DANIELLA CAROLINA ZANARDO DONATO

Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase

Pirassununga, SP
2009

DANIELLA CAROLINA ZANARDO DONATO

Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga
2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2217
FMVZ

Donato, Daniella Carolina Zanardo

Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase / Daniella Carolina Zanardo Donato. --2009.

97 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

1. Avicultura. 2. Enzima. 3. Fósforo disponível. 4. Metabolismo. 5. Tibia.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e excreção de amônia por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase", protocolado sob o nº1214/2007, utilizando 2160 (dois mil, cento e sessenta) frangos de corte, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 21/11/07.

We certify that the Research "Performance, metabolic balance, digestibility of minerals and excretion of ammonia in broilers chickens receiving rations of different levels of calcium and with addition of phytase", protocol number 1214/2007, utilizing 2160 (two thousand, one hundred sixty) chickens, under the responsibility Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 11/21/07.

São Paulo, 22 de novembro de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: DONATO, Daniella Carolina Zanardo

Título: Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*"Primeiro foi necessário civilizar o homem em relação ao próprio homem.
Agora é necessário civilizar o homem em relação à natureza e aos animais."*

(Victor Hugo)

Aos meus pais, Mauro e Antonieta e ao meu
irmão, Bruno, que são meu porto seguro e
que sempre me encorajaram a batalhar pelos
meus ideais.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Nutrição e Produção Animal, Campus de Pirassununga, pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto de pesquisa e incentivo à experimentação animal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo período de concessão de bolsa de estudos.

À BASF, pela doação da enzima fitase, tornando possível a realização do experimento.

À Tortuga, pela doação dos premixes.

À Embrapa, pela realização das análises de cálcio e fósforo.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, pela orientação, ensinamentos, incentivo, amizade e confiança acima de tudo, as quais possibilitaram a realização deste trabalho.

Ao Prof. Júlio Balieiro pela análise estatística, e pela paciência.

Aos professores do VNP e do ZAZ, pelos preciosos ensinamentos, colaboração e amizade.

Ao Prof. Messias Alves da Trindade Neto, pelos conhecimentos, amizade e apoio a mim dados.

Aos funcionários do aviário, “Edinho” e “China”, pela amizade, atenção, estimada ajuda e, literalmente, força na condução do experimento.

Aos funcionários do VNP, pela ajuda, atenção, amizade e por tornarem melhor esse ambiente de ensino.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia do VNP, Ari, Simi, Gilson e Everson, pelos ensinamentos, orientação nas análises, confiança e pelas conversas que fizeram dos meus longos dias no laboratório dias mais agradáveis.

Aos membros que compõem a banca, titulares e suplentes, agradeço a disponibilidade e contribuições.

Aos amigos da Pós-Graduação, que eu tive a enorme felicidade de conhecer e conviver durante o curso, Bruna, Carol Malek, Carol Tobias, Cris, Dani, Diego, Elmeson, Emu, Esther, Érika (e Júlia, lógico!), Foca, Gaúcho, Henry, Iaçanã, Jefferson, João, Johnny, Larissa, Laura, Léo, Marina, Michele, Milton, Octávio, Pascoal, Rafael, Rodrigo, Vinícius, Walter, Yara e Zé Esler, e da FZEA, Camila, Cláudia, Estela, Jack e Boi.

À querida amiga que me ensinou a distinguir uma porta aberta de uma trancada, mas que não sabe lavar cadinhos ou extratores, Andréia. Obrigada pela amizade, companheirismo e confiança, por me deixar fazer de seu experimento um “teste” para o meu!

Agradecimento especial a todas as pessoas que me ajudaram durante as coletas intermináveis do experimento. Muitíssimo obrigada pela presença, e mais do que isso, pela paciência!

Àquelas que tornaram minha permanência em Pirassununga muito mais suportável, e sem sombra de dúvidas, muito mais engraçada e divertida: Tri Jús (Nin, Pin e Mega) e Paulinha. Nem tenho como agradecer tamanha amizade, carinho, atenção e paciência. As “Meninas do VNP” vão ficar prá sempre na memória! Adoro vocês, meninas!!!

Agradecimento especial àquela que, além de amiga-irmã, foi meus braços e minhas pernas durante todo o período do experimento, Paulinha. Teria sido muito mais difícil sem você!

À minha querida amiga-irmã, que mesmo distante está sempre presente, pronta a me escutar, ajudar e dar conselhos, Claudinha.

Ao amigo Kaneo que, com muita paciência, me ensinou muito do que sei hoje, e que me ajudou e socorreu diversas vezes durante essa trajetória. Devo-te mais do que um simples agradecimento.

Ao meu namorado, Sergio, pelo carinho, paciência, bom humor e por sempre me apoiar e dar forças para continuar seguindo em frente.

À toda minha família, por todo amor, dedicação, compreensão, apoio e incentivo.

À Dirce, pela atenção, cuidado e carinho de mãe.

À Catarina (*in memorian*), pelo amor incondicional, até o último dia de vida, que demorou, mas infelizmente tinha que chegar, e à Júlia, também pelo amor incondicional, pela ótima companhia e pela eterna e excessiva alegria com que me recebe todos os dias em casa.

Aos pobres frangos que, a “duras penas” passaram pelo experimento. Mas tudo pelo bem da ciência!

E à todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

DONATO, D. C. Z. **Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.** [Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.] 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

Um experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para avaliar o efeito de rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase sobre o desempenho, a digestibilidade e a excreção de nutrientes pelas aves, determinar a energia metabolizável aparente corrigida e avaliar a mineralização óssea de frangos de corte nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias). No ensaio de desempenho foram utilizados 2.160 pintos de corte machos da linhagem AG Ross 308, de 1 a 42 dias de idade, distribuídos em 6 tratamentos, com 6 repetições cada. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de fitase (0, 600 e 1200 FTU/kg) e 2 níveis de cálcio (0,94% e 0,66%; 0,84% e 0,59%; e 0,78% e 0,54% para as fases inicial, de crescimento e final, respectivamente). As rações experimentais ainda tinham níveis reduzidos de fósforo disponível (Pd) e níveis mínimos de proteína bruta (PB). Ao final de cada fase avaliou-se o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP), a conversão alimentar (CA) e a mortalidade (Mort). Não houve interação entre os níveis de fitase e de cálcio estudados para CR em nenhuma das três fases avaliadas, entretanto foram observadas para GP ($P < 0,01$ para a fase inicial e $P < 0,05$ para as fases de crescimento e final) e para Mort ($P < 0,01$ para as fases inicial e de crescimento e $P < 0,05$ para a fase final) nas três fases. Foram observados efeitos de fitase para o CR ($P < 0,01$ para ambas as fases) na fase inicial e de crescimento e os níveis de cálcio influenciaram o CR ($P < 0,05$ para ambas as fases) nas fases inicial e final. Nenhum resultado significativo foi observado para CA. Desse modo pode-se concluir que os níveis nutricionais de cálcio podem ser reduzidos em 30% em dietas com níveis reduzidos de fósforo disponível e níveis mínimos de proteína bruta, sem afetar o desempenho, desde que às dietas sejam adicionadas 600 FTU/kg de fitase. Paralelamente foram conduzidos 3 ensaios de metabolismo utilizando-se 108 pintos de corte machos transferidos do galpão de alvenaria para as baterias metálicas aos 15, 29 e 36 dias,

respeitando-se os tratamentos e as repetições, onde passaram por um período de 4 dias de adaptação, e 3 dias de coleta de excretas. Neste ensaio avaliou-se a energia metabolizável aparente corrigida (EMAn), o consumo, a excreção e o coeficiente de retenção de nitrogênio (N Ing, N Exc e CR N), fósforo (P Ing, P Exc e CR P) e cálcio (Ca Ing, Ca Exc e CR Ca). Nenhuma resposta significativa foi observada para EMAn na fase inicial. Interações entre os níveis de cálcio e de fitase foram observadas para EMAn nas fases de crescimento ($P<0,01$) e final ($P<0,01$), sendo os maiores valores observados para níveis de fitase próximos a 600 FTU/kg, para baixo e alto nível de cálcio, respectivamente. Para o metabolismo de nitrogênio foram observadas interações entre os níveis de cálcio e fitase para N Ing nas fases de crescimento ($P<0,01$) e final ($P<0,01$), N Exc na fase de crescimento ($P<0,01$) e CR N nas fases de crescimento ($P<0,01$) e final ($P<0,05$). Os níveis de fitase influenciaram o N Ing ($P<0,01$) e N Exc ($P<0,05$) na fase inicial, e os níveis de cálcio influenciaram o N Ing ($P<0,05$) na fase inicial. Nenhum resultado foi observado para N Exc na fase final e nem para CR N na fase inicial. De uma maneira geral, a redução do nível de cálcio associada a 600 FTU/kg de fitase na fase de crescimento, e alto nível de cálcio associado a 1200 FTU/kg de fitase para a fase final, apresentam os melhores resultados. Para o metabolismo de fósforo foram observadas interações entre os níveis de fitase e cálcio estudados para P Ing ($P<0,01$ e $P<0,05$, respectivamente) nas fases inicial e final, e para CR P ($P<0,01$ e $P<0,05$, respectivamente) nas fases inicial e de crescimento. Os níveis de fitase influenciaram o P Ing ($P<0,01$) na fase de crescimento e o CR P ($P<0,05$) na fase final; e os níveis de cálcio influenciaram o P Ing ($P<0,01$) na fase de crescimento. Nenhum resultado significativo foi observado para P Exc em nenhuma das três fases estudadas. A adição de 1200 FTU/kg de fitase à dieta melhora significativamente a retenção de P, seja na fase inicial, associada a um baixo nível de cálcio, ou na fase de crescimento. Para o metabolismo de cálcio foram observadas interações entre os níveis de fósforo e cálcio estudados para Ca Ing ($P<0,01$ para ambas as fases) nas fases de crescimento e final e para CR Ca ($P<0,05$) na fase de crescimento. Os níveis de fitase influenciaram o Ca Ing ($P<0,01$) e o CR Ca ($P<0,01$) na fase inicial; e os níveis de cálcio influenciaram o Ca Ing ($P<0,01$) e o CR Ca ($P<0,01$) na fase inicial, o CR Ca ($P<0,01$) na fase final e o Ca Exc ($P<0,01$) nas três fases estudadas. De uma maneira geral, os melhores resultados foram encontrados com a redução de 30% dos níveis de cálcio associados à adição de 600 FTU/kg de fitase na dieta. Dessa maneira conclui-se que nas fases inicial e de crescimento, a redução do nível de cálcio da ração em 30% utilizando baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta com adição de 600 FTU/kg de fitase na dieta é adequada para a melhora da EMAn, da retenção de nitrogênio, fósforo e de cálcio. Já,

para a fase final, a redução do nível de cálcio não é aconselhada, porém a inclusão de 600 FTU/kg de fitase na dieta melhora a EMAn e a retenção de nitrogênio. Para o ensaio de mineralização óssea, foram utilizados 72 frangos de corte machos, que foram sacrificados e tiveram suas tíbias esquerdas retiradas ao final de cada fase. Foram avaliadas as quantidades (mg) e porcentagens de matéria mineral (MM T e %MM T), fósforo (P T e %P T) e cálcio (Ca T e %Ca T) das tíbias. Houve interação entre os níveis de cálcio e de fitase apenas para a %MM T na fase inicial ($P<0,05$), provavelmente devido à maior exigência de minerais para a formação óssea nessa fase. Os níveis de fitase influenciaram de maneira linear crescente o MM T ($P<0,01$) e a %P T ($P<0,05$) na fase inicial e o P T ($P<0,05$) e o Ca T ($P<0,05$) nas fases inicial e de crescimento; e de maneira quadrática o MM T ($P<0,01$) e a %MM T ($P<0,01$) nas fases de crescimento e final. Não foi observada nenhuma resposta significativa para %Ca T. Estes resultados permitem concluir que o nível de cálcio pode ser reduzido em 30% em dietas com níveis reduzidos de Pd e níveis mínimos de PB para frangos de corte de 1 a 42 dias, desde que às dietas sejam adicionadas 1200FTU/kg de fitase.

Palavras-chave: Avicultura. Enzima. Fósforo disponível. Metabolismo. Tíbia.

ABSTRACT

DONATO, D. C. Z. Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase. [Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.] 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

An experiment was carried on Poultry Sector of Animal Nutrition and Production Department of Veterinary Medicine and Animal Science School of São Paulo University to evaluate the effect of diets with different calcium levels and supplemented with phytase on the performance, digestibility and nutrient excretion, determine the corrected apparent metabolizable energy and evaluate bone mineralization of broiler chickens in initial (1 to 21 days of age), growing (22 to 35 days of age) and final (36 to 42 days of age) phases. In performance essay it was used 2,160 male broilers from AG Ross 308 line, from 1 to 42 days of age, distributed in 6 treatments, with 6 replicates each. A completely randomized design in a 3 X 2 factorial schedule was used, being 3 phytase levels (0, 600 or 1200 FTU/kg) and 2 calcium levels (0.94% and 0.66%; 0.84% and 0.59%; and 0.78% and 0.54% to initial, growing and final phases, respectively). The experimental diets had lower available phosphorus (AP) levels and minimum crude protein (CP) levels. At the end of each phase the feed intake (FI), weight gain (WG), feed conversion (FC) and death rate (DR) were evaluated. There was no interaction among phytase and calcium levels to FI on any of the three studied phases, however they were observed to WG ($P<0.01$ to initial phase and $P<0.05$ to growing and final phase) and to DR ($P<0.01$ to initial and growing phase and $P<0.05$ to final phase) on the three phases. It was observed effects of phytase to FI ($P<0.01$ to both phases) on initial and growing phases, and calcium levels influenced FI ($P<0.05$ to both phases) on initial and final phases. No significant results were observed to FC. Thus it can be concluded that nutritional calcium levels can be reduced in 30%, in diets with lower AP and minimum CP levels, without affecting performance, since to the diet is added 600 FTU/kg of phytase. At the same time were carried three metabolism trials using 108 male broilers transferred from experimental house to metal batteries at 15, 29 and 35 days of age, respecting both treatments and replicates, where they passed through a period of 4 days of adaptation and 3 days of excrete collection. In this essay were evaluated the corrected apparent metabolizable energy

(AMEn), the consumption, excretion and the retention coefficient of nitrogen (N C, N E and N RC), phosphorus (P C, P E and P RC) and calcium (Ca C, Ca E and Ca RC). No significant response was observed to AMEn on initial phase ($P < 0.01$). Interactions among calcium and phytase levels were observed to AMEn on growing ($P < 0.01$) and final ($P < 0.01$) phases, being the higher values observed to phytase levels near to 600 FTU/kg, to low and high calcium levels, respectively. To nitrogen metabolism, it were observed interactions among calcium and phytase levels to N C on growing ($P < 0.01$) and final ($P < 0.01$) phases, N E on growing ($P < 0.01$) phase and N RC on growing ($P < 0.01$) and final ($P < 0.05$) phases. Phytase levels influenced N C ($P < 0.01$) and N E ($P < 0.05$) on initial phase, and calcium levels influenced N C ($P < 0.05$) on initial phase. No significant results were observed to N E on final phase neither to N RC on initial phase. In a general way, the calcium level reduction associated to 600 FTU/kg of phytase on growing phase, and high calcium level associated to 1200 FTU/kg of phytase on final phase, show the best results. To phosphorus metabolism were observed interactions among calcium and phytase levels to P C ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively) on initial and final phases, and to P RC ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively) on initial and growing phases. Phytase levels influenced P C ($P < 0.01$) on growing phase and P RC ($P < 0.05$) on final phase; and calcium levels influenced P C ($P < 0.01$) on growing phase. No significant results were observed to P E in any of the studied phases. Adding 1200 FTU/kg of phytase to the diet improves P retention on initial phase, associated to low calcium level, or on growing phase. To calcium metabolism were observed interactions among calcium and phytase levels to Ca C ($P < 0.01$ to both phases) on growing and final phases and to Ca RC ($P < 0.05$) on growing phase. Phytase levels influenced Ca C ($P < 0.01$) and Ca RC on initial phase; and calcium levels influenced Ca C ($P < 0.01$) and Ca RC ($P < 0.01$) on initial phase, Ca RC on final phase and Ca E ($P < 0.01$) on the three studied phases. In a general way, the better results were found reducing calcium levels in 30% associated to 600 FTU/kg of phytase on diet. So, it can be conclude that, on initial and growing phases, calcium levels reduction in 30%, using low AP and CP levels with 600 FTU/kg of phytase on diet is adequate to improve AMEn, N, P and Ca retention. However, to final phase reducing calcium level is not recommended, even so, adding 600 FTU/kg of phytase on diet improves AMEn and N retention. To bone mineralization essay were used 72 male broilers that were slaughtered and their left tibia removed at the end of each phase. It were evaluated tibia quantity (mg) and percentages of mineral matter (MM T and % MM T), phosphorus (P T and %P T) and calcium (Ca T and % Ca T). There was interaction among calcium and phytase levels only for %MM T on initial phase ($P < 0.05$), probably due to higher mineral requirement to bone forming in this phase.

Phytase levels influenced on a linear increasing way the MM T ($P<0.01$) and %P T ($P<0.05$) on initial phase, and P T ($P<0.05$) and Ca T ($P<0.05$) on initial and growing phase; and on a quadratic way the MM T ($P<0.01$) and %MM T ($P<0.01$) on growing and final phase. There was no significant response to %Ca T. These results allowed to conclude that calcium level can be reduced in 30% in diets with lower AP and minimum CP levels to broiler chickens from 1 to 42 days of age, since 1200 FTU/kg of phytase are added to the diet.

Key words: Available phosphorus. Enzyme. Poultry. Metabolism. Tibia.

