). A utilização das enzimas e a redução do fósforo não influenciaram esta variável. Silva et al. (2006) também não observaram diferença para conversão alimentar quando utilizaram níveis de 0,25 e 0,34% Pd com suplementação de fitase e 0,45% Pd sem utilização de fitase.

Na tabela 7 encontram-se os resultados referentes ao consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) das aves de um a 21 dias de vida de acordo com os tratamentos.

TABELA 7. Desempenho das aves de um a 21 dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
A	1346,91 a	989,24 a	1,36 a
B	1344,57 a	982,00 a	1,37 ab
C	1330,55 a	966,75 ab	1,38 ab
D	1305,04 a	932,28 b	1,40 b
CV (%)	2,5	2,3	1,3

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$)

Não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$) sobre consumo de ração de um a 21 dias de idade, assim como foi observado de um a sete dias, significando que as aves tiveram consumo semelhante independente do tratamento, para o período avaliado. Dessa forma, a redução do nível de fósforo não influenciou no consumo das aves, provavelmente por ter sido uma redução pequena (0,10% Pd).

Foi observado efeito dos tratamentos ($p<0,05$) para ganho de peso. As aves dos tratamentos A e B apresentaram maior ganho de peso que as aves do tratamento D, não

diferindo do tratamento C. Esses resultados indicam que a redução dos níveis de fósforo do controle negativo pioraram o desempenho das aves e que a enzima A apresentou uma melhor eficiência em relação à enzima B para o período avaliado, uma vez que o tratamento com inclusão da enzima A apresentou melhor resultado de ganho de peso quando comparado ao controle negativo (D), e o tratamento com a enzima B apesar de não diferir do tratamento controle e com a inclusão da fitase A, foi semelhante ao controle negativo. Assim como para o período de uma a sete dias, foi possível observar uma redução de ganho de peso, devido à redução da suplementação de fósforo sem a adição da enzima fitase.

No trabalho realizado por Silva et al. (2006), as aves alimentadas com ração com 0,25% de Pd + fitase apresentaram menor consumo e, conseqüentemente, menor ganho de peso que aquelas que consumiram ração com 0,34% de Pd + fitase e 0,45% de Pd sem fitase, o que segundo eles, pode ser atribuído ao fato de que, possivelmente, a liberação de fósforo pela enzima fitase nas rações com 0,25% de Pd não foi suficiente para atender às exigências de fósforo para esta fase de um a 21 dias.

Para conversão alimentar também foi observado efeito dos tratamentos ($p < 0,05$). Os frangos de corte do tratamento A apresentaram melhor conversão alimentar em relação aos do tratamento D, não diferindo dos tratamentos B e C. Isso sugere que a redução na suplementação com fósforo além de reduzir o ganho de peso, piorou a conversão alimentar e que os frangos dos tratamentos com a utilização das enzimas fitase apesar de apresentarem valores de conversão alimentar semelhantes ao tratamento controle negativo, também foram semelhantes ao tratamento controle, mostrando assim, que as enzimas apresentaram efeito para essa variável. Esses resultados estão de acordo com Tejedor et al. (2001), que também observaram melhores resultados de conversão alimentar para o tratamento controle, sem a utilização de fitase e com níveis de 0,45% de Pd.

A seguir encontram-se os resultados referentes ao consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (Viab.) das aves durante o período total de criação, de um a 35 dias de vida, de acordo com os tratamentos (Tabela 8).

TABELA 8. Desempenho das aves de um a 35 dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)	Viab. (%)
A	3782,23 a	2557,86 a	1,48 a	95,8 a
B	3756,01 a	2494,00 ab	1,51 ab	94,2 a
C	3730,26 a	2470,27 b	1,51 ab	94,6 a
D	3730,64 a	2471,73 b	1,51 b	94,0 a
CV (%)	2,0	1,5	0,9	2,78

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

De acordo com os resultados apresentados na tabela 8, não houve efeito dos tratamentos ($p > 0,05$) para consumo de ração de um a 35 dias de idade. Assim como para os outros períodos avaliados, as aves consumiram quantidades semelhantes de ração independente dos tratamentos. Segundo Fukayama et al. (2008), a deficiência em fósforo provoca redução no consumo de ração, no entanto como a redução de fósforo foi muito baixa, não influenciou essa variável.

Gomes et al. (1994) verificaram menor consumo de ração para o nível de 0,17% de fósforo disponível na dieta e não observaram diferenças significativas entre níveis superiores (0,32; 0,47 e 0,62% Pd). Dessa forma, pode-se concluir que o menor nível de fósforo disponível avaliado no presente trabalho (0,35%) não representou uma deficiência de fósforo capaz de reduzir o consumo de ração.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para ganho de peso, sendo que o tratamento A apresentou maiores valores quando comparado ao tratamento C e D, não diferindo do tratamento B. Assim como foi observado no período de um a 21 dias, é possível observar uma superioridade da enzima A sobre a enzima B, uma vez que o tratamento com a enzima A foi semelhante ao controle, o que não foi observado para a outra enzima, além disso, é possível observar que a redução de fósforo sem utilização de fitase, reduziu o ganho de peso das aves em consequência da deficiência desse mineral. Laurentiz et al. (2009) também observaram uma redução no ganho de peso para o período de 22 a 35 dias, quando utilizaram níveis reduzidos de fósforo (0,25 e 0,17% Pd) sem a utilização de fitase, o que comprova que a deficiência de fósforo compromete o ganho de peso das aves.

Para conversão alimentar, as aves do tratamento A apresentaram melhor conversão quando comparadas as do tratamento D, não diferindo dos tratamentos B e C. Apesar de não ter ocorrido diferença entre os tratamentos para consumo de ração, houve diferença para ganho de peso, o que resultou na diferença encontrada para conversão alimentar. Como o tratamento D é o controle negativo, com redução de fósforo e sem adição de fitase, essa piora na conversão alimentar provavelmente ocorreu em decorrência da deficiência de fósforo para as aves.

Esses resultados diferem dos encontrados por Brunelli et al. (2012), que não observaram diferença estatística entre os tratamentos, independente da inclusão ou não de fitase para todos os períodos de criação, sobre o desempenho das aves. Isso pode ser explicado pela não valorização da matriz nutricional da enzima por esses autores, ou seja, a

enzima foi utilizada sem a redução do fósforo e com isso provavelmente a exigência de fósforo foi atendida independente da utilização da enzima.

Em relação à viabilidade, não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$), ou seja, a mortalidade das aves não foi influenciada pelo tratamento adotado. Segundo Qian et al. (1996) a adição dessa enzima permite que as aves absorvam o fósforo de maneira mais eficiente, reduzindo a necessidade de suplementação de fósforo inorgânico, melhorando o ganho de peso, a conversão alimentar, o consumo de ração, a mineralização óssea, e reduzindo a mortalidade. Como não foi observada diferença entre os tratamentos, provavelmente a redução do fósforo para 0,35% Pd (controle negativo) não foi tão baixa a ponto de reduzir a viabilidade do lote.

