

CARLOS ALEXANDRE GRANGHELLI

**AVALIAÇÃO DE ALTAS DOSES DE FITASE PARA MATRIZES
PESADAS E SEUS EFEITOS SOBRE A QUALIDADE E O
CRESCIMENTO DA PROGÊNIE**

Pirassununga



2020

CARLOS ALEXANDRE GRANGHELLI

Avaliação de altas doses de fitase para matrizes pesadas e seus efeitos sobre a qualidade e o crescimento da progênie

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:
Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:
Nutrição e Produção Animal

Orientador:
Prof. Dra. Cristiane Soares da Silva Araújo

Pirassununga

2020

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 4001
FMVZ

Granghelli, Carlos Alexandre

Avaliação de altas doses de fitase para matrizes pesadas e seus efeitos sobre a qualidade e o crescimento da progênie / Carlos Alexandre Granghelli. – 2020.
88 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2020.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Soares da Silva Araújo.

1. Desempenho. 2. Glicerol. 3. Inositol. 4. Minerais. 5. Qualidade de ovos. I. Título.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação de altas doses de fitase para matrizes pesadas e seus efeitos sobre a qualidade e o crescimento da progênie.", protocolada sob o CEUA nº 9196040614 (10 002060), sob a responsabilidade de **Cristiane Soares da Silva Araújo** e equipe; *Lúcio Francelino Araújo; Ricardo de Albuquerque; Carlos Alexandre Granguelli; Pedro Henrique Mota; Natália Barros Petrolí Ultimi* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 11/02/2016.

We certify that the proposal "Evaluation of superdoses of phytase on broiler breeder performance and subsequent chick quality and growth.", utilizing 216 Birds (216 females), protocol number CEUA 9196040614 (10 002060), under the responsibility of **Cristiane Soares da Silva Araújo** and team; *Lúcio Francelino Araújo; Ricardo de Albuquerque; Carlos Alexandre Granguelli; Pedro Henrique Mota; Natália Barros Petrolí Ultimi* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/11/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2014** a **08/2015** Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Aves** sexo: **Fêmeas** idade: **a** N: **216**

Linhagem: **Cobb** Peso: **a**

Local do experimento:

São Paulo, 26 de novembro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GRANGHELLI, Carlos Alexandre

Título: Avaliação de altas doses de fitase para matrizes pesadas e seus efeitos sobre a qualidade e o crescimento da progênie

Tese 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 Doutor em Ciências

Data: _____ / _____ / _____

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A Deus por tudo que me proporciona na vida.

À minha mãe e meu pai, os quais amo muito, por me apoiarem constantemente e estarem sempre ao meu lado, me ajudando em mais uma conquista.

AGRADECIMENTOS

Chega ao fim mais uma jornada e a conquista de uma grande vitória, a qual não me canso de agradecer primeiramente a Deus pela saúde e coragem concedida.

A meus pais José Henrique e Fernanda, minha irmã Ana Beatriz, cunhado Lucas, meus sobrinhos Laura e Lucas.

Agradeço também a minha família por caminharem comigo nesta jornada.

À Marcela Wolf, pelo carinho, paciência, compreensão e apoio.

À família Tondati e Wolf.

À Professora Cristiane pela orientação, oportunidades proporcionadas, parceria, apoio, paciência, ensinamentos, confiança e amizade.

Aos Professores Ricardo Albuquerque e Lúcio Araujo pela parceria, apoio e amizade.

Ao Professor Marcelo Brisola pela confiança, apoio e incentivo.

Ao Professor Júlio Balieiro pela orientação e ajuda na concretização desta etapa.

Aos meus amigos de experimento: Karoline, Paulo, Brunna, Fabrícia e João.

Ao Professor Michael Persia pela oportunidade de estágio no departamento de Animal and Poultry Science da Virginia Tech e todos membros do Persia's lab: Albaraa, Cooper, Nathaniel, Madison, Rachel, Alyssa.

Aos meus amigos, irmãos Gui e Kari e minha sobrinha Melina, que sempre me apoiaram e estiveram sempre apostos para me ajudar em qualquer problema.