LISTA DE ABREVIATURAS

%Ca T – calcium percentage on tibia	CR N – coeficiente de retenção de nitrogênio
%Ca T – porcentagem de cálcio na tíbia	CR P – coeficiente de retenção de fósforo
%MM T – mineral matter percentage on tibia	dig – digestível
%MM T – porcentagem de matéria mineral na tíbia	disp – disponível
%P T – phosphorus percentage on tibia	DR – death rate
%P T – porcentagem de fósforo na tíbia	EM – energia metabolizável
µg – micrograma	EMAn – energia metabolizável aparente corrigida
AMEn – corrected apparent metabolizable energy	FC – feed conversion
AP – available phosphorus	FI – feed intake
Ca – cálcio	FTU – unidade de fitase
Ca – calcium	FTU – phytase unity
CA – conversão alimentar	GP – ganho de peso
Ca C – calcium consumption	HCl – ácido clorídrico
Ca E – calcium excretion	kg – quilograma
Ca Exc – excreção de cálcio	mg – miligrama
Ca Ing – consumo de cálcio	Min-Vit – mineral vitamínico
Ca RC – calcium retention coefficient	MM T – mineral matter quantity on tibia
Ca T – calcium quantity on tibia	MM T – quantidade de matéria mineral na tíbia
Ca T – quantidade de cálcio na tíbia	Mort – mortalidade
CP – crude protein	N – nitrogen
CR – consumo de ração	N – nitrogênio
CR Ca – coeficiente de retenção de cálcio	N C – nitrogen consumption
	N E – nitrogen excretion

N Exc – excreção de nitrogênio

N Ing – consumo de nitrogênio

N RC – nitrogen retention coefficient

NH₃ – amônia

NH₄⁺ – íon amônio

P – fósforo

P – phosphorus

P C – phosphorus consumption

P E – phosphorus excretion

P Exc – excreção de fósforo

P Ing – consumo de fósforo

P RC – phosphorus retention coefficient

P T – quantidade de fósforo na tíbia

P T – phosphorus quantity on tibia

PB – proteína bruta

Pd – fósforo disponível

ppm – partes por milhão

UI – unidade internacional

WG – weight gain

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	46
Gráfico 2 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta	46
Gráfico 3 – Ganho de peso (kg) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	48
Gráfico 4 – Ganho de peso (kg) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	48
Gráfico 5 – Ganho de peso (kg) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	48
Gráfico 6 – Mortalidade (%) de frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	50
Gráfico 7 – Mortalidade (%) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	50
Gráfico 8 – Mortalidade (%) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	50
Gráfico 9 – EMAn (kcal/kg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	66
Gráfico 10 – EMAn (kcal/kg) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	66
Gráfico 11 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	68
Gráfico 12 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	68
Gráfico 13 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	68
Gráfico 14 – N Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	69
Gráfico 15 – N Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	69
Gráfico 16 – CR N (%) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	70

Gráfico 17 – CR N (%) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	70
Gráfico 18 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	71
Gráfico 19 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta	72
Gráfico 20 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	72
Gráfico 21 – CR P (%) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	73
Gráfico 22 – CR P (%) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	73
Gráfico 23 – CR P (%) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo segundo níveis de fitase na dieta com 0,66% de Ca na dieta	74
Gráfico 24 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	75
Gráfico 25 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	75
Gráfico 26 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	75
Gráfico 27 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	77
Gráfico 28 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	77
Gráfico 29 – MM T (mg) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	89
Gráfico 30 – MM T (mg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta	89
Gráfico 31 – MM T (mg) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,66% de Ca na dieta	90
Gráfico 32 – %MM T (%) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase	91
Gráfico 33 – %MM T (%) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta	91
Gráfico 34 – %MM T (%) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,66% de Ca na dieta	91

Gráfico 35 – P T (mg) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	93
Gráfico 36 – P T (mg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta	93
Gráfico 37 – %P T (%) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	93
Gráfico 38 – Ca T (mg) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta	94
Gráfico 39 – Ca T (mg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição percentual e nutritiva das rações experimentais (fase inicial)	41
Tabela 2 – Composição percentual e nutritiva das rações experimentais (fase de crescimento)	42
Tabela 3 – Composição percentual e nutritiva das rações experimentais (fase final)	43
Tabela 4 – Média das temperaturas diárias mínimas e máximas dentro do galpão	44
Tabela 5 – Equações de regressão da variável consumo de ração	46
Tabela 6 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	47
Tabela 7 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	47
Tabela 8 – Equações de regressão da variável ganho de peso	47
Tabela 9 – Equações de regressão da variável mortalidade	50
Tabela 10 – Média das temperaturas diárias mínimas e máximas dentro do galpão de metabolismo durante as coletas respectivas às fases inicial, de crescimento e final	63
Tabela 11 – Equações de regressão da variável energia metabolizável aparente corrigida (EMAn)	66
Tabela 12 – Equações de regressão da variável N Ing (mg/ave/dia)	67
Tabela 13 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	68
Tabela 14 – Equações de regressão da variável excreção de nitrogênio (N Exc)	69
Tabela 15 – Equações de regressão da variável coeficiente de retenção de nitrogênio (CR N)	70
Tabela 16 – Equações de regressão da variável consumo de fósforo (P Ing)	71
Tabela 17 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	71
Tabela 18 – Equações de regressão da variável coeficiente de retenção de fósforo (CR P)	73
Tabela 19 – Equações de regressão da variável consumo de cálcio (Ca Ing)	75

Tabela 20 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	75
Tabela 21 – Ca Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	76
Tabela 22 – Ca Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	76
Tabela 23 – Ca Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	76
Tabela 24 – Equações de regressão da variável coeficiente de retenção de cálcio (CR Ca) ...	77
Tabela 25 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	77
Tabela 26 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta	77
Tabela 27 – Equações de regressão da variável matéria mineral na tíbia (mg)	89
Tabela 28 – Equações de regressão da variável porcentagem de matéria mineral na tíbia (%)	90
Tabela 29 – Equações de regressão da variável quantidade de fósforo na tíbia (mg)	92
Tabela 30 – Equação de regressão da variável porcentagem de fósforo na tíbia (%)	93
Tabela 31 – Equações de regressão da variável quantidade de cálcio na tíbia (mg)	94

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	
1	INTRODUÇÃO22
2	REVISÃO DE LITERATURA23
2.1	Fósforo e cálcio como constituintes da dieta para aves23
2.2	A utilização da fitase em rações para aves24
2.3	Poluentes oriundos de resíduos avícolas26
2.3.1	Nitrogênio (N)26
2.3.2	Fósforo (P)28
	REFERÊNCIAS30
 CAPÍTULO II	
	RESUMO36
	ABSTRACT37
1	INTRODUÇÃO38
2	MATERIAL E MÉTODOS40
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO46
4	CONCLUSÃO52
	REFERÊNCIAS53
 CAPÍTULO III	
	RESUMO57
	ABSTRACT59
1	INTRODUÇÃO61
2	MATERIAL E MÉTODOS62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO66
4	CONCLUSÃO79
	REFERÊNCIAS80
 CAPÍTULO IV	
	RESUMO84
	ABSTRACT85
1	INTRODUÇÃO86
2	MATERIAL E MÉTODOS87
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO89
4	CONCLUSÃO95
	REFERÊNCIAS96

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

No campo da produção animal, o progresso da indústria avícola tem sido de relevada significância. Deve-se reconhecer a melhora significativa nos índices zootécnicos alcançados atualmente e o dinâmico crescimento da avicultura brasileira nos últimos anos, cuja produção anual de carne de frangos superou 11 milhões de toneladas no último ano (AVISITE, 2009). Juntamente com o aumento na produção de carne de frangos, há um aumento na produção de excretas, o que tem sido motivo de grande preocupação em se tratando da preservação ambiental, uma vez que as excretas possuem altos níveis de nitrogênio, fósforo, cobre e zinco, elementos sabidamente contribuintes para a poluição do ambiente.

A velocidade de expansão da avicultura vem acompanhada da assimilação contínua de moderna tecnologia, e a nutrição tem desempenhado papel importante nessa expansão. Atualmente vários pesquisadores têm dado grande destaque ao uso de enzimas nas formulações de dietas avícolas, com o intuito de melhorar a digestibilidade dos nutrientes, incrementando o aproveitamento e a assimilação destes, direcionando-os principalmente para o crescimento do tecido muscular. Além disso, um dos objetivos da moderna produção animal é transformar alimentos menos palatáveis em alimentos de alto valor nutritivo considerando a máxima eficiência econômica e a redução do impacto ambiental.

Sabe-se que as rações de aves são formuladas principalmente com milho e farelo de soja, ou seja, alimentos de origem vegetal com grande presença de fitato, um complexo orgânico que ocorre naturalmente nas plantas, formando uma variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes. Porém, estes nutrientes não são aproveitados por esses animais, pois estes não sintetizam em seu organismo a enzima fitase, que hidrolisa o fitato em inositol e fosfato inorgânico, sendo necessário o fornecimento de grande quantidade de fontes inorgânicas de fósforo para suprir as exigências dos animais. Tal fato contribui para o elevado teor de fósforo eliminado nas excretas das aves.

Além disso, o ácido fítico compromete a absorção de cálcio e outros minerais como zinco e o cobre, e diminui a digestibilidade de aminoácidos, resultando em fontes de poluição ambiental (PENZ JR., 1998).

Objetivou-se com esse trabalho, então, avaliar o desempenho, balanço metabólico, digestibilidade e excreção fósforo, cálcio e amônia por frangos de corte, no período de 01 a 42 dias de idade, alimentados com rações com níveis mínimos de fósforo e proteína bruta recomendados para as diferentes fases, níveis reduzidos de cálcio, suplementadas com diferentes níveis de fitase.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FÓSFORO E CÁLCIO COMO CONSTITUINTES DA DIETA PARA AVES

Os minerais são considerados elementos essenciais para uma boa nutrição animal. São classificados academicamente como macrominerais, microminerais ou elementos traços, dependendo de suas concentrações nos tecidos animais, o que, de certa forma, indicam suas necessidades orgânicas (BERTECHINI, 1997).

Dentre os minerais exigidos pelas aves, o fósforo e o cálcio são considerados os mais importantes, por serem necessários não apenas para ótima taxa de crescimento, mas também para a mineralização óssea (BRANDÃO et al., 2007).

O fósforo participa nos processos metabólicos e na absorção de nutrientes, além de ser o mineral que mais onera o custo das rações. Entretanto a alimentação de frangos de corte baseia-se em alimentos de origem vegetal, nos quais aproximadamente 66% do fósforo (P) está na forma de fitato (hexa-fosfato de inositol), segundo Rostagno et al. (2000a).

Na determinação da exigência nutricional de fósforo disponível para aves, é importante considerar que as variáveis relacionadas aos ossos são mais sensíveis que as de desempenho (GOMES et al., 1993). Dessa forma, a recomendação do nível de fósforo disponível em dietas deve ser suficiente para garantir, além do ótimo desempenho, uma boa formação e resistência óssea (LAURENTIZ et al., 2007).

Além do fósforo, outros minerais podem ligar-se a esta molécula, principalmente cátions divalentes, reduzindo a sua disponibilidade para o animal. Vohara e Satyanarayana (2003), demonstraram o potencial de complexação de diversos minerais à molécula de fitato, na seguinte ordem: cobre > zinco > níquel > cobalto > manganês > ferro > cálcio.

O cálcio (Ca) tem sido alvo de vários trabalhos, nos quais se procura avaliar a exigência nutricional deste elemento, considerando as diferentes linhagens, o sexo, o consumo de ração e as suas relações com outros minerais da ração, principalmente o fósforo. Normalmente, não há preocupação dos nutricionistas com o excesso de Ca na ração em virtude de seu baixo custo e por não apresentar toxicidade, porém sabe-se que o excesso de Ca na ração prejudica a disponibilidade de outros minerais (LESKE e COON, 1999; SHAFHEY et al., 1990 e 1991), por elevar o pH no conteúdo do ingluvío e íleo, diminuindo a solubilidade dos minerais, além de afetar negativamente a ação da fitase, podendo até anulá-la e, em consequência, causar deficiência de fósforo em rações formuladas com suplementação de fitase. Alguns pesquisadores, tais como Edwards Jr. e Veltman (1983); Shafey (1993) e Sebastian et al.

(1997), enfatizam seu efeito adverso sobre o desempenho, principalmente na fase inicial de criação. Schoultens et al. (2003) verificaram que os níveis de cálcio na ração devem ser reduzidos proporcionalmente aos de fósforo na formulação da ração suplementada com fitase.

2.2 A UTILIZAÇÃO DA FITASE EM RAÇÕES PARA AVES

A fitase é encontrada em grande quantidade na natureza (sementes de plantas, fungos, bactérias, leveduras e microorganismos do rúmen). Alimentos como trigo, cevada, farelo de trigo e arroz são ricos em atividade de fitase; entretanto, milho e farelo de soja, ingredientes mais utilizados na fabricação de rações, contêm pouca ou nenhuma atividade (SELLE, 1997).

Nelson et al. (1968), foram os primeiros a adicionar fitase, produzida por uma cultura de *Aspergillus ficuum*, a uma ração líquida de soja. O alimento foi fornecido a pintos de um dia de idade e as aves mostraram considerável aumento na porcentagem de cinzas dos ossos, concluindo que as aves utilizaram o P do fitato tão bem como o fosfato inorgânico suplementado.

Pizzolante et al. (2002) comentam que quando não há fitato presente na dieta de frangos, uma exigência de Ca de 0,5% é necessária; entretanto, quando a dieta contém 1,25% de fitato, a exigência sobe para 0,95%.

O efeito da fitase sobre a disponibilidade do P já é bastante estudado e relativamente bem estabelecido (BORGES, 1997), o que não ocorre com os outros minerais complexados com o fitato, principalmente Ca (SCHOULTEN et al., 2003).

O Ca parece ser o fator-chave que influencia a atividade da fitase na mucosa intestinal de frangos, e o efeito provável mais importante é a repressão direta da atividade da fitase, pela competição do Ca pelos sítios ativos da enzima (WISE, 1983).

Edwards Jr. e Veltmann (1983) observaram que os níveis de Ca e P na ração para frangos influenciam a utilização de P fítico. Esses dados corroboram com os achados de Denbow et al. (1995), que aves consumindo rações com baixos níveis de P e Ca inorgânicos apresentam maior capacidade para hidrolisar o fitato, do que aquelas que recebem níveis altos. E Sebastian et al. (1997) observaram bons resultados da fitase em dietas com níveis baixos de P e Ca. Mas, quando apenas o nível de P foi limitante e o nível de Ca estava adequado, a fitase não foi eficiente em melhorar o desempenho das aves.

Qian et al. (1997) afirmam que a relação Ca:P influencia a atividade da fitase, que é reduzida com a elevação do nível de Ca da ração, dados esses que são confirmados por

Leeson (1999). Esse fato se deve provavelmente à reação do Ca com o ácido fítico, formando o fitato de Ca, que precipita e não pode ser hidrolisado pela fitase.

Beers e Jongbloed (1992) afirmam que para o desarranjo máximo do fitato, é necessário que os níveis de cálcio mantenham uma relação de Ca:P total de 1,71:1 e 3:1.

Ao centrifugar o conteúdo intestinal de frangos de corte que consumiram rações com alto nível de Ca (acima de 1,53%), Shafey et al. (1991) verificaram que 70 a 92% do cálcio, ferro, magnésio e zinco estavam na forma insolúvel e sugerem que a elevação do pH intestinal, em função da elevação do nível de Ca, reduz a fração solúvel de minerais e a sua disponibilidade para absorção.

Para maior solubilização do fitato é necessário manter os níveis de P e Ca inorgânicos nos limites mínimos necessários (Mitchell e Edwards Jr., 1996), indicando que os níveis destes minerais devem ser reduzidos, quando a fitase for empregada durante a formulação (BALLAM et al., 1984).

A mineralização óssea de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, submetidos à ração à base de milho e farelo de soja, com 0,51% de fósforo total, suplementada com 66µg de vitamina D e 600 FTU/kg de ração, foi afetada pelos níveis de Ca da ração com resposta quadrática, ocorrendo redução dos teores de cinza dos ossos à medida que o nível de Ca foi elevado de 0,56 para 1,02% (QIAN et al., 1997).

A condição dos ossos, especialmente ossos das pernas (tíbia, fêmur, metatarso), deve ter um impacto direto na qualidade da carne de frango produzida (ORBAN et al., 1999). A deficiência de P resultando em quebras ou defeitos desses ossos durante o processamento resulta em depreciação da carne do frango. Consequentemente, as manipulações do nível de P na dieta, como adição de fitase microbiana para aumentar a disponibilidade de P, devem ser avaliadas para os efeitos das condições dos ossos. Apesar do desempenho e da retenção mineral serem medidas importantes em qualquer mudança na dieta, o plasma e a concentração mineral óssea são geralmente mais sensíveis do que fatores de desempenho para avaliar biodisponibilidade de minerais (VIVEROS et al., 2002).

Trabalhos publicados sobre o uso de fitase em rações de frangos de corte têm mostrado efeitos positivos de aproximadamente 2%, com a suplementação de fitase (1.200 UI/Kg) sobre a digestibilidade da proteína e de aminoácidos totais, e de 2,3% sobre a energia metabolizável (NAMKUNG e LEESON, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos por Rostagno et al. (2000b), com aumento de 2,4 e 3,9% sobre a digestibilidade ileal da proteína bruta e da energia, respectivamente, em rações a base de milho e de farelo de soja, suplementadas com fitase.

Buscando avaliar o efeito de diferentes fitases em rações baseadas em milho e farelo de soja, com duas diferentes relações Ca:Pd (normal e baixo), sobre o desempenho e a digestibilidade de nutrientes em frangos de corte, no período de 10 a 24 dias de idade, Tejedor et al. (2001) verificaram efeito positivo da adição das fitases sobre os coeficientes de digestibilidade aparente ileal da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, da energia digestível e sobre a digestibilidade do cálcio e do fósforo. Efeito positivo também foi obtido sobre os parâmetros ganho de peso (+ 3,4 e + 2,8%, fitase 1 e 2, respectivamente) e sobre a conversão alimentar (+ 3%, para ambas as fitases), independente do nível de Ca: P avaliado.

No ensaio de metabolismo conduzido com frangos de 1 a 21 dias, o efeito benéfico obtido pela suplementação da enzima foi comprovado, onde Lelis et al., (2006), citados por Albino et al. (2007), encontraram maiores valores nos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e do fósforo para os tratamentos suplementados com enzima fitase.

2.3 POLUENTES ORIUNDOS DE RESÍDUOS AVÍCOLAS

A poluição ambiental é definida como a contaminação por venenos, substâncias produzidas pelo homem, produção animal e outros organismos (WILLIAMS, 1995).

Infelizmente essa poluição ambiental já é realidade em diversas partes do mundo, inclusive em algumas regiões do Brasil. Com o incessante crescimento da produção comercial de frangos de corte tem crescido também a produção de dejetos em mesma escala.

Atualmente têm-se regiões em vários Estados do Brasil com problemas graves relacionados com produção de aves de corte e/ou de postura, sendo o solo e a água alvos de maior preocupação (RODRIGUES et al., 2007), uma vez que a lixiviação dos minerais presentes nas excretas pode levar as concentrações de elementos tóxicas aos vegetais e causar a eutrofização das águas. Práticas adequadas de manejo dos resíduos gerados na avicultura são também, portanto, essenciais para que a indústria avícola cresça e se desenvolva dentro das condições de restrições legais existentes (SEIFFERT, 2000).