4.1.2 Qualidade óssea

Os resultados para conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (Área), densidade mineral óssea (DMO), índice de Seedor (IS), força máxima suportada pelo osso antes da quebra (FM), resiliência óssea (RE), rigidez óssea (RO) e cinzas óssea (CO) estão apresentados na tabela 9 para o período de 21 dias e na tabela 10 para o período de 35 dias, sendo que para o período de 35 dias também está apresentada a porcentagem de fósforo presente na tíbia (P).

TABELA 9. Análises ósseas aos 21 dias de idade das aves

Trat.	CMO* (g)	Área (cm ³)	DMO* (g/cm ³)	IS*	FM (N)	RE* (mJ)	RO (Mpa)	CO ¹ (%)
A	0,31 a	5,43 a	0,55 a	0,89 a	179,64 a	404,20 a	108,94 a	43,34 a
B	0,25 a	5,40 a	0,43 a	0,81 a	154,77 b	408,00 a	74,90 b	41,11 ab
C	0,28 a	5,62 a	0,47 a	0,95 a	146,30 b	276,60 b	78,55 b	42,50 a
D	0,30 a	5,50 a	0,56 a	0,89 a	148,95 b	253,60 b	78,72 b	39,99 b
CV (%)	18,1	6,8	19,8	16,13	8,7	16,7	13,6	3,26

Conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (Área), densidade mineral óssea (DMO), índice de Seedor (IS), força máxima suportada pelo osso antes da quebra (FM), resiliência óssea (RE), rigidez óssea (RO) e cinzas óssea (CO).

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey e SNK* ($p\leq 0,05$)

¹ Cinzas óssea em base de matéria seca desengordurada

Não houve efeito dos tratamentos ($P>0,05$) para CMO, Área, DMO e IS aos 21 dias de idade das aves. Isso significa que durante esse período as aves apresentaram conteúdo, área e

densidade dos ossos semelhantes entre os tratamentos, não sendo observada piora na qualidade óssea em função do uso das enzimas e redução dos níveis de fósforo.

Segundo Marques (2008), a densitometria óssea (DXA) é um método preciso para avaliação do conteúdo mineral ósseo, além disso, é o método quantitativo mais utilizado para avaliação de alterações na densidade óssea (Riso et al., 2010).

Em relação ao índice de Seedor (peso/comprimento), ele é utilizado como um método indireto de avaliação da densitometria óssea e como foi observado, também não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, estando de acordo com os resultados obtidos a partir da utilização do densitômetro.

Para os parâmetros de FM, RE, RO e CO foi observado efeito dos tratamentos ($p < 0,05$). Para força máxima o tratamento A apresentou os melhores resultados, suportando uma maior quantidade de força sobre os ossos antes da quebra. Oliveira et al. (2008) observaram piora na resistência óssea das aves alimentadas com dietas com redução de 70% das exigências de Pd, independente da suplementação com fitase.

Em relação à resiliência óssea, os ossos das aves que receberam ração controle (A) e com a fitase A (B) apresentaram melhores resultados ($P < 0,05$) quando comparados com os demais tratamentos (C e D), o que significa que os ossos provenientes das aves destes tratamentos absorveram maior quantidade de energia durante a fase elástica, ou seja, suportaram maior impacto sem deformar-se permanentemente. Essa superioridade dos tratamentos A e B, também foi observada para o parâmetro de desempenho ganho de peso, onde o tratamento controle (A) e com utilização da enzima A apresentaram os melhores resultados.

Segundo Hall (1991), as propriedades mais importantes dos ossos são sua força e sua dureza, no entanto, o tecido ósseo é também elástico, ou seja, quando submetido à ação de uma força, sofre uma deformação e quando é cessada essa força ele volta ao seu estado inicial, contrário aos corpos plásticos que são aqueles que, submetidos à ação de uma força se deformam, e cessada a força não voltam mais ao seu estado inicial. Por essa propriedade elástica, os ossos suportam até certo ponto, forças de compressão e de tração sem sofrerem fratura.

Os ossos das aves do tratamento A apresentaram maior rigidez em relação aos demais tratamentos, ou seja, maior capacidade em resistir à deformação, sugerindo assim, que os outros tratamentos com redução de fósforo e utilização de fitase, apresentaram ossos mais frágeis, com maior capacidade de se deformarem permanentemente.

Houve efeito dos tratamentos também sobre a porcentagem de cinzas óssea. As aves do tratamento A e C apresentaram maior % de cinzas do que as aves do tratamento D, não diferindo do tratamento B. Ao contrário do encontrado para desempenho, para acúmulo de minerais nos ossos no período de 21 dias, a enzima B se mostrou mais eficiente que a enzima A, pois não se igualou ao controle negativo

Gomide et al. (2012) não observaram diferença na retenção de cinzas quando utilizaram dietas com redução de fósforo de 0,41% Pd para 0,26%Pd com utilização de fitase, o que sugere que a fitase conseguiu suprir as exigências de fósforo das aves.

TABELA 10. Análises ósseas aos 35 dias de idade das aves

Trat.	CMO* (g)	Área (cm ³)	DMO (g/cm ³)	IS	FM* (N)	RE (mJ)	RO* (Mpa)	CO ¹ (%)	P (%)
A	2,41 a	11,56 a	0,21 a	2,39 a	377,68 a	892,80 a	105,03 b	43,98 a	7,12 a
B	2,56 a	11,66 a	0,22 a	2,51 a	380,80 a	800,60 ab	165,32 a	44,97 a	7,44 a
C	2,67 a	12,14 a	0,22 a	2,17 a	365,93 a	868,17 ab	109,31 b	45,15 a	8,01 a
D	2,28 a	11,82 a	0,19 a	2,42 a	335,34 a	701,40 b	111,39 b	42,87 a	7,19 a
CV (%)	15,8	7,3	12,8	10,45	24,2	12,1	19,3	6,25	13,51

Conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (Área), densidade mineral óssea (DMO), índice de Seedor (IS), força máxima suportada pelo osso antes da quebra (FM), resiliência óssea (RE), rigidez óssea (RO), cinzas óssea (CO) e porcentagem de fósforo na tibia (P).