Aos meus amigos de Ribeirão Preto: Lucas, Nicolas, Bruno, Hamilton, Tony, Felipe, André e João.

Aos amigos da Pós graduação do VNP e FZEA, pela companhia, união e momentos de alegria.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Ao departamento de Nutrição e Produção animal VNP.

À capes pela concessão da bolsa de estudo.

Aos funcionários do aviário: Edinho, China, Pedro.

Aos funcionários da fábrica de ração e abatedouro.

Aos todos docentes da Pós graduação do VNP e FZEA.

Aos funcionários do departamento de nutrição e produção animal – VNP João Paulo, Alessandra, Fabia, D. Lúcia e as meninas da limpeza.

A empresa AB Vista pela credibilidade e apoio com a doação das enzimas e recursos financeiros para realização dos experimentos.

Aos membros da banca e suplentes pela disponibilidade e colaboração.

Enfim, a todos que estiveram ao meu lado durante esse período e que de uma forma ou outra contribuíram para a finalização de mais uma etapa de grande importância em minha vida.

RESUMO

GRANGHELLI, C. A. **Avaliação de altas doses de fitase para matrizes pesadas e seus efeitos sobre a qualidade e o crescimento da progênie.** [Evaluation of high doses of phytase for broiler breeder and their effects on the quality and growth of the progeny]. 2020. 88 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020

O objetivo deste estudo foi o de avaliar a influência do uso da enzima fitase, em altas dosagens, em dietas de matrizes de corte sobre a qualidade e o crescimento da progênie. Foram utilizadas 216 reprodutoras pesadas as quais foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos de dezoito repetições de quatro aves cada. As dietas foram isonutritivas, porém foram valorizadas com a redução de 0,16% no nível de cálcio e 0,15% do fósforo disponível e as doses de fitase utilizadas foram de 500; 1500; 4500 FTU/kg. O período experimental foi conduzido de 27 até 50 semanas de idade. A produção e a qualidade dos ovos foram avaliadas a cada quatro semanas. Foi coletada uma amostra de gema de ovo fresca de uma ave/boxe às 35 e 40 semanas de idade das aves. Essas gemas foram usadas para determinar a concentração de inositol, glicerol e minerais. A produção de ovos ($P = 0,06$) foi maior em galinhas alimentadas com 1.500 FTU/kg de fitase quando comparada com aquelas alimentadas com 4.500 FTU / kg de fitase. A inclusão de fitase a 4.500 FTU/kg reduziu o peso do ovo ($P < 0,011$) e a resistência da casca ($P < 0,025$), em comparação com a inclusão de 500 FTU/ kg. O ciclo de produção também influenciou significativamente o peso do ovo ($P < 0,01$), unidade Haugh ($P < 0,01$) e a resistência da casca do ovo ($P < 0,020$). A concentração de inositol na gema diminuiu ($P < 0,01$) e a de glicerol aumentou ($P < 0,01$) com o incremento da dose de fitase de 500 para 4.500 FTU/kg. Em geral, o cálcio (Ca), sódio (Na) e potássio (K) da gema foram influenciados pela dose de fitase x ciclo de produção ($P < 0,01$). A concentração de fósforo (P) na gema foi maior ($P < 0,01$) em galinhas alimentadas com 4.500 ou 500 FTU/kg de fitase quando comparadas com aquelas que receberam 1.500 FTU/kg de fitase, independentemente da idade das aves. Com 48 semanas de idade, os ovos foram coletados e incubados utilizando-se procedimentos padrão. No dia da eclosão, a eclodibilidade dos ovos incubados e a qualidade do pintinho foram determinadas e 18 pintinhos de cada tratamento foram eutanasiados para a coleta do saco vitelino a fim de