2.3.1 NITROGÊNIO (N)

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes, tanto para as plantas quanto para os microorganismos. Enquanto o seu uso intensivo na agricultura moderna, na forma de

fertilizantes, é extremamente necessário, uma série de impactos ambientais potencialmente sérios tem sido mostrados na saúde humana, além de danos ao ecossistema e solos. Relacionado aos danos causados no ecossistema e solos, a excreção de nitrogênio acarreta a contaminação dos lençóis freáticos, eutrofização das águas superficiais, chuva ácida, diminuição da camada de ozônio e mudança no clima global (SCHAEFER et al., 2000).

O problema do nitrogênio no solo é sua transformação em nitrato, que facilmente movimenta-se no solo e dissolve-se na água. O excesso de nitrogênio, de fósforo e de outros nutrientes favorece o desenvolvimento desordenado de algas. A decomposição destas algas consome o oxigênio dissolvido na água e, ao crescimento das algas, juntamente com o consumo do oxigênio dissolvido, é dado o nome de eutrofização, que compromete o crescimento de espécies aquáticas, como peixes, crustáceos, etc (PENZ Jr. et al., 1999).

O N excretado, originário da proteína da dieta, é o principal responsável pela poluição ambiental nos grandes complexos avícolas (MORSE, 1995). O nível de proteína bruta (N total x 6,25) na excreta das aves aumenta com a idade das aves (KUBENA et al., 1973). Segundo os autores, este é um reflexo da redução da eficiência alimentar com o aumento da idade das aves, contribuindo para o aumento no teor de nitrogênio disponível na cama de frango. Por esta razão, a manipulação da dieta através da redução do teor de proteína e a suplementação com aminoácidos sintéticos e aditivos que melhoram a digestibilidade de nutrientes, têm sido considerados procedimentos utilizados para controlar a quantidade de N excretado pelas aves. As rações tornam-se mais eficientes constituindo uma maneira de diminuir o poder poluidor das excreções das aves. Segundo Cauwenberghe e Burnham (2001), estas são algumas das poucas técnicas preventivas, disponíveis atualmente, para minimizar a excreção de N pelas aves.

Nos galpões de criação, principalmente os de frangos de corte, a proteína não digerida é depositada na cama como resíduo e é quebrada pelas bactérias em nitrogênio amoniacal (amônia – NH_3 e íon amônio – NH_4^+). Altos níveis de gás NH_3 estão associados a elevado estresse respiratório, tanto das aves quanto dos funcionários no aviário. O controle do nível de NH_3 nos galpões é feito principalmente por ventilação (GATES, 2000). No entanto, o nitrogênio depositado na cama segue os destinos que são dados a esta, podendo se tornar um elemento poluente. A amônia não ionizada dissolvida na água pode ser tóxica para peixes, mesmo em baixas concentrações. Para proteção da vida aquática, a agência americana de proteção ambiental estabelece um limite de 0,02 ppm de nitrogênio na forma de NH_3 em águas (SEIFFERT, 2000).

2.3.2 FÓSFORO (P)

Vários estudos citam o teor de P encontrado nos dejetos da produção avícola, com base na matéria seca. Ihnat e Fernades (1996) descrevem o teor de P nas excretas de frangos como sendo de 4,1%. Segundo Nicholson et al., (1996), este valor é de 1,8%, o mesmo encontrado na cama de frango por Bhattacharya e Taylor (1975) citados por Leme et al. (2000); Fialho et al. (1984) e Perdomo (1998), ambos também citados por Leme et al. (2000), sugerem valores próximos ao último descrito, sendo 1,9% e 1,6%, respectivamente. Esta característica depende do sistema de criação das aves, como tipo de instalação, dieta, aditivos empregados, tipo de cama e estocagem da excreta.

De acordo com Pizzolante (2000), somente nos Estados Unidos são excretadas cerca de 320 mil toneladas de P por ano e, um dos destinos dos dejetos avícolas é seu uso como fertilizantes. Porém, ao adicionar P ao solo deve-se estar atento ao equilíbrio entre as fases sólidas e solúveis, baseado na taxa de P nas partículas do solo e a adição deste deve estar embasado na saturação de P no solo e na presença de outros minerais como ferro, aluminossilicatos, carbonatos e matéria orgânica (GOVINDASAMY e COCHRAN, 1995). Toor e Bahl (1999) afirmam que a retenção de P no solo é um dos temas de relevância na perspectiva da nutrição da planta e eficiência de fertilização.

Segundo Rodrigues et al. (2007), de uma maneira geral, os solos do Brasil são pobres em P e, assim, pode-se supor que a excreção deste nutriente não seja prejudicial ao ambiente. Entretanto, um problema que ocorre onde existe freqüente aplicação dos dejetos de aves como adubo, é que a concentração no solo pode ultrapassar o nível máximo de P necessário ao desenvolvimento de plantas. Quando aplicado em condições excessivas no solo, a capacidade de adsorção de P pelas partículas do solo se torna saturada e o P passa a ser lixiviado, alcançando o lençol freático. O P é considerado como o componente de preocupação prioritária com relação a seu potencial de eutrofização dos corpos de água superficiais. Considera-se que os níveis de P em corpos de água superficiais não sejam superiores a 0,05mg de P/litro para cursos de água e 0,10mg de P/litro para lagos e reservatórios (SEIFFERT, 2000). Além dos efeitos adversos provenientes do P, quando o esterco é aplicado em excesso, destaca-se ainda ocorrência de aumentos excessivos na concentração de cobre, zinco e outros elementos potencialmente tóxicos. Este fato é especialmente importante em regiões com grandes concentrações de criatórios de aves e, em determinadas regiões do Brasil, é imprescindível considerar os lençóis freáticos superficiais, como é o caso do Centro-Oeste.

Nahm (2002) descreve que existem estratégias que podem diminuir a excreção de nutrientes ao ambiente, sendo a primeira delas a melhora na eficiência alimentar utilizando conceitos como proteína ideal, suplementação com aminoácidos sintéticos, fontes de P disponíveis, vitamina D, promotores de crescimento, formulações próximas aos requerimentos dos animais, granulometria adequada da dieta e rações peletizadas. Outras são: melhorar a disponibilidade nutricional dos alimentos suplementando as dietas com enzimas, aumentar a digestibilidade de fibras, avaliar a biodisponibilidade dos nutrientes no alimento e diminuir a ação de fatores antinutricionais.

A redução de 12 a 15% no P excretado foi observada por Wyatt e Harker (1995) citados por Nocera (2005), quando utilizaram a fitase na dieta das aves.

Visando a redução nos custos de produção, o enfoque das pesquisas atuais tem sido a busca pela melhora na eficiência de utilização de alimentos associada ao menor impacto causado ao ambiente pela concentração da produção animal, baseado no conhecimento da disponibilidade dos nutrientes provenientes dos ingredientes inseridos a uma formulação de ração dentro das exigências nutricionais (MARTINS, 2003).

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; BÜNZEN, S.; ROSTAGNO, H. S. Ingredientes promotores de desempenho para frangos de corte. In: VII Seminário de Aves e Suínos – AveSui Regiões, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 2007.
- ARAÚJO, C. S. S.; ARTONI, S. M. B.; ARAÚJO, L. F.; JUNQUEIRA, O. M.; BORGES, S. A. Desempenho, rendimento de carcaça e excreção de cálcio de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de aminoácidos e cálcio no período de 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2209-2215, 2002.
- AVISITE. O portal da avicultura na internet. **Estatísticas e preços**. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/economia/prodfran.asp>> Acesso em 18/08/2009.
- BALLAM, G. C.; NELSON, T. S.; KIRBY, L. K. Effect of fiber and phytate source and of calcium and phosphorus level on phytate hydrolysis in the chick. **Poultry Science**, v. 63, p. 333-338, 1984.
- BEERS, S.; JONGBLOED, A. W. Effect Aspergillus Níger phytase on their performance and apparent digestibility of phosphorus. **Animal Production**, East Lothian, v. 55, n. 3, p. 425-430, 1992.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. Textos Acadêmicos. Ed. Ufla. 1997.
- BORGES, F. M. O. **Utilização de enzimas em dietas avícolas**. Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, n. 20, p. 5-30, 1997.
- BRANDÃO, P. A.; COSTA, F. G. P.; BRANDÃO, J. S.; SILVA, J. H. V. Efeito da adição de fitase em rações de frangos de corte, durante as fases de crescimento e final. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 492-498, 2007.
- CAUWENBERGHE, S. V.; BURNHAM, D. New developments in amino acid and protein nutrition of poultry, as related to optimal performance and reduced nitrogen excretion. In: European Symposium of Poultry Nutrition, 3, 2001, Blankenberge, Belgium. **Proceedings...** Blankenberge, Belgium, 2001.
- DENBOW, D. M.; RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E. T.; YI, Z.; HULET, R. M. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 74, n. 11, p. 1831-1842, 1995.
- EDWARDS JR., H. M.; VELTMANN, J. R. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyscondroplasia in young chicks. **Journal of Nutrition**, v. 113, n. 8, p. 1568-1575, 1983.
- GATES, R. S. Poultry diet manipulation to reduce output of pollutants to environment. In: Simpósio Sobre Resíduos da Produção Avícola. 2000, Concórdia. Embrapa. **Anais...** Concórdia, 2000. p. 62-74.

GOMES, P. C.; GOMES, M. F. M.; LIMA, G. J. M. M.; ROSTAGNO, H. S.; SAKOMURA, N. K. Exigência de fósforo e sua disponibilidade nos fosfatos monoamônio e monocalcário para frangos de corte até 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 22, n. 5, p. 755-763, 1993.

GOVINDASAMY, R.; COCHRAN, M. J. Implications of alternative environmental policies on phosphorus loading from poultry litter. **Agricultural Economics**, v. 13, p. 137-148, 1995.

IHNAT, M.; FERNANDES, L. Trace elemental characterization of composted poultry manure. **Bioresource Technology**, v. 57, p. 143-156, 1996.

KUBENA, L. F.; REECE, F. N.; MAY, J. D. Nutritive properties of broiler excreta as influenced by environmental temperature, collection interval, age of broilers and diet. **Poultry Science**, v. 52, p. 1700-1703, 1973.

LAURENTIZ, A. C.; JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; ASSUENA, V.; CASARTELLI, E. M.; COSTA, R. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 207-216, 2007.

LEESON, S. Enzimas para aves. In: Simpósio Internacional Sobre Nutrição de Aves, 1999, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1999. p.173-185.

LEME, P. R.; ALLEONI, G. F.; CAVAGUTI, E. Utilização da cama de frango na alimentação de bovinos. In: Simpósio Sobre Resíduos da Produção Avícola. 2000, Concórdia. Embrapa. **Anais...** Concórdia, 2000. p.44-51

LESKE, K. L.; COON, C. N. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. **Poultry Science**, v. 78, n. 8, p. 1151-1157, 1999.

MARTINS, B. A. B. **Determinação da biodisponibilidade relative do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com e sem adição de fitase microbiana à dieta.** 2003. 148 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

MITCHELL, R. D.; Edwards Jr., H. M. Effects of phytase and 1,25- Didroxicholecalciferol on phytate utilization and quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. **Poultry Science**, v. 75, n. 1, p. 111-119, 1996.

MORSE, D. Environmental considerations of livestock producers. **Journal Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2733-2740, 1995.

NAHM, K. H. Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 1-16, 2002.

NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1317-1319, 1999.

NELSON, T. S.; FERRARA, L. W.; STORER, N. L. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. **Poultry Science**, v. 47, n. 4, p. 1372-1374, 1968.

NICHOLSON, F. A.; CHAMBERS, B. J.; SMITH, K. A. Nutrient composition of poultry manure in England and Wales. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 279-284, 1996.

NOCERA, G. A. **Efeito da fitase e do diâmetro geométrico médio do milho na dieta sobre o desempenho de frangos de corte**. 2005, 48 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

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.

PENZ JR. A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p.165-178

PENZ JR., A. M.; MEINERZ, C. E. T.; MAGRO, N. Efeito da nutrição na quantidade e qualidade dos dejetos suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 36. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999.

PIZZOLANTE, C. C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. 2000. 117p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

PIZZOLANTE, C. C.; TEIXEIRA, S. A., SANTOS, D. C.; BERTECHINI, A. G.; FREITAS, R. T. F.; GARCIA, E. A. Níveis de fitase e de cálcio e desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 2, p. 418-425, 2002.

QIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, v. 76 p. 37-46, 1997.

RODRIGUES, P. B.; BRITO, J. A. G.; SILVA, E. L.; NASCIMENTO, G. A. J. Manejo da dieta para reduzir o impacto ambiental da excreção de nutrientes na avicultura. In: VII Seminário de Aves e Suínos – AveSui Regiões, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 2007.

ROSTAGNO, H. S, TEJEDOR, A. A., ALBINO, L. F. T., SILVA, J. H. V. Enzyme supplementation of corn-soybean meal diets improves nutrients ileal digestibility in broiler chicks. In: Alltech's 16th Annual Symposium. 2000, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham: Univ. Press, p.101-107. 2000b.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 141p., 2000a.

SCHAEFER, C. E.; ALBUQUERQUE, M. A.; CHARMELO, L. L.; CAMPOS, J. C. F.; SIMAS, F. B. Elementos da paisagem e a gestão da qualidade ambiental. **Informe Agropecuário**, 21(202). 2000.

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

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial phytase. **Poultry Science**, v. 76, n. 12, p. 1760-1769, 1997.

SEIFFERT, N. F. Planejamento da atividade avícola visando a qualidade ambiental. In: Simpósio Sobre Resíduos da Produção Avícola, 2000, Concórdia. **Anais...** Concórdia: Embrapa, p.1-20, 2000.

SELLE, P. H. The potential of microbial phytase the sustainable production of pigs and poultry. In: Short Course on Feed Technology, 7., 1997, Ansong. **Proceedings...** Korea: Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, 1997. p. 1-39

SHAFEY, T. M. Calcium tolerance of growing chickens: effect of ratio of dietary calcium to available phosphorus. **World's Poultry Science Journal**, v. 49, n. 1, p. 5-18, 1993.

SHAFEY, T. M., MCDONALD, M. W.; PIM, R. A. The effect of dietary calcium upon growth rate, food utilization and plasma constituents in lines of chickens selected for aspects of growth or body composition. **British Poultry Science**, v. 31, p. 577-586, 1990.

SHAFEY, T. M.; MCDONALD, M. W.; DINGLE, J. G. Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on the availability of calcium, iron, magnesium and zinc from the intestinal contents of meat chickens. **British Poultry Science**, v. 32, n. 1, p. 185-194, 1991.

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

TOOR, G. S.; BAHL, G. S. Kinetics of phosphate desorption from different soil as influenced by application of poultry manure and fertilizer phosphorus and its uptake by soybean. **Bioresource Technology**, v. 69, p. 117-121, 1999.

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172-1183, 2002.

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

WILLIAMS, P. E. V. Animal production and European pollution problems. **Animal Feed Science and Technology**, v. 53, p. 135-144, 1995.

WISE, A. Dietary factors determining the biological activities of phytate. **Nutrition Abstract Reviews**, Aberdeen, v. 53, n. 9, p. 791-806, 1983.

CAPÍTULO II

ENSAIO DE DESEMPENHO

RESUMO

DONATO, D. C. Z. Ensaio de desempenho. In: _____. **Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.** [Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.] 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

Um experimento foi conduzido para avaliar o efeito de rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase sobre o desempenho de frangos de corte nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias). Foram utilizados 2.160 pintos de corte machos da linhagem AG Ross 308, de 1 a 42 dias de idade, distribuídos em 6 tratamentos, com 6 repetições cada. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de fitase (0, 600 e 1200 FTU/kg) e 2 níveis de cálcio (0,94% e 0,66%; 0,84% e 0,59%; e 0,78% e 0,54% para as fases inicial, de crescimento e final, respectivamente). As rações experimentais ainda tinham níveis reduzidos de fósforo disponível (Pd) e níveis mínimos de proteína bruta (PB). Ao final de cada fase avaliou-se o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP), a conversão alimentar (CA) e a mortalidade (Mort). Não houve interação entre os níveis de fitase e de cálcio estudados para CR em nenhuma das três fases avaliadas, entretanto foram observadas para GP ($P < 0,01$ para a fase inicial e $P < 0,05$ para as fases de crescimento e final) e para Mort ($P < 0,01$ para as fases inicial e de crescimento e $P < 0,05$ para a fase final) nas três fases. Foram observados efeitos de fitase para o CR ($P < 0,01$ para ambas as fases) na fase inicial e de crescimento e os níveis de cálcio influenciaram o CR ($P < 0,05$ para ambas as fases) nas fases inicial e final. Nenhum resultado significativo foi observado para CA. Desse modo pode-se concluir que os níveis nutricionais de cálcio podem ser reduzidos em 30% em dietas com níveis reduzidos de fósforo disponível e níveis mínimos de proteína bruta, sem afetar o desempenho, desde que às dietas sejam adicionadas 600 FTU/kg de fitase.

Palavras-chave: Avicultura. Conversão alimentar. Enzima. Fósforo disponível. Minerais.

ABSTRACT

DONATO, D. C. Z. Performance trial. In: _____ **Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.** [Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.] 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

An experiment was carried to evaluate the effect of diets with different calcium levels and supplemented with phytase on the performance of broiler chickens in initial (1 to 21 days of age), growing (22 to 35 days of age) and final (36 to 42 days of age) phases. It was used 2,160 male broilers from AG Ross 308 line, from 1 to 42 days of age, distributed in 6 treatments, with 6 replicates each. A completely randomized design in a 3 X 2 factorial schedule was used, being 3 phytase levels (0, 600 or 1200 FTU/kg) and 2 calcium levels (0.94% and 0.66%; 0.84% and 0.59%; and 0.78% and 0.54% to initial, growing and final phases, respectively). The experimental diets had lower available phosphorus (AP) levels and minimum crude protein (CP) levels. At the end of each phase the feed intake (FI), weight gain (WG), feed conversion (FC) and death rate (DR) were evaluated. There was no interaction among phytase and calcium levels to FI on any of the three studied phases, however they were observed to WG ($P<0.01$ to initial phase and $P<0.05$ to growing and final phase) and to DR ($P<0.01$ to initial and growing phase and $P<0.05$ to final phase) on the three phases. It was observed effects of phytase to FI ($P<0.01$ to both phases) on initial and growing phases, and calcium levels influenced FI ($P<0.05$ to both phases) on initial and final phases. No significant results were observed to FC. Thus it can be concluded that nutritional calcium levels can be reduced in 30%, in diets with lower AP and minimum CP levels, without affecting performance, since to the diet is added 600 FTU/kg of phytase.