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey e SNK* ($p \leq 0,05$)

¹Cinzas óssea em base de matéria seca desidratada

Na tabela 10 é possível observar que não houve efeito dos tratamentos ($p > 0,05$) para CMO, Área, DMO, IS e FM, ou seja, todos os tratamentos apresentaram conteúdo mineral, área do osso, densidade mineral óssea, índice de Seedor e força máxima suportada pelo osso antes da quebra, semelhantes, para o período de 35 dias. Como a redução do fósforo foi pequena, provavelmente não influenciou nesses parâmetros ósseos.

Oliveira et al. (2009) avaliaram vários níveis de Pd de acordo com a fase de criação (0,45; 0,37; 0,29 e 0,21% na fase inicial; 0,41; 0,33; 0,25 e 0,17% na de crescimento e 0,37; 0,29; 0,21 e 0,13% na final) com três níveis de fitase (0, 500 e 1000 UFT/kg de ração) sobre os parâmetros ósseos e observaram piora da qualidade óssea à medida que se reduziu o Pd e uma melhora com a inclusão de fitase, concluindo que pode ser adotada dietas nas fases inicial, crescimento e final com 0,37, 0,33 e 0,29% Pd, respectivamente, suplementadas com 1000 UFT/kg de ração, de um a 42 dias, sem comprometer a qualidade óssea das aves.

As aves do tratamento A apresentaram maior resiliência óssea ($P < 0,05$) quando comparado ao tratamento D, não diferindo dos demais tratamentos. Isso significa que os ossos

do tratamento A absorveram maior energia durante a fase elástica, suportando maior impacto sem deformar-se permanentemente, em relação ao tratamento D. O que mostra que a redução do nível de fósforo sem adição de fitase reduziu os valores de resiliência óssea encontrados, devido a deficiência desse mineral no tratamento controle negativo (D).

Para o parâmetro de rigidez óssea, as aves do tratamento B, apresentaram maior capacidade de resistir à deformação do osso, quando comparadas as aves dos outros tratamentos.

Já em relação à porcentagem de cinzas e fósforo nos ossos, não foi observado diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$). Como o consumo de ração foi semelhante entre os tratamentos para esse período de criação, provavelmente a deposição desse mineral na tíbia também foi semelhante. Esses resultados diferem dos encontrados por Lelis et al (2010), em que a suplementação com fitase (250 FTU/kg e 500 FTU/kg) aumentou a retenção de fósforo no tíbia, quando se utilizou a matriz nutricional da enzima.

A qualidade óssea dos frangos de corte é de fundamental importância para a produção avícola e segundo Gomes et al. (2004), as variáveis relacionadas ao osso são mais sensíveis que as variáveis de desempenho. Portanto, o nível de fósforo disponível na dieta deve ser suficiente para garantir um ótimo desempenho e boa formação e resistência óssea, visto que, durante os processos de apanha e abate das aves, existe grande prejuízo econômico, em função do descarte de carcaças, causado pela quebra de ossos.

4.2 EXPERIMENTO II

4.2.1 Desempenho

Os resultados de peso inicial (PI), consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de um a sete dias de acordo com os tratamentos estão apresentados na tabela 11.

TABELA 11. Desempenho das aves de um a sete dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	PI (g)	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
E	42,77 a	177,33 a	154,97 a	1,14 a
F	42,81 a	181,00 a	155,11 a	1,17 a
G	42,90 a	166,92 b	145,79 b	1,14 a
H	42,72 a	158,27 b	134,06 c	1,18 a
CV (%)	1,93	3,2	2,5	3,5

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$)

Todos os tratamentos apresentaram peso inicial das aves semelhante, o que significa que essa variável não influenciou nos resultados de desempenho encontrados para todas as fases de criação.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 9, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para consumo de ração e ganho de peso, durante o período de um a sete dias.

Para consumo de ração, as aves dos tratamentos E e F apresentaram maior consumo que aquelas dos tratamentos G e H, ou seja, as aves do tratamento com inclusão da enzima B tiveram desempenho semelhante ao tratamento controle negativo e inferior aos tratamentos controle e com inclusão da enzima A. Segundo Parmer et al. (1987), a deficiência de fósforo pode prejudicar o desempenho das aves, principalmente pela diminuição no consumo de ração, mas também por reduzir a síntese e liberação de hormônio de crescimento e de hormônios da tireoide, principalmente T3.

Em relação ao ganho de peso, as aves dos tratamentos E e F, apresentaram melhores resultados em relação aquelas dos tratamentos G e H. No entanto, apesar das aves do tratamento G apresentarem ganho de peso inferior ao E e F, estas aves foram superiores aquelas do tratamento H. Isso sugere, que para essa variável, apesar da enzima B apresentar resultados inferiores ao tratamento controle e ao tratamento com inclusão da fitase A, essa enzima apresenta algum efeito, pois o tratamento com sua inclusão, apresentou resultado superior ao tratamento controle negativo.

Segundo Tejedor et al. (2001), esse aumento no ganho de peso em relação ao controle negativo ocasionado pela adição da enzima fitase pode ser explicado provavelmente pelo incremento na digestibilidade do cálcio e do fósforo e pelo aumento do consumo de ração.

Apesar de ter ocorrido diferença para consumo de ração e ganho de peso, não foi observado diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para conversão alimentar, isso pode ser explicado pois, os tratamentos que apresentam baixo ganho de peso e baixo consumo de ração podem apresentar valores de conversão semelhante aos tratamentos com alto ganho de peso e consumo de ração, uma vez que a conversão é o resultado da divisão dessas duas variáveis. Esse resultado difere do encontrado por Laurentiz et al. (2009), que observaram redução na conversão alimentar a medida que foi reduzido o nível de fósforo de 0,45% para 0,37, 0,29 e 0,21% Pd, no período de um a sete dias.

Na tabela 12 estão apresentados os resultados de consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de acordo com os tratamentos para o período de um a 21 dias de vida das aves.

TABELA 12. Desempenho das aves de um a 21 dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
E	1293,33 a	948,97 a	1,36 a
F	1294,14 a	910,11 a	1,42 b
G	1191,38 b	857,43 b	1,39 ab
H	1051,96 c	745,16 c	1,41 b
CV (%)	2,7	2,8	1,5

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

De acordo com os resultados foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todos os parâmetros avaliados no período de um a 21 dias.

As aves dos tratamentos E e F apresentaram maior consumo de ração quando comparadas aquelas dos tratamentos G e H, sendo que as aves do tratamento G consumiram mais que as aves do tratamento H.

Para ganho de peso, assim como para consumo de ração, as aves dos tratamentos E e F apresentaram melhores resultados quando comparados aquelas dos tratamentos G e H, sendo que as aves do tratamento G apresentaram valores superiores aquelas do tratamento H.