se avaliar a concentração de inositol, glicerol e minerais. Os demais pintinhos foram igualmente divididos e distribuídos nos tratamentos experimentais. Assim, 648 aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (dieta recebida pelas matrizes X níveis de fitase para a progênie) totalizando nove tratamentos com seis repetições de 12 aves cada. Nos tratamentos em que o efeito da dieta materna sobre a progênie foi avaliado, as aves receberam uma dieta comum, controle negativo sem a inclusão de fitase, para verificar esses efeitos. Os demais tratamentos foram a dieta controle, acrescida com doses de 500 ou 1500 FTU/kg. As características estudadas no experimento de progênie foram: o peso corporal, o consumo de ração e a conversão alimentar. O aumento da concentração de fitase na dieta das reprodutoras aumentou linearmente ($P < 0,05$) a mortalidade inicial e diminuiu linearmente ($P < 0,05$) a mortalidade final e o número de ovos bicados. A concentração de inositol no saco vitelino elevou-se (quadrático, $P < 0,05$) com o aumento da dose de fitase na dieta da reprodutora. O ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar foram influenciados pela dieta das matrizes ($P < 0,05$). Não houve efeito subsequente da dieta de frangos de corte sobre o desempenho do dia da eclosão até 42 dias de idade. A suplementação de 1.500 FTU/kg na dieta de galinhas reprodutoras aumentou a concentração de Na, magnésio (Mg), K, manganês (Mn) e zinco (Zn) no saco vitelino. Em conclusão, o presente estudo encontrou efeito positivo da nutrição de matrizes pesadas sobre a produção de ovos total de ovos, assim como a concentração de glicerol e minerais na gema de ovos não incubados. Em adicional, melhorou a taxa de crescimento inicial e reduziu a mortalidade embrionária final. Ademais, altas doses de fitase aumentaram a concentração de inositol do saco da gema e disponibilidade de minerais.

Palavra-chave: Desempenho. Glicerol. Inositol. Minerais. Qualidade de ovos.

ABSTRACT

GRANGHELLI, C. A. **Evaluation of high doses of phytase for broiler breeder and their effects on quality and growth of the progeny.** [Avaliação de altas doses de fitase para matrizes pesadas e seus efeitos sobre a qualidade e o crescimento da progênie]. 2020. 88 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

The objective of this study was to evaluate the influence of the use of phytase enzyme, in high dosages, in diets of broiler breeders on quality and growth of progeny. A total of 216 broiler breeders were distributed in a completely randomized design, with three treatments of 18 replicates of four birds each. The diets were isonutritive, however they were valorized with the reduction of 0.16% in the calcium level and 0.15% of the available phosphorus levels and the doses of phytase used were 500, 1500, 4500 FTU/kg. The experimental period was conducted from 27 to 50 weeks of age. The egg production and egg quality were evaluated every four weeks. A sample of fresh egg yolk was collected from one hen/ pen at 35 and 40 weeks of age. These yolks were used to determine the concentration of inositol, glycerol and minerals. The egg production ($P = 0.06$) was greatest in hens fed 1,500 FTU/kg phytase when compared with hens fed 4,500 FTU/kg phytase. The inclusion of phytase at 4,500 FTU/kg reduced egg weight ($P < 0.011$) and eggshell strength ($P < 0.025$), compared to the inclusion of 500 FTU / kg. The cycle of production also significantly influenced egg weight ($P < 0.01$), Haugh unit ($P < 0.01$), eggshell strength ($P < 0.020$). Yolk inositol decreased ($P < 0.01$) and yolk glycerol concentration increased ($P < 0.01$) as phytase dose increased from 500 to 4,500 FTU/kg. In general, yolk calcium (Ca), sodium (Na), and potassium (K) were influenced by phytase dose \times cycle of production ($P < 0.01$). Phosphorus (P) concentration in the yolk was highest ($P < 0.01$) in hens fed 4,500 or 500 FTU/kg phytase when compared with hens fed 1,500 FTU/kg of phytase, regardless of breeder age. At 48 weeks of age, eggs were collected and incubated using standard procedures. On the day of hatching, hatchability and chicks quality were determined and 18 chicks from each treatment were euthanized to collect the yolk sac to determine the concentration of inositol, glycerol and minerals. The remaining chicks were equally divided and distributed in the experimental treatments. Thus, 648 birds were distributed in a completely randomized design in a 3 X 3 factorial scheme (diets received by the