Key words: Available phosphorus. Enzyme. Feed conversion. Minerals. Poultry.

1 INTRODUÇÃO

Muitos estudos têm sido realizados para determinar as exigências nutricionais das aves, visando obter uma alimentação que proporcione o máximo desempenho e que tenha menor custo. Entre os minerais exigidos pelas aves, o fósforo e o cálcio são os mais importantes, por serem necessários não apenas para a ótima taxa de desempenho, mas também para a mineralização óssea (GOMES, 2004). O fósforo também se destaca pela sua participação em inúmeras funções do organismo animal e pelo seu elevado custo na suplementação nas rações das aves.

A alimentação de aves baseia-se em ingredientes de origem vegetal, em especial o milho e o farelo de soja, que apresentam parte do teor de fósforo na forma do complexo orgânico fitato, cujo fósforo somente é aproveitado pelas aves em pequena proporção do total presente no alimento (aproximadamente 33%). O fitato pode, então, ser considerado um fator antinutricional, já que diminui significativamente a disponibilidade de fósforo, formando também complexos insolúveis que prejudicam a digestibilidade dos nutrientes e consequentemente o desempenho dos animais (SANTOS, 2008).

Em revisão, Choct (2006) destacou que a fitase exógena permite aumentar entre 25 a 50-70% a disponibilidade do fósforo proveniente do fitato. Em trabalhos recentes, verifica-se que é possível reduzir níveis de nutrientes nas rações, mantendo satisfatoriamente o desempenho das aves e minimizando a excreção de alguns elementos minerais (SILVA et al., 2006; NAGATA, 2006; GOMIDE et al., 2007; SILVA et al., 2008).

Segundo Mitchel e Edwards Jr. (1996), para uma maior solubilização do fitato no trato digestivo da ave, é necessário manter os níveis de fósforo e cálcio inorgânicos nos limites mínimos necessários. Alguns trabalhos indicam que os níveis elevados de cálcio na ração reduzem a absorção de Ca, P, Zn e Mn, mesmo com a adição da enzima fitase na dieta e com baixo teor de P total.

Tanto o nível de cálcio como o de fósforo na ração para frangos influenciam a utilização do fósforo fítico (EDWARDS JR. e VELTMAN, 1983; BALLAM et al., 1984 apud SCHOULTEN, 2002). Aves consumindo rações com baixos níveis de fósforo e cálcio inorgânicos possuem maior capacidade para hidrolisar o fitato do que aquelas que recebem níveis altos (DENBOW et al., 1995).

Lan et al. (2002) suplementaram dietas deficientes em fósforo disponível (0,24% na fase inicial e 0,23% na fase de crescimento) com 0, 250, 500, 750 e 1000 FTU de fitase/kg de ração foi suficiente para aumentar o ganho de peso em 14,8%.

Indiscutivelmente, um melhor aproveitamento dos nutrientes dos alimentos implica em menor excreção desses, diminuindo, conseqüentemente, os efeitos negativos da excreção no meio ambiente, além, da possibilidade de formulação de rações com menores quantidades de fontes inorgânicas de fósforo e também de outros nutrientes (SANTOS, 2008).

Assim, o presente trabalho foi conduzido a fim de se avaliar o desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase, nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, Estado de São Paulo.

Foram utilizados 2.160 pintos de corte, com um dia de idade, machos, da linhagem AG Ross 308, criados até 42 dias de idade, sendo que no primeiro dia do experimento eles foram pesados, uniformizados e distribuídos, aleatoriamente, em um galpão de alvenaria, dividido em 36 boxes (1,70m x 2,50m), com piso forrado com maravalha e providos de comedouros tubulares e bebedouros pendulares, e submetidos aos tratamentos experimentais. Aos 21, 35 e 42 dias de idade avaliou-se o consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar e a mortalidade no período experimental.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos organizados de acordo com um esquema fatorial 3x2, para cada uma das três fases (inicial, crescimento e terminação), sendo 3 níveis de enzima fitase (Natuphos®) (0, 600 e 1.200 FTU/kg) e 2 níveis de Ca (0,942% e 0,659%; 0,837% e 0,586%; 0,775% e 0,542%, para as fases inicial, de crescimento e terminação, respectivamente), totalizando 6 tratamentos, com 6 repetições cada.

As rações foram isonutritivas, exceto para os níveis de Ca, e foram formuladas à base de milho e farelo de soja, obedecendo aos níveis nutricionais empregados na criação comercial de frangos de corte, segundo Rostagno et al. (2005). Em todas as rações foram utilizados níveis mínimos recomendados por Rostagno et al. (2005) de proteína bruta (PB) e níveis reduzidos em 30% de fósforo disponível para as diferentes fases (Tabelas 1, 2 e 3). Conforme demonstrado nas mesmas tabelas, os níveis de cálcio e fitase nas rações foram ajustados por redução/aumento do calcário e da enzima fitase e as respectivas substituições por inerte.

Tabela 1 – Composição percentual e nutritiva das rações experimentais (fase inicial)

Ingredientes (kg)	Alto Cálcio			Baixo Cálcio		
	FIT 0	FIT 600	FIT 1200	FIT 0	FIT 600	FIT 1200
Milho	69,23	69,22	69,20	69,20	69,29	69,28
Farelo de Soja	26,56	26,56	26,57	26,57	26,55	26,55
Óleo de Soja	0,02	0,03	0,03	0,03	0,01	0,01
Sal	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
Fosfato Bicálcico	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Calcáreo	1,67	1,67	1,67	0,93	0,93	0,93
Metionina	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Lisina	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Treonina	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Colina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Premix Min-Vit ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Inerte	-	-	-	0,75	0,70	0,70
Fitase	-	0,006	0,012	-	0,006	0,012
TOTAL	100	100	100	100	100	100
Nutrientes²	Composição Calculada					
EM (kcal/kg)	2983	2983	2983	2983	2983	2983
PB (%)	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50
Cálcio (%)	0,94	0,94	0,94	0,66	0,66	0,66
Fósforo total (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Fósforo disp (%)	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Sódio (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Lisina dig (%)	1,20	1,2	1,20	1,20	1,20	1,20
Met+Cist dig (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Treonina dig (%)	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78
Triptofano dig (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19

¹Fornecimento por kg do produto: Vitamina A 5.546.000,00 UI/kg; Ferro 24.800,00 mg; Selênio 150,00 mg; Vitamina D3 1.339.000,00 UI/kg; Vitamina K3 944,00 mg; Vitamina B1 1.005,00 mg; Vitamina B6 1.245,00 mg; Ácido Pantotênico 5.890,00 mg; Ácido Fólico 495,00 mg; Cobre 4.280,00 mg; Iodo 500,00 mg; Vitamina B2 2.250,00 mg; Vitamina B12 6.000,00 mcg; Niacina 15.000,00 mg; B.H.T. 1.000,00 mg; Biotina 50,00 mg; Manganês 33.300,00 mg; Zinco 25.680,00 mg; Vitamina E 12.430,00 UI/kg.

²Considerando-se a PB e EM dos aminoácidos.

Tabela 2 – Composição percentual e nutritiva das rações experimentais (fase de crescimento)

Ingredientes (kg)	Alto Cálcio			Baixo Cálcio		
	FIT 0	FIT 600	FIT 1200	FIT 0	FIT 600	FIT 1200
Milho	70,22	70,21	70,20	70,24	70,23	70,21
Farelo de Soja	24,55	24,55	24,55	24,54	24,54	24,55
Óleo de Soja	1,62	1,63	1,63	1,62	1,63	1,63
Sal	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Fosfato Bicálcico	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Calcáreo	1,56	1,56	1,56	0,90	0,90	0,90
Metionina	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Lisina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Treonina	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Colina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Premix Min-Vit ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Inerte	-	-	-	0,65	0,65	0,65
Fitase	-	0,006	0,012	-	0,006	0,012
TOTAL	100	100	100	100	100	100
Nutrientes²	Composição Calculada					
EM (kcal/kg)	3103	3103	3103	3103	3103	3103
PB (%)	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50
Cálcio (%)	0,84	0,84	0,84	0,59	0,59	0,59
Fósforo total (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Fósforo disp (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Sódio (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Lisina dig (%)	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07
Met+Cist dig (%)	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Treonina dig (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano dig (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

¹Fornecimento por kg do produto: Vitamina A 4.230.000,00UI/kg; Ferro 24.800,00 mg; Selênio 150,00 mg; Vitamina D3 1.021.000,00UI/kg; Vitamina K3 720,00 mg; Vitamina B1 1.005,00 mg; Vitamina B6 996,00 mg; Ácido Pantotênico 4.700,00 mg; Ácido Fólico 302,00 mg; Cobre 4.280,00 mg; Iodo 500,00 mg; Vitamina B2 1.800,00 mg; Vitamina B12 4.800,00 mcg; Niacina 12.000,00 mg; B.H.T. 1.000,00 mg; Biotina 30,00 mg; Manganês 33.300,00 mg; Zinco 25.680,00 mg; Vitamina E 9.930,00 UI/kg.

²Considerando-se a PB e EM dos aminoácidos.

Tabela 3 – Composição percentual e nutritiva das rações experimentais (fase final)

Ingredientes (kg)	Alto Cálcio			Baixo Cálcio		
	FIT 0	FIT 600	FIT 1200	FIT 0	FIT 600	FIT 1200
Milho	73,75	73,75	73,74	73,76	73,75	73,74
Farelo de Soja	20,27	20,27	20,27	20,26	20,27	20,27
Óleo de Soja	2,42	2,42	2,42	2,42	2,42	2,42
Sal	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Fosfato Bicálcico	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Calcáreo	1,48	1,48	1,48	0,88	0,88	0,88
Metionina	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Lisina	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Treonina	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
Triptofano	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Colina	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Premix Min-Vit ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Inerte	-	-	-	0,60	0,60	0,60
Fitase	-	0,006	0,012	-	0,006	0,012
TOTAL	100	100	100	100	100	100
Nutrientes²	Composição Calculada					
EM (kcal/kg)	3203	3203	3203	3203	3203	3203
PB (%)	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Cálcio (%)	0,78	0,78	0,78	0,54	0,54	0,54
Fósforo total (%)	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Fósforo disp (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Sódio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Lisina dig (%)	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Met+Cist dig (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Treonina dig (%)	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
Triptofano dig (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

¹Fornecimento por kg do produto: Manganês 33.300,00 mg; Vitamina B6 623,00 mg; Niacina 7.500,00 mg; B.H.T. 1.000,00 mg; Vitamina B12 3.000,00 mcg; Ácido Pantotênico 2.940,00 mg; Biotina 15,00 mg; Iodo 500,00 mg; Ácido Fólico 153,00 mg; Vitamina K3 464,00 mg; Zinco 25.680,00 mg; Selênio 150,00 mg; Vitamina A 2.726.000,00 UI/kg; Vitamina D3 658.300,00 UI/kg; Vitamina E 4.990,00 UI/kg; Vitamina B1 502,00 mg; Ferro 24.800,00 mg; Cobre 4.280,00 mg; Vitamina B2 1.125,00 mg.

²Considerando-se a PB e EM dos aminoácidos.

As rações e a água foram fornecidas à vontade e, a luz, durante 24 horas diárias, entre luz natural e artificial. Diariamente foram anotadas as temperaturas máxima e mínima no galpão, cujos valores estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Média das temperaturas diárias mínimas e máximas dentro do galpão

Dia	Temperatura (°C)	
	Mínima	Máxima
1	23	32
2	22	25
3	23	29
4	25	31
5	25	31
6	23	29
7	23	29
8	22	30
9	23	29
10	24	31
11	25	33
12	24	31
13	23	29
14	22	30
15	20	30
16	22	30
17	22	28
18	21	28
19	22	27
20	20	29
21	23	27
22	22	29
23	22	29
24	24	31
25	22	30
26	24	30
27	23	32
28	23	27
29	20	28
30	20	29
31	23	31
32	24	32
33	22	31
34	24	33
35	25	34
36	23	30
37	20	27
38	20	26
39	18	26
40	20	27
41	20	25
42	21	27
Média	22	29

Foram realizadas análises descritivas para as variáveis relacionadas ao desempenho das aves por meio de procedimento PROC MEANS do programa Statistical Analysis System, versão 9.1.3 (SAS, 1995).

Conforme recomendações de Banzatto e Kronka (2006), para as variáveis expressas em porcentagem, utilizou-se a transformação de escala “arco-seno raiz de porcentagem”, procedendo-se à análise de variância e o procedimento para comparações múltiplas com os transformados. Como não houve diferenças entre os resultados em escala transformada e original, optou-se por apresentar os resultados em escala original.

Para avaliação das variáveis avaliadas, segundo os diferentes níveis de cálcio e os níveis de fitase, foi adotado um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 2 x 3, por meio do procedimento PROC GLM do programa citado anteriormente. Nestas análises adotou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + F_j + CF_{ij} + e_{ijk}$$

em que,

Y_{ijk} = valor observado para a variável em estudo na repetição k , do nível de fitase j e do nível de cálcio i ;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

C_i = efeito da i -ésima fonte de cálcio, sendo $i=1$ (alto) e 2 (baixo);

F_j = efeito da j -ésima dose de fitase, sendo $j=1$ (0), 2 (600) e 3 (1200);

CF_{ij} = efeito da interação do nível de cálcio i com o nível de fitase j ;

e_{ijk} = erro experimental associado a variável em estudo na repetição k , do nível de fitase j e do nível de cálcio i , suposto NID $(0, \sigma^2)$.

Para esse modelo estatístico, em caso de somente o efeito principal “níveis de cálcio” apresentar efeito significativo, utilizou-se como procedimento de comparações múltiplas o Teste t de Student. Nos casos em que foi observado somente o efeito principal significativo para “níveis de fitase”, foram realizadas análises de regressão, independentes do nível de cálcio. Para os casos de interações significativas, procederam-se os desdobramentos utilizando-se o Teste F e, quando necessário, foram realizadas ainda análises de regressão para os estudos dos níveis de fitase dentro de cada nível de cálcio. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa anteriormente mencionado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho das aves estão divididos por variáveis (consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e mortalidade) para facilitar o entendimento. Os dados estão apresentados nas tabelas a seguir.

Observa-se que não houve interação entre os níveis de cálcio e de fitase estudados para o consumo de ração (CR) em nenhuma das três fases avaliadas. Porém, foram observados efeitos de cálcio para as fases inicial ($P<0,05$) e final ($P<0,05$), e de fitase para a fase inicial ($P<0,01$) e de crescimento ($P<0,01$). Sendo que, na fase inicial, quanto maior o nível de fitase adicionado na dieta, maior o CR (Gráfico 1), que também foi maior quando o nível de cálcio era baixo (Tabela 6). Para a fase de crescimento, observou-se uma resposta quadrática em função dos níveis de fitase adicionados à dieta (Gráfico 2), e para a fase final, assim como na fase inicial, o CR foi maior quando o nível de cálcio era menor (Tabela 7).

Observa-se ainda que nas fases inicial e de crescimento o consumo foi menor quando não foi adicionada fitase à dieta, provavelmente devido ao baixo nível de fósforo disponível, e à alta relação Ca:P; e nas fases inicial e final, o CR diminuiu quando a relação Ca:P era maior.

Na tabela 5 encontram-se as equações de regressão que melhor descrevem as curvas.

Tabela 5 – Equações de regressão da variável consumo de ração

	Equações de regressão	R ²
1 a 21 dias	$Y = 1,0445 + 0,00021X$	0,32
22 a 35 dias	$Y = 1,7297 + 0,0013X - 0,0000008X^2$	0,23

Gráfico 1 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 2 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Tabela 6 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	1,1113 B	11,51	0,017
0,66	1,2242 A		

Tabela 7 – Consumo de ração por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	1,1832 B	28,57	0,047
0,66	1,4421 A		

Os resultados de consumo de ração do presente trabalho estão de acordo com os encontrados por Qian et al. (1997), que afirmaram que o consumo de ração aumentou com o aumento do nível de fitase na dieta, e diminuiu com o aumento da relação entre cálcio e fósforo.

Watson (2006) também verificou menor consumo de ração por aves recebendo dietas deficientes em cálcio e fósforo, o qual aumentou com a adição de fitase à dieta deficiente.

Brandão et al. (2007), entretanto, encontraram resultados que discordam dos desse trabalho, uma vez que a adição de enzima fitase não influenciou no consumo de ração pelas aves. Resultados semelhantes também foram encontrados por Tejedor et al. (2001); Schoultens et al. (2003); Bonato (2004); Santos (2004) e Vaz (2008). Costa et al. (2007) não verificaram significância no consumo de ração para aves em fase pré-inicial, porém essa variável foi significativa para aves em fase inicial, sendo que os animais que receberam dietas suplementadas com a enzima tiveram menor consumo de ração.

Baixos níveis de fósforo disponível na dieta, segundo Kies et al. (2001), são fatores limitantes do consumo de ração pelas aves.

Para os resultados de ganho de peso (GP) foram observadas interações ($P < 0,01$ para a fase inicial e $P < 0,05$ para as fases de crescimento e final) entre os níveis de cálcio e de fitase para as três fases estudadas. A partir dos gráficos apresentados abaixo (3, 4 e 5) pode-se inferir que a alta relação Ca:P prejudica o GP, pois esse foi menor quando não houve adição de fitase na dieta, ou seja, a quantidade de Pd era baixa, e o nível de cálcio era alto. Ainda, exceto para a fase final, observa-se que os animais que receberam menor quantidade de cálcio na dieta e maior inclusão de fitase, obtiveram maior GP, provavelmente devido ao ajuste da relação Ca:P para 2:1.

As equações de regressão que melhor definem as curvas estão apresentadas na tabela 8.