Esses resultados indicam que quando a ração é suplementada com Finase[®], com níveis reduzidos de fósforo, as aves apresentam consumo de ração e ganho de peso semelhantes ao tratamento controle, já a utilização da enzima B não consegue suprir as exigências de fósforo, fazendo com que as aves apresentem desempenho inferior ao tratamento controle. No entanto, a utilização da enzima B apresenta efeito, ou seja, aumenta a disponibilidade do fósforo, pois o consumo de ração e ganho de peso das aves desse tratamento foi superior ao tratamento controle negativo, em que foi valorizado o fósforo sem a adição de nenhuma enzima.

Esses resultados diferem dos encontrados por Alvarenga et al. (2011), que observaram piora do desempenho com a utilização de fitase, para o período de um a 21 dias. Apesar deles terem utilizado a mesma quantidade de fitase e a mesma redução de fósforo que no presente experimento, essa diferença pode ser explicada pelo fato desses autores terem reduzido juntamente com o fósforo, os níveis de proteína bruta, que provavelmente contribuiu para redução do desempenho das aves.

Para conversão alimentar as aves do tratamento E apresentaram melhor conversão em relação às aves dos tratamentos F e H, não diferindo do tratamento G. Como a conversão é

calculada em relação ao ganho de peso e consumo de ração, aves com baixo ganho de peso e consumo de ração podem apresentar boa conversão alimentar, por isso esse parâmetro nunca deve ser analisado separadamente.

Santos et al. (2011) avaliaram o desempenho de aves alimentadas com diferentes níveis de fósforo (0,39; 0,34; 0,29% Pd) e cálcio (0,88; 0,78; 0,68; 0,58% Ca) para o período de um a 21 dias, suplementadas com 500 FTU/kg de ração de fitase, e não observaram efeito dos tratamentos para conversão alimentar e ganho de peso, sugerindo que a fitase teve uma boa característica catalítica.

Os resultados de consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (Viab.) de acordo com os tratamentos, para o período de um a 35 dias, estão apresentados na tabela 13.

TABELA 13. Desempenho das aves de um a 35 dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)	Viab. (%)
E	3608,00 a	2429,80 a	1,486 a	91,43 a
F	3593,19 a	2399,29 a	1,498 a	89,29 ab
G	3347,34 b	2239,10 b	1,494 a	83,57 bc
H	2889,02 c	1915,30 c	1,510 a	76,79 c
CV (%)	1,9	2,2	2,1	4,8

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Foi observado efeito dos tratamentos ($p < 0,05$) para consumo de ração e ganho de peso. As aves dos tratamentos E e F apresentaram os maiores valores de consumo de ração quando comparadas as aves dos tratamentos G e H. Já em relação aos dois últimos tratamentos, o tratamento G apresentou melhor resultado que o tratamento H.

Para ganho de peso, assim como para consumo de ração, as aves dos tratamentos E e F, foram superiores às dos tratamentos G e H, sendo que o tratamento G apresentou melhor resultado que o H.

Assim como para o período de um a 21 dias para esses parâmetros, a utilização da enzima A apresentou resultados semelhantes ao tratamento controle, demonstrando boa eficiência dessa enzima. Já as aves do tratamento com utilização da enzima B não conseguiram apresentar desempenho semelhante aos das aves do tratamento controle, no entanto, foi melhor do que o tratamento controle negativo, o que sugere que apesar dela não apresentar uma eficiência semelhante a enzima A apresenta efeito, sendo capaz de proporcionar desempenho superior ao tratamento controle negativo que não teve adição de nenhuma enzima.

Esses resultados estão de acordo com Pizzolante (2000), que utilizou dois níveis de fósforo total (0,35% e 0,45%) e três níveis de fitase (500, 750 e 1000 FTU/kg), e observou que os níveis de fitase não afetaram o desempenho das aves quando o nível de fósforo utilizado foi de 0,45%. Entretanto, houve efeito significativo dos níveis de fitase na dieta com 0,35% de fósforo disponível, mostrando o efeito da fitase em dietas com baixo fósforo disponível.

Segundo Qian et al. (1996), a eficiência da fitase é aumentada quando esta participa de dietas que contém baixos níveis de fósforo disponível.

Santos et al. (2011) observaram que os níveis de cálcio e fósforo disponível podem ser reduzidos para 0,52 e 0,26% na fase de crescimento e 0,56 e 0,28% na fase final desde que essa redução seja combinada com a suplementação de fitase no nível de 500 ftu/kg de ração. Esses resultados estão de acordo com o presente estudo, em que a redução de fósforo disponível para 0,25% com adição de 500 ftu/kg de Finase[®], apresentou desempenho semelhante ao tratamento controle, mostrando que a enzima apresenta uma boa eficiência.

De acordo com a tabela 11 não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$) para conversão alimentar, sendo que todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes. Provavelmente isso aconteceu devido aos tratamentos com baixo consumo e baixo ganho de peso, apresentarem conversão semelhante aos tratamentos com alto consumo e ganho de peso, uma vez que essa variável é dada pela divisão do consumo de ração pelo ganho de peso.

Já para o parâmetro de viabilidade, houve diferença significativa ($p<0,05$), sendo que as aves do tratamento E apresentaram maior viabilidade quando comparadas com as aves dos tratamentos G e H, não diferindo das do tratamento F. Assim, o tratamento controle apresentou menor mortalidade, não diferindo do tratamento com utilização da fitase A. Já o tratamento controle negativo apresentou maior mortalidade não diferindo do tratamento com utilização da fitase B, isso pode ser explicado devido à deficiência de fósforo que causa um aumento na mortalidade das aves e conseqüentemente uma redução da viabilidade do lote.

Milica et al. (2012) observaram que ao reduzir o fósforo da dieta com e sem utilização de fitase, passando de 0,43% Pd para até 0,10% Pd no período final de criação, ocorreu aumento da mortalidade de acordo com a redução de fósforo, além disso, eles observaram maior eficácia da utilização de fitase em dietas com níveis reduzidos de fósforo.

Segundo Pinheiro (2009), o fósforo além de ser componente essencial da estrutura óssea, é também essencial para diversas funções metabólicas das aves, por isso sua deficiência além de causar problemas ósseos, pode causar piora no desempenho e redução na viabilidade.

4.2.2 Qualidade óssea

Os resultados para conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (Área), densidade mineral óssea (DMO), índice de Seedor (IS), força máxima suportada pelo osso antes da quebra (FM), resiliência óssea (RE), rigidez óssea (RO) e cinzas óssea (CO) estão apresentados na tabela 14 aos 21 dias de idade e na tabela 15 aos 35 dias de idade, de acordo com os tratamentos, sendo que para o período de 35 dias também está apresentada a porcentagem de fósforo presente na tíbia (P).