broiler breeders X levels of phytase for the progeny) totaling nine treatments with six replicates of 12 birds each. In the treatments in which the effect of the maternal diet on the progeny was evaluated, the birds received a common diet, negative control no phytase added, to verify these effects. The other treatments were the control diet, increased with levels of 500 or 1500 FTU/kg. The characteristics studied in the progeny trial were: body weight, feed intake, and feed conversion. Increasing phytase concentration in the breeder hen diet linearly ($P < 0.05$) increased the number of early dead and linearly ($P < 0.05$) decreased the number of late dead and pips. Inositol concentration in the yolk sac at day of hatch increased (quadratic, $P < 0.05$) as phytase dose increased in the breeder hen diet. Body weight, feed intake and feed conversion ratio were influence by the breeder hen diet ($P < 0.05$). There was no effect of subsequent broiler chick diet on performance of the day of hatching up to 42 days of age. The supplementation of 1500 FTU/kg in the breeder hen diet increased the concentration of Na, magnesium (Mg), K, manganese (Mn) and zinc (Zn) in the yolk sac. In conclusion, the present study found a positive effect of the nutrition of broiler breeders on the total egg production of eggs, as well as the concentration of glycerol and minerals in yolk (non-incubated eggs). In additional, it improved the initial growth rate and reduced the late dead and pips. Furthermore, higher doses of phytase increased the concentration of inositol and mineral in yolk sac.

Key words: Performance. Glycerol. Inositol. Minerals. Egg quality.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Descrição dos tratamentos experimentais das matrizes de corte	48
Tabela 2-Consumo de ração de matrizes de corte durante o período de 27 a 50 semanas de idade	49
Tabela 3-Composição percentual da dieta basal das matrizes de corte	50
Tabela 4- Influência do uso da fitase e do período produtivo sobre a produção e qualidade de ovos de matrizes de corte durante o período 27 a 50 semanas de idade	54
Tabela 5- Inositol, glicerol e concentração minerais na gema de matrizes de corte, coletadas com 35 e 40 semanas de idade, alimentadas com doses crescentes de fitase no período de 27 a 50 semanas de idade	58
Tabela 6- Descrição dos tratamentos experimentais das matrizes de corte	68
Tabela 7- Composição percentual da dieta basal de matrizes de corte	69
Tabela 8- Descrição dos tratamentos experimentais da progênie.....	70
Tabela 9- Composição percentual da dieta basal inicial e crescimento/ final para frangos de corte	72
Tabela 10- Influência da suplementação de fitase em dieta de matrizes de corte sobre a qualidade da progênie e concentração de nutrientes no saco vitelínico no dia da eclosão	76
Tabela 11- Influência da suplementação de fitase na dieta de matrizes de corte e da progênie e o efeito subsequente sobre o peso corporal e consumo de ração de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade	79
Tabela 12- Influência da suplementação de fitase na dieta de matrizes de corte e da progênie e o efeito subsequente sobre a conversão alimentar em frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade	81
Tabela 13- Influência da dieta de matrizes de corte sobre a concentração de macrominerais e microminerais no saco vitelínico no dia do nascimento	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Interação fitato com minerais e proteínas	22
Figura 2- Degradação do fitato (mio inositol hexafosfato) pela enzima fitase	32

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

%- porcentagem
µl- microlitro
µmol- micromol
Ca- Cálcio
Cd- Cádmo
Co- Cobalto
Cu- Cobre
Fe- Ferro
FTU- Unidade de fitase ativa
g- Gramas
GLUT4- transportador de glicose 4
HCL- ácido clorídrico
HPLC- high performance liquid chromatography
HU- Unidade haugh
I- Iodo
InsP6- fosfato de di-hidrogênio
IP1- monoéster de mioinositol
IP2- difostato de mioinositol
IP3- trifostato de mioinositol
IP4- tetrafostato de mioinositol
IP5- pentafofostato de mioinositol
IP6- hexafofostato de mioinositol
K- Potássio
Kg- quilograma
Kgf- Quilograma-força
Mg- Magnésio
mg- miligrama
min- mínimo
Mn- Manganês
Na- Sódio
NaHCO₃- bicarbonato de sódio
NIRS- near infrared reflectance spectroscopy
nmol- nanomol
°C- graus celsius
P- Fósforo
PIP2- difostato
ppm- parte por milhão
Se- Selênio
TGI- trato gastrintestinal
UI- unidades internacionais
Zn- Zinco