Tabela 8 – Equações de regressão da variável ganho de peso

	Equações de regressão	R^2		Equações de regressão	R^2
	Alto Cálcio			Baixo Cálcio	
1 a 21 dias	$Y_a = 0,5442 + 0,0004X - 0,00000007X^2$	0,97		$Y_b = 0,7213 + 0,0002X - 0,0000002X^2$	0,90
22 a 35 dias	$Y_a = 0,8911 + 0,0005X - 0,0000002X^2$	0,75		$Y_b = 1,1086 + 0,0001X$	0,66
36 a 42 dias	$Y_a = 0,4643 + 0,00012X$	0,40		$Y_b = 0,540$	0,01

Gráfico 3 – Ganho de peso (kg) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 4 – Ganho de peso (kg) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 5 – Ganho de peso (kg) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Resultados semelhantes foram obtidos por Schouten et al. (2003), trabalhando com frangos de corte até 21 dias de idade, que observaram redução linear do ganho de peso conforme os níveis de cálcio na ração, suplementadas com 500 FTU/kg de fitase, foram aumentados.

Esses dados discordam de Santos (2004); Bonato (2004) e Vaz (2008), que não encontraram diferenças significativas com a suplementação enzimática.

Em estudo com frangos de corte criados até 25 dias de idade, Tejedor et al. (2001) observaram que houve melhora no ganho de peso quando foi adicionada fitase às dietas, mas o ganho de peso não foi afetado com a diminuição dos níveis de cálcio e fósforo.

Brandão et al. (2007) verificaram diferenças significativas no ganho de peso para aves em período de crescimento com a adição de fitase, mas não para aves em período de terminação.

Costa et al. (2007) observaram aumento no ganho de peso para aves que consumiram a dieta suplementada com a enzima, tanto na fase pré-inicial, quanto na inicial. Esses autores ainda sugerem que este aumento no ganho de peso dos animais pode ter ocorrido pela diminuição da viscosidade intestinal das aves, melhorando a digestão e absorção dos nutrientes no trato digestivo destes animais.

Já, Qian et al. (1997), assim como para consumo de ração, encontraram que o ganho de peso aumentou com o aumento do nível de fitase e diminuiu com o aumento da relação Ca:P.

Com relação à conversão alimentar não foi observado nenhum resultado significativo, semelhante à Qian et al. (1997); Schoulten et al. (2003); Santos (2004) e Vaz (2008).

Já, Brandão et al. (2007) encontraram diferenças significativas para as aves em fase de crescimento, mas não encontraram para aquelas em fase de terminação.

Assim como para ganho de peso, Tejedor et al. (2001) verificaram melhora na conversão alimentar das aves que receberam dieta suplementada com fitase, porém a redução dos níveis de cálcio e fósforo não afetaram essa variável.

Em estudo avaliando o desempenho de frangos de corte até os 15 dias, Namkung e Leeson (1999) observaram que as aves que receberam dieta com baixos níveis de fósforo e cálcio, suplementadas com fitase, mostraram resultados semelhante às aquelas que receberam dieta controle em todas as variáveis analisadas.

Já, Pizzolante et al. (2002) não encontraram diferenças significativas nas variáveis de desempenho estudadas em frangos de corte até 21 dias de idade recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio e fitase.

Qian et al. (1997) relatam ainda que o cálcio é um fator chave que influencia a atividade da fitase na mucosa do intestino delgado de aves e ratos (BHANDARI, 1980; WISE, 1983). Esse efeito pode ser confirmado uma vez que a atividade da fitase suplementada às dietas foi diminuída quando a relação Ca:P foi maior. Essa diminuição pode ser explicada: 1) Utilização do fósforo fítico das dietas a base de milho e farelo de soja por frangos de corte é influenciada pelos níveis de cálcio e fósforo na dieta (EDWARDS e VELTMAN, 1983; BALLAM et al., 1984); 2) Ligações extras entre cálcio e fitase formando um complexo insolúvel que é menos acessível à fitase; 3) O excesso de cálcio, provavelmente mais importante, pode suprimir a atividade da fitase competindo por sítios ativos das enzimas (WISE, 1983; POINTILLART et al., 1985).

Para a mortalidade (Mort) foram observadas interações ($P < 0,01$ para as fases inicial e de crescimento e $P < 0,05$ para a fase final) entre os fatores níveis de cálcio e níveis de fitase para todas as fases estudadas (Gráficos 6, 7 e 8). Foram observados os maiores índices de mortalidade para aqueles animais que receberam a dieta com alto nível de cálcio sem adição de fitase e, no geral, os animais que receberam as dietas contendo alto nível de cálcio apresentaram um maior percentual de mortalidade do que os que receberam dietas com baixo nível de cálcio, e a mortalidade foi menor conforme se aumentou a inclusão de fitase na dieta.

Abaixo (Tabela 9) seguem as equações de regressão que melhor explicam as curvas para a mortalidade.

Tabela 9 – Equações de regressão da variável mortalidade

Equações de regressão			R ²	Equações de regressão			R ²
Alto Cálcio				Baixo Cálcio			
1 a 21 dias	Y _a = 15,895-0,028X+0,00001X ²	0,92		Y _b = 1,667		0,42	
22 a 35 dias	Y _a = 15,3437-0,0323X+0,00002X ²	0,88		Y _b = 5-0,0118X+0,000007X ²		0,67	
36 a 42 dias	Y _a = 6.3622-0.0044X	0.39		Y _b = 1.204		0.06

Gráfico 6 – Mortalidade (%) de frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 7 – Mortalidade (%) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 8 - Mortalidade (%) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Essa alta taxa de mortalidade observada nas aves que receberam dieta com alto cálcio e com baixos níveis de fitase deve-se provavelmente à ausência, ou baixa atividade da fitase para aumentar a disponibilidade de fósforo e cálcio, e à alta relação cálcio:fósforo, decorrente disso.

4 CONCLUSÃO

Para as três fases estudadas, conclui-se que os níveis nutricionais de cálcio podem ser reduzidos em 30%, em dietas com níveis reduzidos de fósforo disponível e níveis mínimos de proteína bruta, sem afetar o desempenho, desde que às dietas sejam adicionadas 600FTU/kg de fitase.

REFERÊNCIAS

- BALLAM, G. C.; NELSON, T. S.; KIRBY, L. K. Effect of fiber and phytate source and of calcium and phosphorus level on phytate hydrolysis in the chick. **Poultry Science**, v.63, p.333-338, 1984.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal, SP: FUNEP. 237 p. 2006.
- BONATO, E. L.; ZANELLA, I.; SANTOS, R.; GASPARINI, S. P.; MAGON, L.; ROSA, A. P.; BRITTES, L. P. Uso de enzimas em dietas contendo níveis crescentes de farelo de arroz integral para frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 511-516, 2004.
- BRANDÃO, P.A.; COSTA, F.G.P.; BRANDÃO, J.S.; SILVA, J.H.V. DA. Efeito da adição de fitase em rações de frangos de corte, durante as fases de crescimento e final. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 492-498, 2007.
- CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 1, p. 5 – 15, Mar. 2006.
- 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, n. 3, p. 865-870, 2007.
- DENBOW, D. M.; RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E. T.; YI, Z.; HULET, R. M. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 74, n. 11, p. 1831-1842, 1995.
- EDWARDS JR., H. M.; VELTMANN, J. R. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyscondroplasia in young chicks. **Journal of Nutrition**, v. 113, n. 8, p. 1568-1575, 1983.
- GOMES, P. C.; RUNHO, R. C.; D'AGOSTINI, P.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LOPES, P. S. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1734-1746, 2004. Suplemento, 1.
- 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, n. 6, p. 1769-1774, 2007.
- KIES, A. K.; VAN HEMERT, K. H. F.; SAUER, W. C. Effect of phytase on protein and amino acid digestibility and energy utilization. **World's Poultry Science Journal**, v. 57, p.109-126, 2001.

LAN, G. Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S.; HO, Y. W. Efficacy of supplementation of phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v. 81, n. 10, p. 1522-1532, 2002.

MITCHELL, R. D.; EDWARDS JR., H. M. Effects of phytase and 1,25-Dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. **Poultry Science**, v. 75, n. 1, p. 111-119, 1996.

NAGATA, A.K. **Níveis de energia em rações formuladas com o conceito de proteína ideal e suplementadas com fitase para frangos de corte**. 2007, 198 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1317-1319, 1999.

PIZZOLANTE, C. C.; TEIXEIRA, A. S.; SANTOS, D. C.; BERTECHINI, A. G.; FREITAS, R. T. F.; GARCIA, E. A. Níveis de fitase e de cálcio e desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 2, p. 418-425, 2002.

QIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, v. 76 p. 37-46, 1997.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. Ed. Viçosa, MG: UFV, 141p., 2005.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte, 1998.

SANTOS, L. M. **Níveis de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte recebendo rações com fitase em diferentes fases de criação**. 2008, 105 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

SANTOS, R.; ZANELLA, I.; BONATO, E. L.; ROSA, A. P.; MAGON, L.; GASPAINI, S. P.; BRITTES, L. P. Diminuição dos níveis de cálcio e fósforo em dietas com farelo de arroz integral e enzimas sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 517-521, 2004.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide: basic and statistic**. Cary: SAS, 1995. 1686 p.

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

SCHOULTEN, N. A.; TEIXEIRA, A. S.; SILVA, H. O.; CONTE, A. J.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T. Efeito dos níveis de cálcio da ração suplementada com fitase sobre a

absorção de minerais em frangos de corte de 22 a 42 dias. **Ciência Animal Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 31-37, 2002.

SILVA, Y. L.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T.; FASSANI, E. J.; PEREIRA, C. R. 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, n. 3, p. 840-848, 2006.

SILVA, Y. L.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; ZANGERÔNIMO, M. G.; FIALHO, E. T. Níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte, na fase de 14 a 21 dias de idade. 2. Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 469-477, 2008.

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

VAZ, A. C. N. **Efeito da adição de fitase associada a baixos níveis de proteína bruta e fósforo disponível em rações de frangos de corte**. 2007, 64 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

WATSON, B. C.; MATTHEWS, J. O.; SOUTHERN, L. L.; SHELTON, J. L. The effect of phytase on growth performance and intestinal transit time of broilers fed nutritionally adequate diets and diets deficient in calcium and phosphorus. **Poultry Science**, v. 85, p. 493-497, 2006.

CAPÍTULO III

ENSAIO DE METABOLISMO

RESUMO

DONATO, D. C. Z. Ensaio de metabolismo. In: _____. **Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.** [Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.] 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

Um experimento foi conduzido para avaliar o efeito de rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase, sobre a digestibilidade e a excreção de nutrientes pelas aves e determinar a energia metabolizável aparente corrigida por frangos de corte nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias). Foram conduzidos 3 ensaios de metabolismo, paralelamente ao ensaio de desempenho, utilizando-se 108 pintos de corte machos da linhagem AG Ross 308, por fase, distribuídos em 6 tratamentos, com 6 repetições cada. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de fitase (0, 600 e 1200 FTU/kg) e 2 níveis de cálcio (0,94% e 0,66%; 0,84% e 0,59%; e 0,78% e 0,54% para as fases inicial, de crescimento e final, respectivamente). As rações experimentais ainda tinham níveis reduzidos de fósforo disponível (Pd) e níveis mínimos de proteína bruta (PB). Aos 15, 29 e 36 dias as aves foram transferidas do galpão de alvenaria para as baterias metálicas, respeitando-se os tratamentos e as repetições, onde passaram por um período de 4 dias de adaptação, e 3 dias de coleta de excretas. Neste ensaio avaliou-se a energia metabolizável aparente corrigida (EMAn), o consumo, a excreção e o coeficiente de retenção de nitrogênio (N Ing, N Exc e CR N), fósforo (P Ing, P Exc e CR P) e cálcio (Ca Ing, Ca Exc e CR Ca). Nenhuma resposta significativa foi observada para EMAn na fase inicial. Interações entre os níveis de cálcio e de fitase foram observadas para EMAn nas fases de crescimento ($P < 0,01$) e final ($P < 0,01$), sendo os maiores valores observados para níveis de fitase próximos a 600 FTU/kg, para baixo e alto nível de cálcio, respectivamente. Para o metabolismo de nitrogênio, foram observadas interações entre os níveis de cálcio e fitase para N Ing nas fases de crescimento ($P < 0,01$) e final ($P < 0,01$), N Exc na fase de crescimento ($P < 0,01$) e CR N nas fases de crescimento ($P < 0,01$) e final ($P < 0,05$). Os níveis de fitase influenciaram o N Ing ($P < 0,01$) e N Exc ($P < 0,05$) na fase inicial, e os níveis de cálcio influenciaram o N Ing ($P < 0,05$) na fase inicial. Nenhum resultado foi observado para N Exc na fase final e nem para CR N na fase inicial. De uma maneira geral, a

redução do nível de cálcio associada a 600 FTU/kg de fitase na fase de crescimento, e alto nível de cálcio associado a 1200 FTU/kg de fitase para a fase final, apresentam os melhores resultados. Para o metabolismo de fósforo foram observadas interações entre os níveis de fitase e cálcio estudados para P Ing ($P<0,01$ e $P<0,05$, respectivamente) nas fases inicial e final, e para CR P ($P<0,01$ e $P<0,05$, respectivamente) nas fases inicial e de crescimento. Os níveis de fitase influenciaram o P Ing ($P<0,01$) na fase de crescimento e o CR P ($P<0,05$) na fase final; e os níveis de cálcio influenciaram o P Ing ($P<0,01$) na fase de crescimento. Nenhum resultado significativo foi observado para P Exc em nenhuma das três fases estudadas. A adição de 1200 FTU/kg de fitase à dieta melhora significativamente a retenção de P, seja na fase inicial, associada a um baixo nível de cálcio, ou na fase de crescimento. Para o metabolismo de cálcio foram observadas interações entre os níveis de fósforo e cálcio estudados para Ca Ing ($P<0,01$ para ambas as fases) nas fases de crescimento e final e para CR Ca ($P<0,05$) na fase de crescimento. Os níveis de fitase influenciaram o Ca Ing ($P<0,01$) e o CR Ca ($P<0,01$) na fase inicial; e os níveis de cálcio influenciaram o Ca Ing ($P<0,01$) e o CR Ca ($P<0,01$) na fase inicial, o CR Ca ($P<0,01$) na fase final e o Ca Exc ($P<0,01$) nas três fases estudadas. De uma maneira geral, os melhores resultados foram encontrados com a redução de 30% dos níveis de cálcio associados à adição de 600 FTU/kg de fitase na dieta. Dessa maneira conclui-se que nas fases inicial e de crescimento, a redução do nível de cálcio da ração em 30%, utilizando baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta com adição de 600 FTU/kg de fitase na dieta é adequada para a melhora da EMAn, da retenção de nitrogênio, fósforo e de cálcio. Já, para a fase final a redução do nível de cálcio não é aconselhada, porém a inclusão de 600 FTU/kg de fitase na dieta melhora a EMAn e a retenção de nitrogênio.

Palavras-chave: Avicultura. Enzima. Excreção de minerais. Fósforo disponível. Metabolismo.

ABSTRACT

DONATO, D. C. Z. Metabolism trial. In: _____ **Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.** [Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.] 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

An experiment was carried to evaluate the effect of diets with different calcium levels and supplemented with phytase on broilers digestibility and nutrient excretion and to evaluate the corrected apparent metabolizable energy (AMEn) of broiler chickens in initial (1 to 21 days of age), growing (22 to 35 days of age) and final (36 to 42 days of age) phases. Three metabolism trials were carried, at the same time of performance trial, using 108 male broilers from AG Ross 308 line, per phase, distributed in 6 treatments, with 6 replicates each. A completely randomized design in a 3 X 2 factorial schedule was used, being 3 phytase levels (0, 600 or 1200 FTU/kg) and 2 calcium levels (0.94% and 0.66%; 0.84% and 0.59%; and 0.78% and 0.54% to initial, growing and final phases, respectively). The experimental diets had lower available phosphorus (AP) levels and minimum crude protein (CP) levels. At 15, 29 and 35 days of age the birds were transferred from experimental house to metal batteries, respecting both treatments and replicates, where they passed through a 4 days of adaptation period and 3 days of excrete collection. In this essay were evaluated the corrected apparent metabolizable energy (AMEn), the consumption, excretion and the retention coefficient of nitrogen (N C, N E and N RC), phosphorus (P C, P E and P RC) and calcium (Ca C, Ca E and Ca RC). No significant response was observed to AMEn on initial phase ($P < 0.01$). Interactions among calcium and phytase levels were observed to AMEn on growing ($P < 0.01$) and final ($P < 0.01$) phases, being the higher values observed to phytase levels near to 600 FTU/kg, to low and high calcium levels, respectively. To nitrogen metabolism, it were observed interactions among calcium and phytase levels to N C on growing ($P < 0.01$) and final ($P < 0.01$) phases, N E on growing ($P < 0.01$) phase and N RC on growing ($P < 0.01$) and final ($P < 0.05$) phases. Phytase levels influenced N C ($P < 0.01$) and N E ($P < 0.05$) on initial phase, and calcium levels influenced N C ($P < 0.05$) on initial phase. No significant results were observed to N E on final phase neither to N RC on initial phase. In a general way, the calcium level reduction associated to 600 FTU/kg of phytase on growing phase, and high

calcium level associated to 1200 FTU/kg of phytase on final phase, show the best results. To phosphorus metabolism were observed interactions among calcium and phytase levels to P C ($P<0.01$ and $P<0.05$, respectively) on initial and final phases, and to P RC ($P<0.01$ and $P<0.05$, respectively) on initial and growing phases. Phytase levels influenced P C ($P<0.01$) on growing phase and P RC ($P<0.05$) on final phase; and calcium levels influenced P C ($P<0.01$) on growing phase. No significant results were observed to P E in any of the studied phases. Adding 1200 FTU/kg of phytase to the diet improves P retention, on initial phase, associated to low calcium level, or on growing phase. To calcium metabolism were observed interactions among calcium and phytase levels to Ca C ($P<0.01$ to both phases) on growing and final phases and to Ca RC ($P<0.05$) on growing phase. Phytase levels influenced Ca C ($P<0.01$) and Ca RC on initial phase; and calcium levels influenced Ca C ($P<0.01$) and Ca RC ($P<0.01$) on initial phase, Ca RC on final phase and Ca E ($P<0.01$) on the three studied phases. In a general way, the better results were found reducing calcium levels in 30% associated to 600 FTU/kg of phytase on diet. So, it can be conclude that, on initial and growing phases, calcium levels reduction in 30%, using low AP and CP levels with 600 FTU/kg of phytase on diet is adequate to improve AMEn, N, P and Ca retention. However, to final phase reducing calcium level is not recommended, even so, adding 600 FTU/kg of phytase on diet improves AMEn and N retention.

Key words: Available phosphorus. Enzyme. Minerals excretion. Metabolism. Poultry.