TABELA 14. Análises ósseas aos 21 dias de vida das aves

Trat.	CMO ^{1*} (g)	Área (cm ³)	DMO ^{1*} (g/cm ³)	IS*	FM* (N)	RE* (mJ)	RO* (Mpa)	CO ² (%)
E	0,220 a	5,55 a	0,04 a	0,92 a	141,11 a	258,33 a	79,30 b	38,72 a
F	0,214 a	5,58 a	0,039 a	1,07 a	156,11 a	294,40 a	94,72 a	38,67 a
G	0,691 b	5,87 a	0,118 b	0,95 a	129,75 a	310,00 a	64,97 b	36,60 ab
H	0,171 a	4,74 b	0,035 a	1,04 a	83,01 b	250,00 a	47,82 c	34,32 b
CV (%)	28,1	5,8	16,3	21,4	16,2	25,7	16,1	4,19

Conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (Área), densidade mineral óssea (DMO), índice de Seedor (IS), força máxima suportada pelo osso antes da quebra (FM), resiliência óssea (RE), rigidez óssea (RO) e cinzas óssea (CO).

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey e SNK* ($p \leq 0,05$)

¹Dados avaliados transformados ($\log + 0,05$)

²Cinzas óssea em base de matéria seca desengordurada

De acordo com a tabela 14 houve efeito dos tratamentos ($p < 0,05$) para CMO, Área e DMO.

Em relação ao parâmetro CMO, as aves do tratamento G, com a utilização da enzima Hostazym[®], apresentaram os melhores resultados em relação aos demais tratamentos, tendo assim, o maior conteúdo mineral ósseo para o período de 21 dias. Esses resultados diferem do encontrado para o desempenho, em que as aves do tratamento com a enzima B apresentaram os piores resultados quando compradas ao tratamento controle e com utilização da enzima A. Além disso, esse resultado está muito acima do encontrado para o mesmo período no experimento I, o que pode ter ocorrido devido algum erro na técnica de análise dessa variável.

Para área óssea, os ossos das aves do tratamento H (controle negativo) apresentaram o menor valor, provavelmente por ser o tratamento com menor quantidade de fósforo, não influenciando no entanto, os resultados de densidade óssea.

Assim como observado para CMO, os ossos das aves do tratamento G apresentaram o melhor resultado para DMO, ou seja, obtiveram a maior densidade óssea em relação aos demais tratamentos. Assuena (2007), ao avaliar quatro níveis de suplementação de fitase (250,

500, 750 e 1000 FTU/kg de ração), também observou efeito dos tratamentos para densidade mineral óssea, sendo que o tratamento que apresentou maior densidade foi o tratamento com 500 FTU/kg de ração de fitase.

Não houve diferença significativa para o índice de Seedor, todos os tratamentos apresentaram densidade óssea semelhantes segundo esse método, diferindo assim, da densidade óssea encontrada pelo densitômetro lunar.

Em relação a FM, os ossos das aves do tratamento H obtiveram os piores resultados, o que já era esperado, uma vez que esse tratamento é o controle negativo com baixo nível de fósforo, conseqüentemente apresentou ossos de tamanho (área) menor e mais fracos, necessitando de uma menor força para serem quebrados.

Onyango et al. (2004), ao reduzirem o nível de fósforo (5,1 e 4,0g de fósforo/kg de ração) com inclusão de fitase (1000 FTU/kg de ração) para frangos de corte de 8 a 22 dias de idade, verificaram que a fitase aumentou a resistência óssea, quantidade de minerais no osso, densidade óssea, e porcentagem de cinzas.

Todos os tratamentos apresentaram resultados semelhantes ($p > 0,05$) para resiliência óssea, que é a energia absorvida pelo tecido ósseo durante a fase elástica, ou seja, o impacto que a amostra suportou sem deforma-se permanentemente. Já para rigidez óssea, houve efeito dos tratamentos ($p < 0,05$), sendo que os ossos do tratamento F com utilização da enzima A, apresentaram os melhores resultados, tendo maior capacidade de resistir à deformação, e os ossos do tratamento H (controle negativo) apresentaram menor capacidade de resistir à deformação óssea, o que já era esperado devido a menor concentração de fósforo na dieta dessas aves.

Os ossos dos frangos do tratamento H também apresentaram o pior resultado para cinzas óssea ($p < 0,05$), quando comparado aos ossos dos tratamentos E e F, não diferindo do tratamento G. Isso significa, que o tratamento controle negativo apresentou menor concentração de minerais nos ossos quando comparado aos tratamentos controle e com adição da enzima A, não se diferindo do tratamento com utilização da enzima B.

Ao contrário dos resultados de cinzas óssea obtidos nesse experimento, Santos et al. (2011) não observaram diferença significativa para essa variável quando utilizaram três níveis diferentes de fósforo disponível (0,36, 0,31 e 0,26%), com a suplementação de fitase (500 FTU/kg). No entanto, esses autores não utilizaram um tratamento controle negativo, para avaliar de fato o efeito das enzimas.

TABELA 15. Análises ósseas aos 35 dias de idade das aves

Trat.	CMO* (g)	Área (cm ³)	DMO* (g/cm ³)	IS	FM* (N)	RE* (mJ)	RO* (Mpa)	CO ¹ (%)	P (%)
E	1,56ab	11,66ab	0,132 a	2,13 a	348,53 a	894,67 a	99,58 b	42,46 a	7,22 a
F	2,20 a	12,54 a	0,175 a	2,30 a	422,63 a	1018,60 a	145,84 a	45,60 a	7,42 a
G	1,66ab	12,26ab	0,138 a	2,38 a	344,18 a	912,60 a	122,72ab	43,27 a	7,51 a
H	1,27 b	10,57 b	0,118 a	2,34 a	292,77 a	685,60 a	151,54 a	36,83 b	5,48 b
CV (%)	28,0	9,0	24,2	8,92	19,1	21,0	20,4	6,68	12,58

Conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (Área), densidade mineral óssea (DMO), índice de Seedor (IS), força máxima suportada pelo osso antes da quebra (FM), resiliência óssea (RE), rigidez óssea (RO), cinzas óssea (CO) e porcentagem de fósforo na tibia (P).

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey e SNK* ($p \leq 0,05$)

¹Cinzas óssea em base de matéria seca desengordurada

De acordo com a tabela 15, em que estão apresentados os resultados das análises ósseas aos 35 dias de idade, houve efeito dos tratamentos ($p < 0,05$) para CMO e Área. Para CMO os ossos do tratamento F apresentaram os melhores resultados quando comparados aos ossos do tratamento H, não se diferenciando dos tratamentos E e G, ou seja, os ossos do tratamento com utilização da enzima A obteve o maior conteúdo mineral ósseo em relação ao tratamento controle negativo.

Da mesma forma, para os resultados de Área do osso os ossos do tratamento F apresentaram os melhores resultados quando comparados aos ossos do tratamento H, não se diferenciando dos tratamentos E e G.