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	17
1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. Características da molécula de ácido fítico.....	21
2.2. Efeitos anti-nutricionais do Fitato	23
2.3. Enzima fitase	26
2.4. Uso de altas dosagens de fitase	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO II	45
1. INTRODUÇÃO	46
2. MATERIAIS E MÉTODOS	48
2.1. Aves, dietas experimentais, delineamento experimental e características do galpão.....	48
2.2. Avaliação do desempenho produtivo e qualidade de ovos	51
2.3. Análise Estatística	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4. CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
CAPÍTULO III	64
1. INTRODUÇÃO	65
2. MATERIAIS E MÉTODOS	66
2.1. Reprodutores	66
2.1.1. Aves, dietas e delineamento experimental.....	67
2.2. Progênie	70
2.2.1. Aves, instalações, dietas e delineamento experimental	70
2.2.2. Características analisadas	73
3. Análise estatística	74
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
5. CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	86

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE FITATO COMO FATOR ANTINUTRICIONAL,
FITASE E SEU USO EM SUPERDOSAGENS EM DIETA DE AVES.

1. INTRODUÇÃO

O principal objetivo de uma granja de matrizes é produzir o maior número possível de ovos com qualidade suficiente para maximizar a eclosão (ARAÚJO et al., 2019) e garantir à progênie a capacidade para enfrentar os desafios iniciais e atingir os alvos de desempenho. O melhoramento genético de matrizes tem ocorrido em função da necessidade de se atender ao mercado, ou seja, a produção de pintinhos que possam responder à produção de uma ave de alto rendimento (RENEMA et al., 2007). Desta forma, a nutrição assume um papel fundamental na fertilidade e eclodibilidade dos ovos (VAN EMOUS et al., 2015).

As reprodutoras apresentam a capacidade de transferir os nutrientes ingeridos por meio da dieta para o embrião (EMAMVERDI et al., 2019). De acordo com Kenny et al. (2004), o desenvolvimento do embrião e também do pintinho, depende diretamente dos nutrientes depositados no ovo e o seu status fisiológico é influenciado pela nutrição da matriz. Estudos prévios demonstraram que a suplementação com macronutrientes (proteína, fonte de proteína, energia, gordura), minerais (Ca, P, Zn, Mn, Se, Mg, I) e vitaminas (A, Complexo B, E, D, K) pode desempenhar um papel fundamental no desempenho da progênie subsequente quando estes nutrientes são suplementados adequadamente na dieta das matrizes (KIDD., 2003; CALINI; SIRRI., 2007).

A busca do equilíbrio entre nutrição e características reprodutivas é um desafio constante enfrentado pelos nutricionistas, que se esforçam na busca de alternativas que possibilitem a formulação de rações mais eficientes e econômicas, uma vez que a alimentação representa cerca de 70% a 80% do custo de produção de aves comerciais. Dessa forma, o melhoramento na eficiência da utilização de matérias-primas e o uso de uma ampla variedade de ingredientes, atualmente considerados de qualidade inferior, possivelmente produzirão os maiores avanços na alimentação animal. A melhoria na digestibilidade dos nutrientes tem sido uma ferramenta importante utilizada nos programas de formulação de rações de modo a permitir condições favoráveis para a máxima expressão do potencial genético das aves, sem que haja elevação nos custos de produção (ARAÚJO et al., 2007). Um método promissor para alcançar essas metas

e que tem recebido grande atenção nos últimos anos é o uso de enzimas exógenas como aditivos.