1 INTRODUÇÃO

Visando a redução nos custos de produção, o enfoque das pesquisas atuais tem sido a busca pela melhora na eficiência de utilização de alimentos associada ao menor impacto causado ao ambiente pela concentração da produção animal, baseado no conhecimento da disponibilidade dos nutrientes provenientes dos ingredientes inseridos a uma formulação de ração dentro das exigências nutricionais (MARTINS, 2003).

Existem estratégias que podem diminuir a excreção de nutrientes ao ambiente, sendo a primeira delas a melhora na eficiência alimentar utilizando conceitos como proteína ideal, suplementação com aminoácidos sintéticos, fontes de fósforo disponíveis, vitamina D, promotores de crescimento, formulações próximas aos requerimentos dos animais, granulometria adequada da dieta e rações peletizadas (NAHM, 2002). Outras são melhorar a disponibilidade nutricional dos alimentos suplementando as dietas com enzimas, aumentar a digestibilidade de fibras, avaliar a biodisponibilidade dos nutrientes no alimento e diminuir a ação de fatores antinutricionais (NAHM, 2002).

Reduzir a suplementação de fósforo inorgânico e aumentar a utilização do fósforo fítico pelo animal, pelo uso da enzima fitase, pode resultar na diminuição da excreção de fósforo, sem prejuízo ao desempenho das aves. A fitase exógena tem sido usada com sucesso nas rações de aves para liberar parte do fósforo, cálcio e outros minerais complexados na forma de fitato e, segundo Choct (2006), a fitase aumenta a disponibilidade do fitato entre 25 a 50-70%. Portanto, sua utilização permite melhorar o aproveitamento de nutrientes, como o fósforo, os aminoácidos e a energia dos ingredientes. Segundo Borges et al. (1997), a fitase aumenta a disponibilidade do P em aproximadamente 50%, e reduz a sua excreção fecal e urinária em proporções semelhantes. Em trabalhos recentes, constatou-se ser possível reduzir níveis de nutrientes nas rações, mantendo satisfatoriamente o desempenho das aves e minimizando a excreção de alguns elementos minerais (NAGATA, 2006; SILVA et al., 2006, 2008; GOMIDE et al., 2007; NAGATA et al., 2009).

Com isso, o presente trabalho foi conduzido para avaliar o efeito de rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase, sobre a digestibilidade e a excreção de nutrientes pelas aves e determinar a energia metabolizável aparente corrigida por frangos de corte nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, Estado de São Paulo.

Foram conduzidos, paralelamente ao ensaio de desempenho, três ensaios de metabolismo, nas fases inicial, de crescimento e terminação, utilizando-se 108 pintos de corte, machos, da linhagem AG Ross 308, por fase. As aves foram criadas até 15, 29 e 36 dias, respectivamente, em galpão de alvenaria com piso coberto com maravalha, recebendo os tratamentos experimentais. Nas idades supracitadas, as aves foram transferidas e distribuídas, de acordo com seus tratamentos e repetições, em baterias metálicas, em sala de metabolismo, recebendo luz artificial por 24 horas. As gaiolas eram de aço inoxidável providas de um comedouro linear, bebedouro tipo “nipple” reguláveis e bandejas coletoras de excretas, também de aço inoxidável.

O ensaio de metabolismo compreendeu um período de quatro dias de adaptação e três dias de coleta de excretas (RODRIGUES et al., 2005), utilizando-se a metodologia de coleta total. A coleta de excretas foi realizada em cada unidade experimental, uma vez por dia. No período de coleta, foram instaladas bandejas reservas para evitar a perda de excretas. O consumo de ração, fornecida à vontade a cada unidade experimental durante o período de coleta, foi registrado e as excretas coletadas diariamente foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas em freezer até o final do período de coletas. Foram, então, descongeladas, homogeneizadas, pesadas e retiradas as alíquotas para secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C, até peso constante, sendo em seguida moídas e acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados para posteriores análises laboratoriais de matéria seca, nitrogênio, energia bruta, cálcio e fósforo. As temperaturas máxima e mínima do galpão foram verificadas diariamente durante os períodos experimentais, e estão apresentadas na tabela 10.

Tabela 10 – Média das temperaturas diárias mínimas e máximas dentro do galpão de metabolismo durante as coletas respectivas às fases inicial, de crescimento e final

Fase Inicial		
Dia	Temperatua (°C)	
	Mínima	Máxima
15	19	30
16	19	28
17	22	29
18	22	28
19	20	28
20	20	30
21	24	22
Média	21	28
Fase de Crescimento		
29	17	29
30	19	30
31	22	32
32	23	33
33	20	33
34	25	33
35	21	34
Média	21	32
Fase Final		
36	20	25
37	20	26
38	19	27
39	21	26
40	22	26
41	21	26
42	20	28
Média	20	26

As análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do VNP e na Embrapa de São Carlos. Para determinação da energia bruta das amostras das rações e excretas, foi utilizada a bomba calorimétrica modelo Ika-Werke C5000. O método de Kjeldahl foi utilizado para análise dos teores de nitrogênio das rações e excretas. E para as análises de cálcio e fósforo, foi utilizada a espectrofotometria de absorção atômica.

Para os cálculos dos valores da EMAn (energia metabolizável aparente corrigida) das rações foram utilizadas as fórmulas descritas por Matterson et al. (1965):

$$\text{EMAn da ração (kcal/kg)} = \frac{\text{MS ing} \times \text{EB ração} - \text{MS exc} \times \text{EB exc} - (8,22 \times \text{BN})}{\text{MS ing}}$$

$$BN = \frac{MS \text{ ing} \times \% N \text{ da ração}}{100} - \frac{MS \text{ exc} \times \% N \text{ exc}}{100}$$

Em que:

EMAn = energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio,

MS ing = matéria seca ingerida,

EB = Energia bruta,

MS exc = matéria seca excretada,

EB exc = energia bruta excretada e

BN = balanço de nitrogênio.

Foram realizadas análises descritivas para as variáveis relacionadas ao metabolismo das aves por meio de procedimento PROC MEANS do programa Statistical Analysis System, versão 9.1.3 (SAS, 1995).

Conforme recomendações de Banzatto e Kronka (2006), para as variáveis expressas em porcentagem, utilizou-se a transformação de escala “arco-seno raiz de porcentagem”, procedendo-se à análise de variância e o procedimento para comparações múltiplas com os transformados. Como não houve diferenças entre os resultados em escala transformada e original, optou-se por apresentar os resultados em escala original.

Para avaliação das variáveis avaliadas, segundo os diferentes níveis de cálcio e os níveis de fitase, foi adotado um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 2 x 3, por meio do procedimento PROC GLM do programa citado anteriormente. Nestas análises adotou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + F_j + CF_{ij} + e_{ijk}$$

em que,

Y_{ijk} = valor observado para a variável em estudo na repetição k, do nível de fitase j e do nível de cálcio i;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

C_i = efeito da i-ésima fonte de cálcio, sendo i=1(alto) e 2(baixo);

F_j = efeito da j-ésima dose de fitase, sendo j=1(0), 2(600) e 3(1200);

CF_{ij} = efeito da interação do nível de cálcio i com o nível de fitase j;

e_{ijk} = erro experimental associado a variável em estudo na repetição k, do nível de fitase j e do nível de cálcio i, suposto NID (0, σ^2).

Para esse modelo estatístico, em caso de somente o efeito principal “níveis de cálcio” apresentar efeito significativo, utilizou-se como procedimento de comparações múltiplas o Teste t de Student. Nos casos em que foi observado somente o efeito principal significativo para “níveis de fitase”, foram realizadas análises de regressão, independentes do nível de cálcio. Para os casos de interações significativas, procederam-se os desdobramentos utilizando-se o Teste F e, quando necessário, foram realizadas ainda análises de regressão para os estudos dos níveis de fitase dentro de cada nível de cálcio. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa anteriormente mencionado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada significância para as respostas de energia metabolizável aparente corrigida em função do nitrogênio (EMAn) para a fase inicial. Para as fases de crescimento ($P<0,01$) e final ($P<0,01$) foram observadas interações entre os fatores níveis de cálcio e de fitase (Gráficos 9 e 10). Em ambas as fases a maior EMAn foi obtida com a adição de 600 FTU/kg de fitase, porém, na fase de crescimento ela foi observada quando o nível de cálcio era baixo, e na fase final, quando o nível de cálcio era alto. Ainda, nas fases de crescimento e final, os resultados obtidos para alto cálcio e baixo cálcio, respectivamente, não exibiram padrão de comportamento, sendo as respectivas equações, então, iguais às médias dos resultados.

Na tabela 11 encontram-se as respectivas equações de regressão.

Tabela 11 – Equações de regressão da variável energia metabolizável aparente corrigida (EMAn)

Equações de regressão		R ²	Equações de regressão		R ²
Alto Cálcio			Baixo Cálcio		
22 a 35 dias	$Y_a = 3325$	0,32	$Y_b = 3272 + 0,4674X - 0,0004X^2$		0,43
36 a 42 dias	$Y_a = 3051 + 0,9430X - 0,0006X^2$	0,58	$Y_b = 3214$		0,10

Gráfico 9 - EMAn (kcal/kg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 10 - EMAn (kcal/kg) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Silva et al. (2008) observaram maiores níveis de EMAn nas rações com baixos níveis de PB e de Pd, sugerindo que a suplementação de rações com fitase e aminoácidos sintéticos

permite a redução dos níveis nutricionais de PB, Pd e Ca, além de melhorar os índices energéticos da ração.

Namkung e Leeson (1999) e Ravindran et al. (2001) relataram que, trabalhando com aves de 1 a 15 e de 1 a 28 dias de idade, houve melhora de 1,0% e 2,3% nos valores de EMAn, respectivamente, nas rações com a adição de fitase, em relação às rações sem adição da enzima.

Santos (2008) relatou que a EMAn das aves que receberam níveis reduzidos de cálcio e fósforo disponível foi adequada, não diferindo ou sendo até mesmo superiores ao tratamento-controle, com níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al. (2005).

De acordo com Camden et al. (2001), a adição de fitase em dietas de frangos de corte na fase inicial deveria melhorar os valores de EMAn.

Rocha et al. (2006) não encontraram diferenças entre a EMAn com a suplementação da enzima fitase, em dietas com níveis reduzidos de cálcio e Pd, demonstrando efeito positivo da enzima, reduzindo, porém, até 0,35% o nível de Pd para aves na idade de 1 a 7 dias.

Para a variável consumo de nitrogênio (N Ing) foram observados resultados significativos para os níveis de fitase ($P < 0,01$) e de cálcio ($P < 0,05$) para a fase inicial, e interações entre os níveis de fitase e de cálcio estudados para as fases de crescimento ($P < 0,01$) e final ($P < 0,01$). A tabela 12 contém as respectivas equações de regressão.

Na fase inicial o N Ing foi maior conforme se aumentou a quantidade de fitase na dieta (Gráfico 11), e também foi maior quando o nível de cálcio era de 0,66% (Tabela 13).

Para o período de 22 a 35 dias de idade, não se observou um padrão de comportamento nos resultados obtidos das aves que consumiram a dieta com baixo nível de cálcio, porém, observou-se um decréscimo no N Ing para aquelas que receberam a dieta com alto nível de cálcio conforme se adicionou fitase à dieta (Gráfico 12).

Na fase final, assim como na de crescimento, não se observou um padrão de comportamento para os resultados obtidos das aves que consumiram a dieta com baixo nível de cálcio, e ao contrário do observado na fase anterior, o N Ing aumentou conforme se aumentou a quantidade de fitase na dieta (Gráfico 13).

Tabela 12 – Equações de regressão da variável N Ing (mg/ave/dia)

Equações de regressão		R ²		
1 a 21 dias	Y _a = 2958+0,558X	0,37		
Equações de regressão		R ²	Equações de regressão	R ²
Alto Cálcio			Baixo Cálcio	
22 a 35 dias	Y _a = 4599+0,5767X-0,00109X ²	0,76	Y _b = 4416	0,06
36 a 42 dias	Y _a = 4807+0,4885X	0,46	Y _b = 4977	0,11

Gráfico 11 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 12 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 13 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Tabela 13 – N Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	3161,08 B	10,52	0,029
0,66	3425,43 A		

Silva et al. (2008) relataram redução no N Ing pelas aves que receberam as dietas com níveis reduzidos de PB, Pd e Ca suplementadas com fitase.

Para a excreção de nitrogênio (N Exc) observou-se efeito apenas dos níveis de fitase ($P < 0,05$) para a fase inicial e interação entre os níveis de fitase e de cálcio estudados ($P < 0,01$) para a fase de crescimento. Para a fase final não houveram resultados significativos. As equações de regressão encontram-se na tabela 14.

No período de 1 a 21 dias observou-se uma resposta linear (Gráfico 14), em que conforme se adicionou fitase à dieta maior foi a N Exc. Já, para o período de 22 a 35 dias, não foi observado um padrão de comportamento (Gráfico 15) nos dados referentes aos animais que consumiram a dieta com baixo nível de cálcio, porém, foi observada uma resposta quadrática para aqueles que consumiram a dieta com alto nível de cálcio, sendo que a

excreção foi menor quando se adicionou 1200 FTU/kg de fitase à dieta, e maior com a adição de 600 FTU/kg de fitase.

Tabela 14 – Equações de regressão da variável excreção de nitrogênio (N Exc)

Equações de regressão		R ²
1 a 21 dias	$Y_a = 1051 + 0,223X$	0,24
Equações de regressão		R ²
Alto Cálcio		
22 a 35 dias	$Y_a = 1493 + 1,118X - 0,0010X^2$	0,46
Equações de regressão		R ²
Baixo Cálcio		
	$Y_b = 1600$	0,03

Gráfico 14 – N Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 15 – N Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Estes resultados discordam em parte dos de Gomide (2006) e Silva et al. (2008) que relataram diminuição significativa no consumo e na excreção de nitrogênio em frangos de corte que foram alimentados com rações com os níveis de PB e de Pd reduzidos, suplementadas com fitase.

Silva et al. (2006) não observaram diferenças para a excreção de nitrogênio quando avaliados diferentes níveis de PB e Pd com fitase para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.

Com relação ao coeficiente de retenção de nitrogênio (CR N), não foi observado resultado significativo para a fase inicial. Para as fases de crescimento ($P < 0,01$) e terminação ($P < 0,05$) foram observadas interações entre os níveis de cálcio e de fitase estudados.

Para a fase de crescimento foram observadas respostas quadráticas inversas para os níveis de cálcio alto e baixo (Gráfico 16), sendo que, o maior CR N foi observado para a dieta com alto nível de cálcio quando não foi adicionada fitase, e para a dieta com baixo nível de cálcio quando foi adicionado 600FTU/kg de fitase na dieta.

Para a fase final foram observadas respostas lineares (Gráfico 17), e também inversas, para os níveis de cálcio, sendo crescente conforme se aumentou a adição de fitase na dieta quando esta continha alto nível de cálcio, e decrescente quando esta continha baixo nível de cálcio.

Na tabela 15 encontram-se as equações referentes ao coeficiente de retenção de nitrogênio (CR N).

Tabela 15 – Equações de regressão da variável coeficiente de retenção de nitrogênio (CR N)

Equações de regressão		R ²	Equações de regressão		R ²
Alto Cálcio			Baixo Cálcio		
22 a 35 dias	Y _a = 67,53-0,0198X+0,00001X ²	0,50	Y _b = 60,44+0,0184X-0,00001X ²		0,51
36 a 42 dias	Y _a = 59,97+0,0045X	0,24	Y _b = 62,63-0,0043X		0,20

Gráfico 16 – CR N (%) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 17 – CR N (%) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Concordando com os resultados aqui apresentados, Silva et al. (2008), bem como Ibrahim et al. (1999) constataram que a utilização de N por frangos de corte na fase inicial não parece ser melhorada pela suplementação de fitase. E Camden et al. (2001) relataram que a retenção aparente de N em frangos de corte aumentou com a adição de fitase em rações com níveis de Pd e Ca reduzidos.

De acordo com a literatura, o maior coeficiente de retenção de nitrogênio em rações com níveis reduzidos de PB, podem estar relacionados à adição da enzima fitase. O ácido fítico pode complexar-se com enzimas como tripsina e pepsina (MROZ et al., 1994), formando complexos fitato-proteína ou fitato-mineralproteína (RAVINDRAN e BRYDEN, 1997), podendo interferir na digestibilidade da proteína das rações. Assim, a enzima fitase

hidrolisa a ligação fósforo-proteína aumentando a digestão e absorção de proteínas e aminoácidos (RAVINDRAN e BRYDEN, 1997).

Para o consumo de fósforo (P Ing) observou-se interações entre os níveis de cálcio e os níveis de fitase no período de 1 a 21 dias de idade ($P < 0,01$) e de 36 a 42 dias de idade ($P < 0,05$). No período de 22 a 35 dias de idade foi observado resultado significativo para os níveis de fitase ($P < 0,01$) e de cálcio ($P < 0,01$). As equações de regressão estão apresentadas na tabela 16.

Na fase inicial, para as dietas com baixo nível de cálcio, observa-se um aumento linear no P Ing, conforme aumenta-se a adição de fitase na dieta, e para as dietas com alto nível de cálcio, observa-se uma resposta quadrática, sendo maior o P Ing quando foi adicionada 1200 FTU/kg de fitase na dieta (Gráfico 18).

Na fase de crescimento, independente do nível de cálcio na dieta, a resposta para os níveis de fitase foi quadrática, sendo que o maior P Ing foi observado com 600 FTU/kg de fitase (Gráfico 19). E, com relação aos níveis de cálcio, independente dos níveis de fitase, o P Ing foi maior para as aves que consumiram a dieta com maior nível de cálcio (Tabela 17).

No período entre 36 e 42 dias de idade, as aves que consumiram a dieta com maior nível de cálcio apresentaram maior P Ing do que as que consumiram a dieta com menor nível de cálcio, e em ambos os casos, o P Ing aumentou conforme se aumentou a inclusão de fitase na dieta (Gráfico 20).

Tabela 16 – Equações de regressão da variável consumo de fósforo (P Ing).

Equações de regressão		R ²		
22 a 35 dias	$Y_a = 632 + 0,1742X - 0,0002X^2$	0,47		
Equações de regressão		R ²	Equações de regressão	R ²
Alto Cálcio			Baixo Cálcio	
1 a 21 dias	$Y_a = 427 - 0,2045X + 0,0002X^2$	0,41	$Y_b = 370 + 0,1661X$	0,79
36 a 42 dias	$Y_a = 684 + 0,1163X$	0,67	$Y_b = 641 - 0,068X + 0,0002X^2$	0,68

Gráfico 18 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto

nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Tabela 17 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	649,70 A	6,77	<0,0001
0,66	564,12 B

Gráfico 19 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 20 – P Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Para a variável excreção de fósforo (P Exc) nenhum resultado significativo foi observado para nenhuma das três fases estudadas.