No entanto apesar de ter ocorrido efeito dos tratamentos para conteúdo mineral ósseo e área do osso, não foi observado efeito dos tratamentos ($p > 0,05$) sobre a densidade mineral óssea (DMO) e nem para o índice de Seedor (IS), ou seja, todos os tratamentos apresentaram densitometria semelhante tanto com a utilização do aparelho densitômetro DPX-Lunar[®], quanto pelo método de Seedor.

Esses resultados diferem do encontrado por Oliveira et al. (2008), que ao avaliarem a densidade óssea de aves alimentadas com dietas contendo 100, 85 e 70% das exigências de fósforo, com e sem suplementação de fitase, observaram redução da densidade óssea com a redução dos níveis de Pd para 85 e 70% das exigências e um aumento com a inclusão de fitase na dieta. Segundo Nelson et al. (2000), como a densidade é uma medida do grau de mineralização óssea em uma determinada área ou volume, normalmente a redução do Pd na dieta, vai diminuir a mineralização óssea, e a inclusão de fitase vai fornecer mais fósforo, melhorando a densidade.

Não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$) para FM e RE. Todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes de carga máxima suportada pela amostra e de energia absorvida pelo tecido ósseo durante a fase elástica, ou seja, o impacto que a amostra suportou sem deforma-se permanentemente.

Ao contrário desses resultados, Oliveira et al. (2008) observaram que a resistência óssea diminuiu em aves alimentadas com dietas com 70% das exigências de Pd. Já Orban et al. (1999) e Kocabagli (2001) relataram que a inclusão de 700 a 1.500 UFT kg⁻¹ de fitase em dietas com níveis de fósforo reduzidos para frangos de corte não afetou o peso, comprimento, diâmetro e resistência à quebra das tíbias.

Para o parâmetro de rigidez óssea os ossos das aves dos tratamentos F e H apresentaram os maiores valores quando comparados aos ossos das aves do tratamento E, não se diferindo do tratamento G. Esse resultado indica que os ossos das aves do tratamento com a utilização da enzima A e o tratamento controle negativo, apresentaram maior capacidade de resistir à deformação, em relação ao tratamento controle.

Já para cinzas óssea (CO) e porcentagem de fósforo na tíbia (P), foi observada diferença significativa ($p<0,05$), sendo que os ossos do tratamento H (controle negativo) obtiveram os piores resultados quando comparado aos demais tratamentos. Isso pode ser atribuído à menor inclusão de fósforo disponível nesse tratamento e a redução no consumo de ração, o que diminuiu a ingestão desse micromineral e conseqüentemente sua deposição óssea.

Esses resultados estão de acordo com Laurentiz et al. (2009), que ao utilizarem diferentes níveis de fósforo disponível (Pd) na dieta, com e sem suplementação de fitase, verificaram redução nos teores de cinzas e de fósforo nas tíbias nos tratamentos com redução do Pd da dieta e, ao utilizarem a enzima fitase, observaram aumento desses valores.

Na figura 7 são apresentadas quatro fotomicrografias da tíbia direita de frangos de corte com 21 e 35 dias de idade.

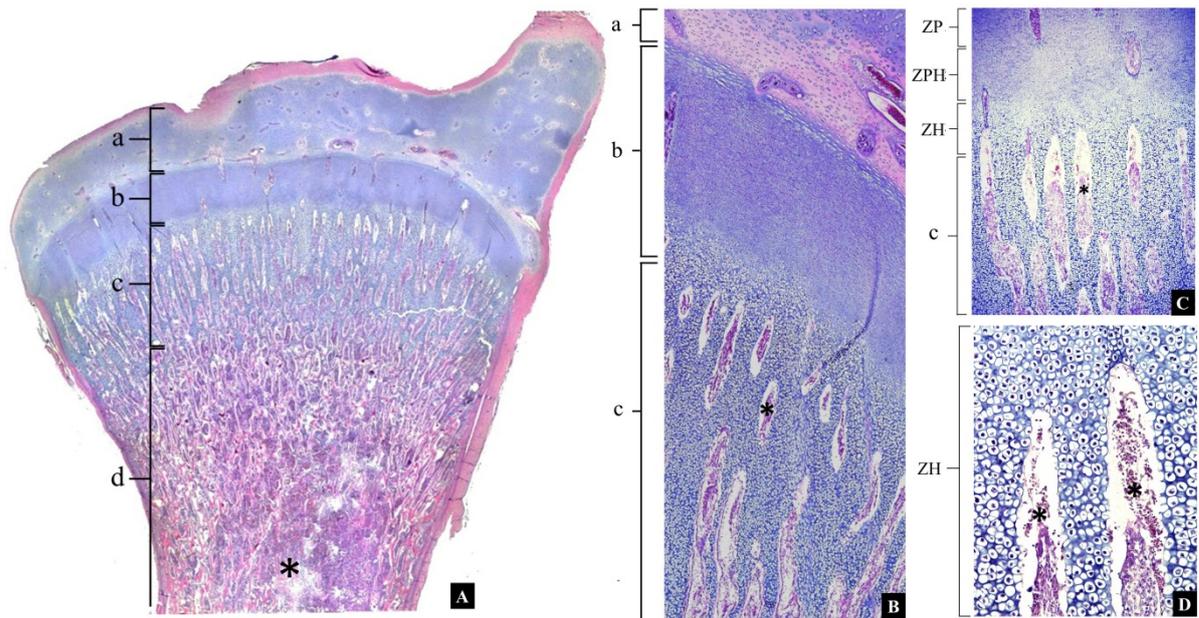


FIGURA 7. Frango de corte, tibiotarso proximal normal. A imagem A é referente ao tratamento F aos 21 dias, as fotos B, C e D são referentes ao tratamento D aos 35 dias de vida das aves. Em A e B podem ser observadas epífise (a), placa de crescimento ou fise (b), metáfise (c) e diáfise (d). Em C e D são observadas as zonas da placa de crescimento (b): zona de proliferação (ZP), zona pré-hipertrófica (ZPH) e zona hipertrófica (ZH). Em todas as imagens são visualizados os vasos da metáfise (*), ocasionalmente invadindo a zona hipertrófica da placa de crescimento (Figura 1D). HxE, X (1A), XX (1B), 100X (1C) e 200X (1D).

Não houve efeito dos tratamentos para nenhum dos dois experimentos em relação à histopatologia óssea. Todas as aves apresentaram formação óssea normal, com placa de crescimento regular e vascularização na região da metáfise.

5 CONCLUSÕES

A utilização da fitase A nas dietas com redução de 0,10% Pd, conseguiu recuperar o desempenho das aves.