Discordando desses resultados, Wyatt e Harker (1995) observaram redução de 12 a 15% no P excretado quando utilizaram a fitase na dieta das aves.

Silva (2004) relatou redução de mais de 50% na excreção relativa de fósforo, na fase inicial (1 a 21 dias de idade), quando as aves receberam ração com 0,34% de fósforo disponível, suplementada com 500 FTU/kg de ração. E Nagata et al. (2009) observaram redução média de 24,7% de fósforo nas excretas de frangos de corte alimentados com rações contendo níveis reduzidos de PB e de Pd, suplementadas com a enzima fitase.

Silva et al. (2006) observaram que níveis reduzidos de PB, independente dos níveis de Pd, e alto nível de PB associado a níveis reduzidos de Pd e ambos associados à suplementação com fitase, resultam na redução da excreção de P.

Silva (2004) e Gomide (2006) observaram diminuição significativa no consumo e na excreção de fósforo em rações com baixos níveis de proteína bruta e fósforo disponível, suplementadas com fitase, quando comparadas à ração controle, todas contendo 3000 kcal de EMAn/kg.

Com relação ao coeficiente de retenção de fósforo (CR P), foram observadas interações entre os níveis de cálcio e de fitase estudados para as fases inicial ($P < 0,01$) e de crescimento ($P < 0,05$). Para a fase final foi observada resposta apenas para os níveis de fitase ($P < 0,05$). A tabela com as equações de regressão encontra-se abaixo (Tabela 18).

Na fase inicial, os resultados obtidos a partir das aves que receberam a dieta com alto cálcio não exibiram um padrão de comportamento, já os resultados das aves que consumiram a dieta com baixo nível de cálcio apresentaram um comportamento linear crescente, ou seja, o CR P aumentou conforme se aumentou a inclusão de fitase na dieta (Gráfico 21).

A mesma falta de padrão de comportamento observada na fase inicial foi também observada na fase de crescimento, pelos resultados obtidos a partir das aves que receberam a dieta com alto cálcio, porém esses resultados ainda foram maiores do que os obtidos pelas aves que consumiram a dieta com baixo cálcio, que teve uma resposta quadrática, sendo que o menor CR P foi obtido com a inclusão de 1200 FTU/kg de fitase na dieta (Gráfico 22).

Na fase final foi observada uma resposta linear crescente conforme se aumentou os níveis de fitase na dieta (Gráfico 23), independente do nível de cálcio.

Tabela 18 – Equações de regressão da variável coeficiente de retenção de fósforo (CR P)

	Equações de regressão	R ²		
36 a 42 dias	$Y_a = 44,14 + 0,0078X$	0,20		
	Equações de regressão	R ²	Equações de regressão	R ²
	Alto Cálcio		Baixo Cálcio	
1 a 21 dias	$Y_a = 53,38$	0,01	$Y_b = 44,88 + 0,01592X$	0,46
22 a 35 dias	$Y_a = 48,20$	0,06	$Y_b = 39,33 + 0,0263X - 0,00003X^2$	0,58

Gráfico 21 – CR P (%) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 22 – CR P (%) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 23 – CR P (%) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo segundo níveis de fitase na dieta com 0,66% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados).

Silva (2004) relatou melhora de 11,2% no coeficiente de retenção quando as aves receberam ração com 0,34% de fósforo disponível, suplementada com 500 FTU/kg de ração na fase inicial (1 a 21 dias de idade).

Fukayama et al. (2008) relataram que a suplementação com fitase melhorou a digestibilidade do fósforo na dieta com níveis reduzidos de EM, PB, Pd e Ca e promoveu aumento linear no aproveitamento do fósforo. A suplementação com 750 e 1.000 FTU/kg proporcionou coeficientes de digestibilidade superiores aos obtidos com a dieta com níveis reduzidos de EM, PB, Pd e Ca sem suplementação enzimática. Segundo Sebastian et al. (1996), o fato de a fitase quebrar o complexo fitato-mineral libera minerais para absorção, o que reduz sua excreção e aumenta sua digestibilidade.

Já, Oliveira et al. (2008) não observaram efeito da fitase sobre a retenção de P.

Para a variável consumo de cálcio (Ca Ing) observou-se efeito dos níveis de cálcio ($P < 0,01$) e de fitase ($P < 0,01$) na fase inicial e interações entre os níveis de cálcio e de fitase estudados nas fases de crescimento ($P < 0,01$) e final ($P < 0,01$). Na tabela 19 encontram-se as respectivas equações de regressão.

Observa-se que na fase inicial o Ca Ing aumentou conforme aumentou a adição de fitase à dieta (Gráfico 24), isso se deve, provavelmente, à maior disponibilidade de cálcio e fósforo devido à ação da fitase, que influenciou a resposta observada para CR. O Ca Ing na fase inicial também foi maior quando as aves foram alimentadas com a dieta com alto nível de cálcio (Tabela 20), resultado esse já esperado.

Na fase de crescimento não se observou um padrão de comportamento nos resultados obtidos das aves que consumiram a dieta com baixo nível de cálcio, porém o Ca Ing desses animais foi menor do que o das aves que consumiram a dieta com alto nível de cálcio. Ainda, esses resultados apresentaram um comportamento quadrático, sendo que o maior Ca Ing foi observado com a adição de 600 FTU/kg de fitase na dieta (Gráfico 25).

Na fase final o Ca Ing também foi maior para as aves que receberam a dieta com maior nível de cálcio, porém os resultados apresentaram um comportamento quadrático, sendo o Ca Ing maior com a suplementação de 600 FTU/kg de fitase na dieta. Para aquelas que receberam a dieta com baixo nível de cálcio, a resposta foi linear crescente, conforme se aumentou o nível de fitase na dieta (Gráfico 26).

Tabela 19 – Equações de regressão da variável consumo de cálcio (Ca Ing)

Equações de regressão		R ²		
1 a 21 dias		$Y_a = 713 + 0,3425X$	0,64	
Equações de regressão		R ²	Equações de regressão	
Alto Cálcio			Baixo Cálcio	
22 a 35 dias	$Y_a = 1337 + 0,9736X - 0,0010X^2$	0,89	$Y_b = 950,36$	0,40
36 a 42 dias	$Y_a = 1247 + 0,6848X - 0,0004X^2$	0,76	$Y_b = 918 + 0,1734X$	0,57

Gráfico 24 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 25 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 26 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Tabela 20 – Ca Ing (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	1007,46 A	6,18	<0,0001
0,66	828,80 B		

Silva et al. (2008) observaram redução no Ca Ing por aves alimentadas com rações contendo baixos níveis de PB e de Pd, suplementadas com fitase.

Para a excreção de cálcio (Ca Exc) foram observados resultados apenas para os níveis de cálcio ($P < 0,01$ para as três fases), sendo que, nas três fases estudadas, a Ca Exc foi maior quando o nível de cálcio na dieta era maior (Tabelas 21, 22 e 23). Ao contrário do que se esperava, a inclusão de fitase não afetou a Ca Exc.

Tabela 21 – Ca Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	540,47 A	20,38	$<0,0001$
0,66	331,26 B		

Tabela 22 – Ca Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	810,55 A	14,46	$<0,0001$
0,66	496,50 B		

Tabela 23 – Ca Exc (mg/ave/dia) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	977,87 A	13,18	$<0,0001$
0,66	523,07 B		

Discordando dos resultados desse trabalho, Silva et al. (2006) observaram que a fitase foi eficiente em reduzir a excreção de Ca quando associada à baixos níveis de PB e Pd, ou alto nível de PB e baixo nível de Pd.

Os resultados obtidos por Nagata et al. (2009) demonstram que a redução dos níveis de PB, de Pd e de Ca da ração, associada à suplementação de fitase, diminuiu o consumo de cálcio, porém não foi eficiente para diminuir sua excreção, o mesmo foi observado por Silva (2004). Os autores explicam que possivelmente a quantidade ou a concentração da enzima fitase não foi suficiente para romper a ligação fitato-mineral e liberar o cálcio para absorção.

Para o coeficiente de retenção de cálcio (CR Ca) observou-se, resposta significativa para os níveis de cálcio nas fases inicial ($P < 0,01$) e final ($P < 0,01$), de fitase na fase inicial ($P < 0,01$) e uma interação entre os níveis de cálcio e de fitase estudados na fase de crescimento ($P < 0,05$). Na tabela 24 encontram-se as equações de regressão.

Conforme se aumentou a inclusão de fitase na dieta, independente dos níveis de cálcio, aumentou-se o CR Ca na fase inicial (Gráfico 27). Ainda na fase inicial, o CR Ca foi menor quando o nível de cálcio na dieta era menor (Tabela 25).

Durante a fase de crescimento, não foi observado um padrão de comportamento para os resultados das aves que receberam a dieta com baixo nível de cálcio, porém esse foi maior do

que o observado para as aves que receberam a dieta com alto nível de cálcio, que apresentou um comportamento quadrático, com o maior CR Ca quando se adicionou 600 FTU/kg de fitase na dieta (Gráfico 28).

Para a fase final, assim como para a inicial, observou-se que o CR Ca foi maior para as aves que consumiram a dieta com menor nível de cálcio (Tabela 26).

Tabela 24 – Equações de regressão da variável coeficiente de retenção de cálcio (CR Ca)

Equações de regressão			R ²	Equações de regressão			R ²
1 a 21 dias		Y _a = 45,55+0,0112X	0,25				
Equações de regressão			R ²	Equações de regressão			R ²
Alto Cálcio				Baixo Cálcio			
22 a 35 dias	Y _a = 38,93+0,0284X-0,00003X ²	0,59		Y _b = 47,55		0,15

Gráfico 27 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 28 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Tabela 25 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	46,11 B	13,69	<0,0001
0,66	58,43 A		

Tabela 26 – CR Ca (%) por frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de cálcio na dieta com 600 FTU/kg de fitase na dieta

Cálcio	Média	CV	P
0,94	30,04 B	19,10	<0,0001
0,66	48,89 A		

Concordando em parte com os resultados observados nesse trabalho, Oliveira et al. (2008) observaram melhora nos valores de retenção de Ca quando a fitase foi adicionada, refletindo o efeito da hidrólise do fitato, tornando os minerais mais disponíveis para absorção. Estes resultados são semelhantes aos de Tejedor et al. (2001); Viveros et al. (2002) e

Rutherford et al. (2004) que trabalharam com níveis de fósforo não fítico que variaram de 0,33 a 0,37% e níveis de fitase de 0, 500 e 750 FTU/kg de dieta.

Nagata et al. (2009) observaram menores CR Ca quando utilizaram dietas com níveis extremos de PB, suplementadas com fitase, e resultados semelhantes à dieta controle, com a ração com 17% de PB, também suplementada com fitase. Silva (2004) também observou redução do CR Ca, mas somente quando utilizou as rações contendo 19,0% de PB. Os autores ainda inferiram que a fitase não foi eficiente para melhorar o aproveitamento de cálcio ou, possivelmente, a melhora na digestibilidade do cálcio tenha provocado alterações na relação Ca:P, o que poderia ter ocasionado a menor retenção deste mineral.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, conclui-se que, nas fases inicial e de crescimento, a redução do nível de cálcio da ração em 30%, utilizando baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta com adição de 600 FTU/kg de fitase na dieta é adequada para a melhora da EMAn, da retenção de nitrogênio, fósforo e de cálcio. Já, para a fase final, a redução do nível de cálcio não é aconselhada, porém a inclusão de 600 FTU/kg de fitase na dieta melhora a EMAn e a retenção de nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal, SP: FUNEP. 237p. 2006.
- BORGES, F. M. O.; VELOSO, J. A. F.; BAIÃO, N. C.; CARNEIRO, M. I. F. Avaliação de fontes de fósforo para frangos de corte em crescimento, considerando-se o fósforo disponível. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 49, n. 5, p. 629-638, 1997.
- CAMDEN, B. J.; MOREL, P. C. H.; THOMAS, D. V.; RAVINDRAN, V.; BEDFORD, M. R. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 289-297, 2001.
- CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 1, p. 5 – 16, 2006.
- FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; NEME, R.; FERNANDES, J. B. K.; MARCATO, S. M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 629-635, 2008.
- GOMIDE, E.M. **Planos nutricionais com a utilização de aminoácidos e fitase para frangos de corte**. 2006. 109 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- 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, n. 6, p. 1769-1774, 2007.
- IBRAHIM, S.; JACOB, J. P.; BLAIR, R. Phytase supplementation to reduce phosphorus excretion of broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 8, n. 4, p. 414-425, 1999.
- MARTINS, B. A. B. **Determinação da biodisponibilidade relative do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com e sem adição de fitase microbiana à dieta**. 2003, 148 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.
- MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTUZ, N. W.; SINGSEN, E. P. The metabolism energy of feed nutrients for chickens. **Research Report Agricultural Experiment Station Connecticut**, n. 7, p. 3-11. (Research Report, 7), 1965.
- MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; KEMME, P. A. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 1, p. 126-132, 1994.

NAGATA, A. K. **Níveis de energia metabolizável e redução dos níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte: desempenho, digestibilidade e excreção de nutrientes.** Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

NAGATA, A. K.; RODRIGUES, P. B.; RODRIGUES, K. F.; FREITAS, R. T. F.; ALBINO, L. F. T.; FIALHO, E. T. Uso do conceito de proteína ideal em rações com diferentes níveis energéticos, suplementadas com fitase para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 599-605, 2009.

NAHM, K. H. Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 1-16, 2002.

NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1317-1319, 1999.

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

RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Influence of dietary phytic acid and available phosphorus levels on the response of broilers to supplemental natuphos. In: Short Course on Feed Technology, 7., 1997, Ansong, Korea. **Resumes...** Ansong: Korean Society of Animal Nutrition and feedstuffs, 1997.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.; RAVINDRAN, G.; MOREL, P. C. H.; KIES, A. K.; BRYDEN, W. L. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, p. 338-344, 2001.

ROCHA, C.; OPALINSKI, M.; CASTRO, O. S.; MAIORKA, A.; FISCHER DA SILVA, A. V. Impacto da adição de fitase sobre a digestibilidade de dietas pré-iniciais com diferentes DGMs. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2006, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, p. 105, 2006.

RODRIGUES, P. B.; MARTINEZ, R. S.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T. Influência do tempo de coleta e metodologias sobre a digestibilidade e o valor energético de rações para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 882-889, 2005.

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

SANTOS, L. M. **Níveis de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte recebendo rações com fitase em diferentes fases de criação.** 2008, 105 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUË, 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, n. 6, p. 729-736, 1996.

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. 201 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SILVA, Y. L.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T.; FASSANI, E. J.; PEREIRA, C. R. 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, n. 3, p. 840-848, 2006.

SILVA, Y. L.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; ZANGERONIMO, M. G.; FIALHO, E. T. Níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte, na fase de 14 a 21 dias de idade. 2. Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 469-477, 2008.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide**: basic and statistic. Cary: SAS, 1995. 1686 p.

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

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172-1183, 2002.

WYATT, C. L.; HARKER, A. Application of feed enzymes to commercial wheat and barley based poultry feeds. In: California Nutrition Conference, 1995, Davis, EUA. **Proceedings...** University of California, p. 203-211, 1995.

CAPÍTULO IV

MINERALIZAÇÃO ÓSSEA

RESUMO

DONATO, D. C. Z. Mineralização óssea. In: _____ **Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.** [Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.] 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

Um experimento foi realizado para avaliar as quantidades (mg) e porcentagens de matéria mineral (MM T e %MM T), fósforo (P T e %P T) e cálcio (Ca T e %Ca T) nas tíbias de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase, nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias). Foram utilizados 72 frangos de corte machos da linhagem AG Ross 308 por fase, distribuídos em 6 tratamentos, com 6 repetições cada. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de fitase (0, 600 e 1200 FTU/kg) e 2 níveis de cálcio (0,94% e 0,66%; 0,84% e 0,59%; e 0,78% e 0,54% para as fases inicial, de crescimento e final, respectivamente). As rações experimentais ainda tinham níveis reduzidos de fósforo disponível (Pd) e níveis mínimos de proteína bruta (PB). Ao final de cada fase duas aves de cada unidade experimental foram sacrificadas e retiradas suas tíbias esquerdas. Houve interação entre os níveis de cálcio e de fitase apenas para a %MM T na fase inicial ($P < 0,05$), provavelmente devido à maior exigência de minerais para a formação óssea nessa fase. Os níveis de fitase influenciaram de maneira linear crescente o MM T ($P < 0,01$) e a %P T ($P < 0,05$) na fase inicial e o P T ($P < 0,05$) e o Ca T ($P < 0,05$) nas fases inicial e de crescimento; e de maneira quadrática o MM T ($P < 0,01$) e a %MM T ($P < 0,01$) nas fases de crescimento e final. Não foi observada nenhuma resposta significativa para %Ca T. Estes resultados permitem concluir que o nível de cálcio pode ser reduzido em 30% em dietas com níveis reduzidos de Pd e níveis mínimos de PB para frangos de corte de 1 a 42 dias, desde que às dietas sejam adicionadas 1200FTU/kg de fitase.

Palavras-chave: Avicultura. Enzima. Fósforo disponível. Minerais. Tibia.

ABSTRACT

DONATO, D. C. Z. Bone mineralization. In: _____ **Performance, metabolic balance, minerals digestibility and bone mineralization of broiler chickens fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase.** [Desempenho, balanço metabólico, digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.] 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

An experiment was carried to evaluate quantity (mg) and percentages of mineral matter (MM T and % MM T), phosphorus (P T and %P T) and calcium (Ca T and % Ca T) in tibia of broilers fed diets with different calcium levels and supplemented with phytase, on initial phase (1 to 21 days), growing phase (22 to 35 days) and final phase (36 to 42 days). It was used 216 male broilers from Ross line, distributed in 6 treatments, with 6 replicates each. A completely randomized design in a 3 X 2 factorial schedule was used, being 3 phytase levels (0, 600 or 1200 FTU/kg) and 2 calcium levels (0.94% and 0.66%; 0.84% and 0.59%; and 0.78% and 0.54% to initial, growing and final phases, respectively). The experimental diets had lower available phosphorus (AP) levels and minimum crude protein (CP) levels. At each phase end 2 birds of each experimental unit were slaughtered and their left tibia removed. There was interaction among calcium and phytase levels only for %MM T on initial phase ($P<0.05$), probably due to higher mineral requirement to bone forming in this phase. Phytase levels influenced on a linear increasing way the MM T ($P<0.01$) and %P T ($P<0.05$) on initial phase, and P T ($P<0.05$) and Ca T ($P<0.05$) on initial and growing phase; and on a quadratic way the MM T ($P<0.01$) and %MM T ($P<0.01$) on growing and final phase. There was no significant response to %Ca T. These results allowed to conclude that calcium level can be reduced in 30% in diets with lower AP and minimum CP levels to broiler chickens from 1 to 42 days of age, since 1200 FTU/kg of phytase are added to the diet.