A enzima A, foi mais eficiente do que a enzima B para desempenho e qualidade óssea das aves, quando foi utilizado 500 FTU/kg de ração.

Com o aumento do desafio, reduzindo o fósforo disponível para 0,20%, ficou mais evidente a efetividade da enzima A.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. V.; SILVA, A. D.; SOUZA, M. V. N.; BENÍCIO, A. A. A. A cascata dos fosfoinositídeos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 105-111, 2003.

ALVARENGA, R. R.; NAGATA, A. K.; RODRIGUES, P. B., *et al.* Adição de fitase em rações com diferentes níveis de energia metabolizável, proteína bruta e fósforo disponível para frangos de corte de 1 a 21 dias. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n.4, p. 602 - 609, 2011.

ASSUUEA, V. **Efeito da inclusão da fitase sobre o desempenho, densitometria óssea, excreção de fósforo e nitrogênio e viabilidade econômica de frangos de corte**. 2007. 50f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, SP.

BEDFORD, M.R. New enzyme technologies for poultry feeds. **British Poultry Science**, v.44 Suppl. 1, S14–S16. 2003.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2. ed. CABI, 2011.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2012.

BOGNI, F. H. **Efeito do envelhecimento e do treinamento resistido sobre ossos de ratos**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas)- Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

BOLING, S.D; DOUGLAS, M.W; JOHNSON, M.L., *et al.* The effects of dietary available phosphorus levels and phythase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, v.79, p.224-230, 2000.

BRENES, A.; VIVEROS, A.; ARIJA, I., *et al.* The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, v. 110, p. 201-219, 2003.

BRUNELLI, S.P.; PINHEIRO, J.W.; BRIDI, A.M., *et al.* Efeitos da fitase no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. **Ciências Agrárias**, v.33, p.3279-3286, 2012.

BRUNO, L. D. G. **Desenvolvimento ósseo em frangos : influência da restrição alimentar e da temperatura ambiente**. 2002. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias e Veterinárias) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, SP.

CAMDEN, B. J.; MOREL, P. C. H.; THOMAS, D. V., *et al.* Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize –soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, p. 289-297, 2001.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, p.259-272, 2005.

CASEY, A., WALSH, G. Identification and characterization of a phytase of potential commercial interest. **Journal of Biotechnology**, v.110, p.313-322, 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D .R. **Bioquímica ilustrada**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

CONSUEGRO, J.P. Uso de fitasa microbiana en dietas para avicultura. **Indústria. Avícola**, v.46, p.27-28, 1999.

COSTA, F.G.P.; BRANDÃO, P.A.; BRANDÃO, J.S.; SILVA, J.H.V. Efeito da enzima fitase nas rações de frangos de corte, durante as fases pré-inicial e inicial. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.865-870, 2007.

COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. **I Simpósio Internacional ACAV—Embrapa sobre Nutrição de Aves**. Concórdia-SC. 1999.

DE CARLI, L.; ROSSO, N. D.; SCHNITZLER, E.; CARNEIRO, P. I. B. Estudo da estabilidade do complexo Ácido Fítico e o íon Ni(ii). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p. 19-26, 2006.

DIAMBRA, O.H.; McCARTNEY, M.G. The effect of low protein finisher diets on broiler males performance and abdominal fat. **Poultry Science**, v.64, p.2013-2015, 1995.

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

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

FERNÁNDEZ, S. R. Uso de enzimas termoestables em la alimentación animal. **Avicultura**, 2007.

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

GAUTHIER, R. Intestinal health, the key to productivity: the case of organic acids. In: **Convencion ANECA-WPDC**, 27, 2002, Puerto Vallarta. Proceedings... Puerto Vallarta: WPDC, p. 1-14.

GOMES, P. C.; RUNHO, R. C.; D'AGOSTINI, P., *et al.* Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 22 a 42 e de 43 a 53 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.1734-1746, 2004.

GOMES, P. C.; GOMES, M. F. M.; ALBINO, L. F. T. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 23, p. 615-622, 1994.

GOMIDE, E.M.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F.; FIALHO, E.T. Planos nutricionais com a utilização de aminoácidos e fitase para frangos de corte mantendo o conceito de proteína ideal nas dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1769-1774, 2007.

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

GOMIDE, E. M.; RODRIGUES, P. B.; NAVES, L. P., *et al.* Dietas com reduzidos níveis de nutrientes, suplementadas com fitase e aminoácidos, para frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.36, 2012.

GREINER, R.; FAROUK, A.; ALMINGER, M.L.; CARLSSON, N.G. The pathway of dephosphorylation of *myo*-inositol hexakisphosphate by phytate-degrading enzymes of different *Bacillus* spp. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 986-994, 2002.

GREINER, R.; ALMINGER, M.L.; CARLSSON, N.G., *et al.* Pathway of dephosphorylation of *myo*-inositol hexakisphosphate by phytases of legume seeds. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.50, p.6865-6870, 2002.

HALL, S. **Biomecânica básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.320p.

HAN, J.C.; YANG, X.D.; QU, H.X., *et al.* Evaluation of equivalency values of microbial phytase to inorganic phosphorus in 22- to 42-day-old broilers. **The Journal. of Applied Poultry Research**, v.18, p.707-715, 2009.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: _____. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2004. cap. 8, p. 148 - 149.

KOCABAGLI, N. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Turkish Journal Veterinary e Animal Sciences**, v. 25, p. 797-802, 2001.

KORNEGAY, E.T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Eds.) **Enzymes in farm animal nutrition**. Wallingford: Cab Publishing, 2001.

LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S., *et al.* Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, p.207-216, 2007.

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

LELIS, G. R.; ALBINO, L. F. T.; SILVA, C. R., *et al.* Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1768-1773, 2010.

LIGEIRO, E.C. **Efeito da utilização da fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos, valiação econômica e excreção de fósforo e nitrogênio de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo ingredientes alternativos.** 2007. 81f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, SP.

LOUZADA, M. J. Q. **Otimização da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas de peças ósseas. Estudo “In Vitro”.** 1994. 213f. Tese (Doutorado em engenharia elétrica)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte.** 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. cap. 13, p. 168-170.

MARQUES, T. M. **Avaliação da densitometria óssea em fêmur de rato após consumo de álcool e fluoreto de sódio.** 2008. 45 p. Dissertação (Mestrado em odontologia) – Universidade Estadual Paulista, SP.

MAYNARD, L.A.; LOOSLY, J.K.; HINTZ, H.F. *et al.* **Nutrição animal.** 3.ed., Rio de Janeiro: Freitas Bastos. 1984.

MÉTODOS para análise de alimentos. **INCT**, Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012.

MILICA, Z. B.; MIRA, K.; MIHALJEV, Z., *et al.* The effectiveness of phytase in broiler diets in improving production performances and bone features. **Acta Veterinaria**, v. 62, p.297-311, 2012.

MULLANEY, E. J.; ULLAH, A. H. J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 312, n. 1, p. 179-184, 2003.

NAVES, L.P. **Metodologias para quantificar fitato e uso de fitases em rações para frangos de corte.** 2012. 151f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NAVES, L. P.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G., *et al.* Redução de fósforo em dietas para frangos com base em valores de equivalência da fitase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 49, p.71-77, 2014.

NELSON, D.A.; BARONDESS, D.A.; HENDRIX, S.L.; BECK, T.J. Cross-sectional geometry, bone strength, and bone mass in the proximal femur in black and white postmenopausal women. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, p. 1992-1997, 2000.

OFFICIAL methods of analysis. 11.ed. Washington, D.C.: **AOAC**, 1980.

OH, B. C.; KIM, M.H.; YUN, B.S., *et al.* Ca²⁺-inositol phosphate chelation mediates the substrate specificity of β -propeller phytase. **Biochemistry**, v. 45, p. 9531-9539, 2006.

- OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. H.; GRAVENA, R. A., *et al.* Qualidade óssea de frangos alimentados com dietas com fitase e níveis reduzidos de fósforo disponível. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 30, p. 263-268, 2008.
- OLIVEIRA, M.C.; SILVA, D.; LOCH, F.C., *et al.* Efeito de níveis de fósforo não-fítico e de fitase sobre a tibia de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v.14, p.49-56, 2009.
- ONYANGO, E.M.; HESTER, P.Y.; STROSHINE, R.; ADEOLA, O. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. **Poultry Science**, Savoy, v. 82, p.1787-1791, 2003.
- ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. The yeast production system in which *Escherichia coli* phytase is expressed may affect growth performance, bone ash, and nutrient use in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 83, p. 421 – 427, 2004.
- ORBAN, J.I.; ADEOLA, O.; STROSHINE, R. Microbial phytase in finisher diets of White Pekin ducks: effect on growth performance, plasma phosphorus concentration, and leg bone characteristics. **Poultry Science**, v. 78, p. 366-377, 1999.
- PARMER, T.G.; KIRBY, L.K.; JOHNSON, Z.B. Function, growth hormone, and organ growth in broiler deficient in phosphorus. **Poultry Science**, v.66, p.1995-2004, 1987.
- PENZ JÚNIOR, A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. **In: Reunião Anual da sociedade Brasileira de Zootecnia**, 35, 1998, Botucatu-SP. p.165-178.
- PINHEIRO, S. R. F. **Níveis de fósforo, de cálcio e de cloreto de Sódio para aves de linhagens de crescimento Lento criadas em sistema semi-confinado**. 2009. 104f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Estadual Paulista, SP.
- PIZZOLANTE, C. C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. 2000. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- QIAN, H.; KORNEGAY, E.T.; CONNER, D.E. Adverse effects of wide calcium: phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol diets. **Poultry. Science**, v.76, p.36-47, 1996.
- RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, W. E.; BALOQ, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1024-1032, 2000.
- RISO, N. D. M.; FERRARI, T. A.; CIARLINI, L. D. R. P.; LOUZADA, M. J. Q. Laser terapêutico no reparo ósseo de ratos submetidos à ausência de carga. **Veterinária e Zootecnia**, v.17, p.250-258. 2010.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L., *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 2000. 141p.
- RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S., *et al.* Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, 2001.

SA, L. M.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; *et al.* Exigência nutricional de cálcio para frangos de corte, nas fases de crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.397-406, 2004.

SANTOS, L.M.; RODRIGUES, P.B.; ALVARENGA, R.R., *et al.* Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações suplementadas com fitase para frangos de corte nas fases de crescimento e final. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2486-2495, 2011.

SCHOULTEN, N.A.; TEIXEIRA, A.S.; FREITAS, R.T.F., *et al.* Níveis de cálcio em rações de frangos de corte na fase inicial suplementadas com fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1190-1197, 2003.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R.; LAQUE, P.C. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broilers chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v.75, p.729-736, 1996.

SEEDOR, J.G. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone Mineral Research**, v. 4, p. 265- 270, 1995.

SELLE, P.H.; COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v.124, p.126-141. 2009.

SHEN, Y.; FAN, M. Z.; AJAKAIYE, A.; ARCHBOLD, T. Use of the regression analysis technique to determine the true phosphorus digestibility and the endogenous phosphorus output associated with corn in growing pigs. **Journal of nutrition**, v. 132, p. 1199-1206. 2002.

SILVA, Y.L. **Redução dos níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte: desempenho, digestibilidade e excreção de nutrientes.** 2004. 210f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F., *et al.* Redução de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. desempenho e teores de minerais na cama. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.840-848, 2006.

SILVA, J.H.V.; ARAÚJO, J.A.; GOULART, C.C., *et al.* Relação cálcio:fósforo disponível e níveis de fitase para poedeiras semipesadas no primeiro e segundo ciclos de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.2166-2172, 2008.

SOUZA, A. F. G .O. Tecido ósseo em frangos de corte. **Revista eletrônica Nutritime**. v. 9, p. 1663-1679. 2012.

SPENCER, J. D.; ALLEE, G. L.; SAUBER, T. E. Phosphorus bioavailability and digestibility of normal and genetically modified low-phytate corn for pigs. **Journal of Animal Science**, v.78, p. 675-680. 2000.

SWICK, R.A.; IVEY, F.J. Phytase: the value of improving phosphorus retention. **Feed Management**,v.43, p.8–17, 1992.

SYERS, J.K.; JOHNSTON, A.E.; CURTIN, D. Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use. **FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin**, v.18, Rome, 2008.

TEIXEIRA, E.N.M.; SILVA, J.H.V.; GOULART, C.C., *et al.* Suplementação da fitase em rações com diferentes níveis de fósforo disponível para frangos de corte. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 390-397, 2013.

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, p.802-808, 2001.

VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (*myo*-inositolhexakisphosphatephosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v.35, p.3-14, 2004.

VAZ, A.C.N.; ALBUQUERQUE, R.; BRISOLA, M.L., *et al.* Parâmetros ósseos de frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.1831-1835, 2013.

VELOSO, J.A.F.; MEDEIROS, S.L.S.; COSTA, E.C.A. Mineralização óssea com quatro fontes de fósforo na terminação de suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, 2000.

WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v.42, p.263–303. 1996.

YAN, F.; KERSEY, J. H.; FRITTS, C. A.; WALDROUP, P.W. Phosphorus requirements of broiler chicks six to nine weeks of age as influenced by phytase supplementation. **Poultry Science**, v.82, p.94-300, 2003.