Key words: Available phosphorus. Enzyme. Minerals. Poultry. Tibia.

1 INTRODUÇÃO

Na determinação da exigência nutricional de fósforo disponível para aves, é importante considerar que as variáveis relacionadas ao osso são mais sensíveis que as de desempenho Laurentiz (2005). Portanto, deve-se recomendar um nível de fósforo disponível em dietas suficiente para garantir 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 (GOMES et al., 2004). 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 é a principal causa de melhora na porcentagem de cinzas e resistência à quebra (FUKAYAMA et al., 2008).

As características histológicas dos ossos de frangos são afetadas pela adição de fitase à ração (QIAN et al., 1996). Segundo Maynard et al. (1984, apud MUNARO et al., 1996), a prolongada ausência de fósforo ou a forte alteração na proporção Ca:P na dieta animal causa raquitismo nos animais jovens (ossos moles e flexíveis com juntas dilatadas) e osteoporose (ossos duros, mais esponjosos) nos animais adultos. Ração com baixo fósforo não-fítico, suplementada com fitase, proporciona desenvolvimento ósseo similar aos obtidos com a ração suplementada com fósforo inorgânico (SANTOS, 2008). O teor de cinzas na tíbia reflete melhor as variações de macromineiras nas dietas, tais como cálcio e fósforo, sendo, por isso, bastante utilizado em pesquisa (RAVINDRAN et al., 1995, apud SANTOS, 2008).

Schoulten et al. (2003) afirmam que a exigência de cálcio para frangos, em rações com baixo fósforo e suplementadas com fitase, é inferior à exigência normalmente recomendada em tabelas de exigências nutricionais, indicando que a redução do nível de cálcio da ração deve ser proporcional à redução do nível de fósforo, em virtude da utilização da fitase, mantendo-se, dessa forma, uma relação Ca:P adequada. Santos (2008) relata que os melhores resultados são obtidos quando a relação Ca:Pd da dieta aproxima-se ou é mantida em 2:1, e que a mineralização óssea em frangos de corte que recebem rações suplementadas com fitase é afetada pelos níveis de cálcio da ração.

O presente trabalho foi então conduzido com o objetivo de avaliar os teores de cinzas, cálcio e fósforo nas tíbias de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase, nas fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Ao final dos 21, 35 e 42 dias, duas aves de cada unidade experimental do ensaio de metabolismo, foram sacrificadas por deslocamento cervical, sendo retiradas as tíbias esquerdas e descarnadas sem injúria de osso e cartilagem, acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e levadas ao congelador para posterior determinação das cinzas ósseas, cálcio e fósforo, segundo metodologia descrita por Silva (1990). Após descongelamento as tíbias foram devidamente identificadas, acondicionadas em estufas a 105°C por 48 horas para maior higroscopicidade, desengorduradas com éter de petróleo no extrator de gorduras e, após a evaporação do éter, colocadas novamente em estufa a 105°C por 24 horas. Elas foram então pesadas e calcinadas em mufla a 550°C por 12 horas e novamente pesadas após resfriamento em dessecadores. A solução mineral foi obtida após digestão das cinzas ósseas com HCl 1:1. Esse material foi acondicionado em frascos de vidro e enviados à Embrapa de São Carlos para análise de cálcio e fósforo por espectrofotometria de absorção atômica.

Foram realizadas análises descritivas para as variáveis relacionadas à mineralização óssea das aves por meio de procedimento PROC MEANS do programa Statistical Analysis System, versão 9.1.3 (SAS, 1995).

Conforme recomendações de Banzatto e Kronka (2006), para as variáveis expressas em porcentagem, utilizou-se a transformação de escala “arco-seno raiz de porcentagem”, procedendo-se à análise de variância e o procedimento para comparações múltiplas com os transformados. Como não houve diferenças entre os resultados em escala transformada e original, optou-se por apresentar os resultados em escala original.

Para avaliação das variáveis avaliadas, segundo os diferentes níveis de cálcio e os níveis de fitase, foi adotado um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 2 x 3, por meio do procedimento PROC GLM do programa citado anteriormente. Nestas análises adotou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + F_j + CF_{ij} + e_{ijk}$$

em que,

Y_{ijk} = valor observado para a variável em estudo na repetição k, do nível de fitase j e do nível de cálcio i;

μ = constante inerente a todas as observações (média);

C_i = efeito da i-ésima fonte de cálcio, sendo i=1(alto) e 2(baixo);

F_j = efeito da j-ésima dose de fitase, sendo j=1(0), 2(600) e 3(1200);

CF_{ij} = efeito da interação do nível de cálcio i com o nível de fitase j ;

e_{ijk} = erro experimental associado a variável em estudo na repetição k , do nível de fitase j e do nível de cálcio i , suposto NID $(0, \sigma^2)$.

Para esse modelo estatístico, em caso de somente o efeito principal “níveis de cálcio” apresentar efeito significativo, utilizou-se como procedimento de comparações múltiplas o Teste t de Student. Nos casos em que foi observado somente o efeito principal significativo para “níveis de fitase”, foram realizadas análises de regressão, independentes do nível de cálcio. Para os casos de interações significativas, procederam-se os desdobramentos utilizando-se o Teste F e, quando necessário, foram realizadas ainda análises de regressão para os estudos dos níveis de fitase dentro de cada nível de cálcio. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa anteriormente mencionado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de mineralização óssea obtidos nesse trabalho estão apresentados em quantidade (mg) e em porcentagem, uma vez que, em teoria, a porcentagem de minerais nos ossos não deveria se alterar.

Para os resultados de quantidade de matéria mineral na tíbia (MM T) foram observados efeito dos níveis de fitase para as três fases estudadas ($P < 0,01$). As equações de regressão estão apresentadas na tabela 27.

Na fase inicial se observa uma resposta linear crescente em função dos níveis de fitase adicionados à dieta (Gráfico 29), indicando uma eficiência da fitase em disponibilizar minerais na fase de maior exigência do animal.

Já, nas fases de crescimento e final (Gráficos 30 e 31, respectivamente), em que a exigência dos animais para a mineralização óssea é bem menor, a resposta foi quadrática, com as respostas de inclusão de fitase nos níveis de 600 e 1200 FTU/kg bastante semelhantes, indicando que para essas fases um nível entre esses dois níveis supracitados seria suficiente para a melhor mineralização óssea, e a partir desse nível, a quantidade de mineral disponibilizado pela fitase já não é mais utilizada para esse fim.

Tabela 27 – Equações de regressão da variável matéria mineral na tíbia (mg)

	Equações de regressão	R ²
1 a 21 dias	$Y_a = 0,9306 + 0,0001X$	0,28
22 a 35 dias	$Y_a = 2,1433 + 0,0011X - 0,0000006X^2$	0,57
36 a 42 dias	$Y_a = 2,9524 + 0,0013X - 0,0000008X^2$	0,38

Gráfico 29 – MM T (mg) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 30 – MM T (mg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 31 – MM T (mg) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,66% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Com relação à porcentagem de matéria mineral na tíbia (%MM T), observou-se na fase inicial uma interação entre os níveis de cálcio e os de fitase estudados ($P < 0,05$), e efeitos apenas dos níveis de fitase nas fases de crescimento ($P < 0,01$) e final ($P < 0,01$). Na tabela 28 estão apresentadas as equações de regressão.

Os resultados obtidos das aves que consumiram a dieta com baixo nível de cálcio não exibiram um padrão de comportamento, já os resultados das aves que consumiram a dieta com alto nível de cálcio apresentaram um comportamento linear crescente conforme se aumentou o nível de fitase na dieta (Gráfico 32).

Os resultados das fases de crescimento e de terminação (Gráficos 33 e 34, respectivamente) apresentaram o mesmo padrão de comportamento observado no MM T, em que até uma suplementação de fitase entre 600 e 1200 FTU/kg, a fitase foi eficiente em disponibilizar a quantidade de mineral necessária para a mineralização óssea, após esse nível ótimo a quantidade de mineral disponibilizada excedia a exigência do animal para esse fim.

Tabela 28 – Equações de regressão da variável porcentagem de matéria mineral na tíbia (%)

Equações de regressão		R^2		
22 a 35 dias	$Y_a = 38,72 + 0,0062X - 0,000003X^2$	0,41		
36 a 42 dias	$Y_a = 38,21 + 0,0071X - 0,000005X^2$	0,28		
Equações de regressão		R^2	Equações de regressão	R^2
Alto Cálcio			Baixo Cálcio	
01 a 21 dias	$Y_a = 38,16 + 0,0026X$	0,37	$Y_b = 39,73$	0,04

Gráfico 32 – %MM T (%) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade recebendo dietas com dois níveis de cálcio e três níveis de fitase (Ca A-obs – resultados observados para alto nível de cálcio; Ca B-obs – resultados observados para baixo nível de cálcio; Ca A-est – resultados estimados para alto nível de cálcio; Ca B-est – resultados estimados para baixo nível de cálcio)

Gráfico 33 – %MM T (%) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 34 – %MM T (%) de frangos de corte no período de 36 a 42 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,66% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Discordando desses resultados, Santos (2008), trabalhando com níveis de Pd e Ca em dietas para frangos de corte suplementadas com fitase, observou aumento linear na porcentagem de cinzas ósseas à medida que se reduziram os níveis de cálcio na ração das aves aos 21 dias de idade. Aos 35 dias de idade, o mesmo autor, também encontrou que apenas os níveis de Ca influenciaram o teor de cinzas na tíbias, porém de forma quadrática, com o menor teor de cinzas ósseas obtido no nível de 0,64% de Ca na ração. O autor ainda afirma ser possível reduzir os níveis de Ca e Pd até 0,52 e 0,26%, respectivamente, sem afetar a mineralização óssea das aves.

Da mesma maneira que o autor supracitado, Quian et al. (1997) relataram que a mineralização óssea de frangos de corte, submetidos à ração a base de milho e farelo de soja, suplementada com fitase, foi afetada pelos níveis de cálcio na ração, com redução dos teores de cinzas dos ossos, à medida que o nível de cálcio foi elevado. Os mesmos autores também

estimaram que o nível de 0,71% de cálcio na ração resultou na melhor mineralização óssea de frangos de corte de 1 a 21 dias, alimentados com ração com 0,51% de fósforo total e níveis de cálcio variando de 0,56 a 1,02% e suplementada com 600 FTU/kg.

Já, Mitchel e Edwards Junior (1996) verificaram elevação no teor de cinzas da tíbia de frangos de corte aos 21 dias de idade, quando aumentaram o nível de cálcio da ração de 0,63 a 0,99% em rações a base de milho e farelo de soja contendo 0,55% de fósforo total e suplementada com 600 FTU/kg.

Ahmad et al. (2000) observaram aumento nas cinzas das tíbias de frangos de corte aos 28 dias quando utilizaram fitase na dieta com níveis normais de fósforo. Para as dietas com baixos níveis de fósforo, suplementadas com fitase, a porcentagem de cinzas foi semelhante à dieta controle. Outros pesquisadores (BROZ et al., 1994; SEBASTIAN et al., 1996; AHMAD et al., 2000; LAN et al., 2002) também verificaram aumento nas cinzas ósseas das tíbias de frangos decorrente da suplementação com fitase. Ao contrário destes, Oliveira et al. (2008) não encontraram efeito da inclusão de fitase sobre os teores de fósforo e de matéria mineral das tíbias de frangos de corte recebendo dietas com diferentes níveis de Pd e fitase.

Para a variável quantidade de fósforo na tíbia (P T), observou-se efeito dos níveis de fitase para as fases inicial ($P < 0,05$) e de crescimento ($P < 0,05$), e não houve resultado significativo para a fase final. As respectivas equações de regressão estão apresentadas na tabela 29.

Em ambas as fases a resposta para P T foi linear crescente, conforme se aumentou o nível de fitase na dieta (Gráficos 35 e 36), demonstrando que de 1 até os 35 dias a fitase é eficiente em disponibilizar fósforo para sua utilização na composição óssea. A partir dos 35 dias, aparentemente, a exigência de fósforo do animal é suprida apenas com a quantidade existente na dieta.

Tabela 29 – Equações de regressão da variável quantidade de fósforo na tíbia (mg)

	Equações de regressão	R ²
01 a 21 dias	$Y_a = 0,1508 + 0,000031X$	0,24
22 a 35 dias	$Y_a = 0,4789 + 0,00011X$	0,15

Gráfico 35 – P T (mg) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 36 – P T (mg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Com relação à porcentagem de fósforo na tíbia (%P T) se observou resultado significativo apenas durante a fase inicial para os níveis de fitase na dieta ($P < 0,05$). A equação se encontra na tabela 30.

A resposta encontrada também possui um comportamento linear crescente conforme os níveis de inclusão de fitase na dieta (Gráfico 37). Esse resultado se deve, provavelmente, à grande exigência de fósforo pelo animal nessa fase de crescimento acelerado, em que a fitase foi eficiente em disponibilizar esse mineral de tal maneira que alterou a sua porcentagem nos ossos, o que não foi observado nas outras duas fases, ou seja, a porcentagem permaneceu estável.

Tabela 30 – Equação de regressão da variável porcentagem de fósforo na tíbia (%)

	Equação de regressão	R ²
01 a 21 dias	$Y_a = 6,39 + 0,0007X$	0,15

Gráfico 37 – %P T (%) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Para a quantidade de cálcio na tíbia (Ca T) observou-se apenas efeito dos níveis de fitase para as fases inicial ($P < 0,05$) e de crescimento ($P < 0,05$), e não se observou resultado significativo para a fase final. As respectivas equações estão apresentadas na tabela 31.

Em ambas as fases se observou um comportamento linear crescente dos resultados conforme se adicionou fitase às dietas (Gráficos 38 e 39), ou seja, a fitase foi eficiente em disponibilizar cálcio para a mineralização óssea. Assim como para o P T, provavelmente, na fase final, a exigência de Ca para essa finalidade não era maior do que a quantidade existente já disponível na dieta.

Tabela 31 – Equações de regressão da variável quantidade de cálcio na tíbia (mg)

	Equações de regressão	R ²
01 a 21 dias	$Y_a = 0,3615 + 0,000065X$	0,22
22 a 35 dias	$Y_a = 1,05 + 0,00022X$	0,13

Gráfico 38 – Ca T (mg) de frangos de corte no período de 01 a 21 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,80% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Gráfico 39 – Ca T (mg) de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade segundo níveis de fitase na dieta com 0,72% de Ca na dieta (Obs – resultados observados; Est – resultados estimados)

Nenhuma resposta significativa foi observada para a porcentagem de cálcio na tíbia em nenhuma das três fases avaliadas.

Concordando com esses resultados, Fukayama et al. (2008) observaram que no grupo de aves que recebeu a dieta com níveis reduzidos de EM, PB, Pd e Ca, houve menor deposição de matéria mineral, Ca e P nas tíbias dos frangos e maior deposição desses nutrientes com a suplementação de 500 e 750 FTU/kg de ração.

Ahmad et al. (2000) não encontraram diferenças significativas nas concentrações de Ca e P nas cinzas de tíbias de frangos de corte aos 28 dias de idade recebendo dietas com diferentes níveis de fósforo e de fitase. Entretanto, encontraram efeito da fitase sobre a porcentagem desses minerais na matéria seca das tíbias.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que a redução dos níveis de cálcio em 30%, em dietas com níveis reduzidos de fósforo disponível e níveis mínimos de proteína bruta para frangos de corte nas três fases estudadas praticamente não interfere na mineralização óssea, desde que às dietas sejam adicionadas 1200 FTU/kg de fitase.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M.; HAQ, A.; HASAN, Z. Effect of microbial phytase produced from a fungus *aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 103-114, 2000.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal, SP: FUNEP. 237 p. 2006.
- BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN-VOLTZ, A. H.; RYCHEN, G.; SCHULZE, J.; NUNES, C. S. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **British Poultry Science**, v. 35, n. 2, p. 273-280, 1994.
- FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; NEME, R.; FERNANDES, J. B. K.; MARCATO, S. M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 629-635, 2008.
- GOMES, P. C.; RUNHO, R. C.; D'AGOSTINI, P.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LOPES, P. S. 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, n. 6, p. 1734-1746, 2004. Suplemento, 1.
- LAN, G. Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S.; HO, Y. W. Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v. 81, n. 10, p. 1522-1532, 2002.
- LAURENTIZ, A. C. **Manejo nutricional das dietas de frangos de corte na tentativa de reduzir a excreção de alguns minerais de importância ambiental**. 2005, 131 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2005.
- MITCHEL, R. D.; EDWARDS JUNIOR, H. M. Effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. **Poultry Science**, v. 75, n. 1, p. 111-119, 1996.
- MUNARO, F. A.; LÓPEZ, J.; TEIXEIRA, A. S.; LOPEZ, S. E. Efeito da fitase em rações com 15% de farelo de arroz desengordurado no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 5, p. 910-920, 1996.
- OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. H.; GRAVENA, R. A.; BRUNO, L. D. G.; RODRIGUES, E. A.; MORAES, V. M. B. Qualidade óssea de frangos alimentados com dietas com fitase e níveis reduzidos de fósforo disponível. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p. 263-268, 2008.

QIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, v. 76, n. 1, p. 37-46, 1997.

QIAN, H.; VEIT, H. P.; KORNEGAY, E. T.; RAVINDRAN, V.; DENBOW, D. M. Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristics and performances of broilers fed semi-purified diets. **Poultry Science**, v. 75, n. 5, p. 618-626, 1996.

SANTOS, L. M. **Níveis de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte recebendo rações com fitase em diferentes fases de criação**. 2008, 105 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

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

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUË, 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, n. 6, p. 729-736, 1996.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos** (Métodos químicos e biológicos). Viçosa: UFV, 166p. 1990.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide**: basic and statistic. Cary: SAS, 1995. 1686p.