As enzimas são proteínas com papel muito específico nas reações bioquímicas e se encontram entre as mais notáveis macromoléculas conhecidas em decorrência da sua extraordinária especificidade e do seu poder catalítico. Sob o ponto de vista da nutrição de monogástricos, a viabilidade técnica das enzimas é um marco importante. Neste contexto, pode-se enfatizar o uso da fitase que permite melhor aproveitamento de nutrientes, como o P, os aminoácidos e a energia dos ingredientes vegetais utilizados na alimentação de aves (VIANA et al., 2009). Além disso, pode-se deduzir que a fitase, ao aumentar a biodisponibilidade do P pela hidrólise do ácido fítico, aumenta também a biodisponibilidade de outros minerais ali complexados além de reduzir o impacto ambiental (RAVINDRAN et al., 2006).

A enzima fitase, é estudada e utilizada na formulação de rações para monogástricos com o intuito de disponibilizar nutrientes complexados na molécula de fitato presente nos ingredientes de origem vegetal (DARI, 2004). Pelo fato da fitase endógena apresentar baixa atividade no trato digestório das aves, a suplementação da dieta com fontes microbianas desta enzima tem se mostrado um método eficaz (FUKAYAMA et al., 2006). O P fítico, torna-se um fator antinutricional por complexar-se a ânions, cátions, proteínas e aminoácidos impedindo que o P seja devidamente aproveitado.

Além disto, os problemas ambientais relacionados à utilização da cama de aves têm movido a indústria avícola a rever suas estratégias de manejo do P. A forma mais comum de utilização da cama pelos produtores é a adubação de solos próximos ao aviário. No entanto, quando os nutrientes contidos na cama são superiores à capacidade de incorporação pelas culturas em crescimento, surge, então, um sério problema ambiental. Devido ao fato de haver poucas alternativas de aplicação da cama aviária ao solo, métodos para diminuição de produção e redução de nutrientes na excreta têm sido explorados (PERSIA et al., 2006). Neste contexto, a fitase tornou-se aliada da indústria avícola já que uma vez que a enzima atua quebrando as moléculas de fitato, ocorre a diminuição do impacto ambiental produzido pelo excesso de P que seria excretado em virtude do seu não aproveitamento (BESS et al., 2006). O uso desta

enzima é, também, importante como forma de economizar as reservas brasileiras de P (CASARTELI et al., 2003).

No que se refere ao desempenho, está clara a resposta positiva quando da suplementação da fitase tanto para frangos como para poedeiras. A literatura é rica em informações sobre a utilização da fitase para estas categorias de aves mostrando resultados bastante favoráveis de melhoria do desempenho e redução da excreção de potenciais nutrientes poluentes ao meio ambiente (CONTE et al., 2003; KESHAVARZ., 2003; DILGER et al., 2004; SNOW et al., 2004; WALK; OLUKOSI., 2019; WALK; RAO, 2020). No entanto, pouca informação há para reprodutoras pesadas. Desta maneira, o estudo dos possíveis efeitos da adição de fitase na dieta das matrizes pesadas, em especial em altas dosagens com o intuito de maximizar a hidrólise da molécula de fitato, torna-se bastante pertinente e necessário.

Um trabalho na literatura relata os efeitos da adição de fitase em dietas com níveis marginais de P disponível para matrizes de corte, em que a suplementação da enzima aumentou em 9,8% a produção total de ovos quando comparado com dietas contendo baixo nível de P sem fitase adicionada (BERRY et al., 2003). Contudo, estudos envolvendo o efeito da suplementação de fitase nos pintainhos pós-eclosão são pouco descritos na literatura.

Diante do exposto, nota-se que existe a necessidade de mais informações na literatura demonstrando como a suplementação de uma enzima exógena na dieta de matrizes pode impactar o desempenho e a qualidade pintinho. Sendo assim, a proposta do presente estudo foi a de avaliar o impacto da suplementação de superdoses de fitase em dietas de reprodutoras pesadas sobre o seu desempenho, qualidade de ovos, concentração de minerais, inositol e glicerol em gema fresca e o efeito da suplementação da dieta da maternal sobre a qualidade e desempenho do pintinho e concentração de minerais, inositol e glicerol no saco vitelínico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características da molécula de ácido fítico

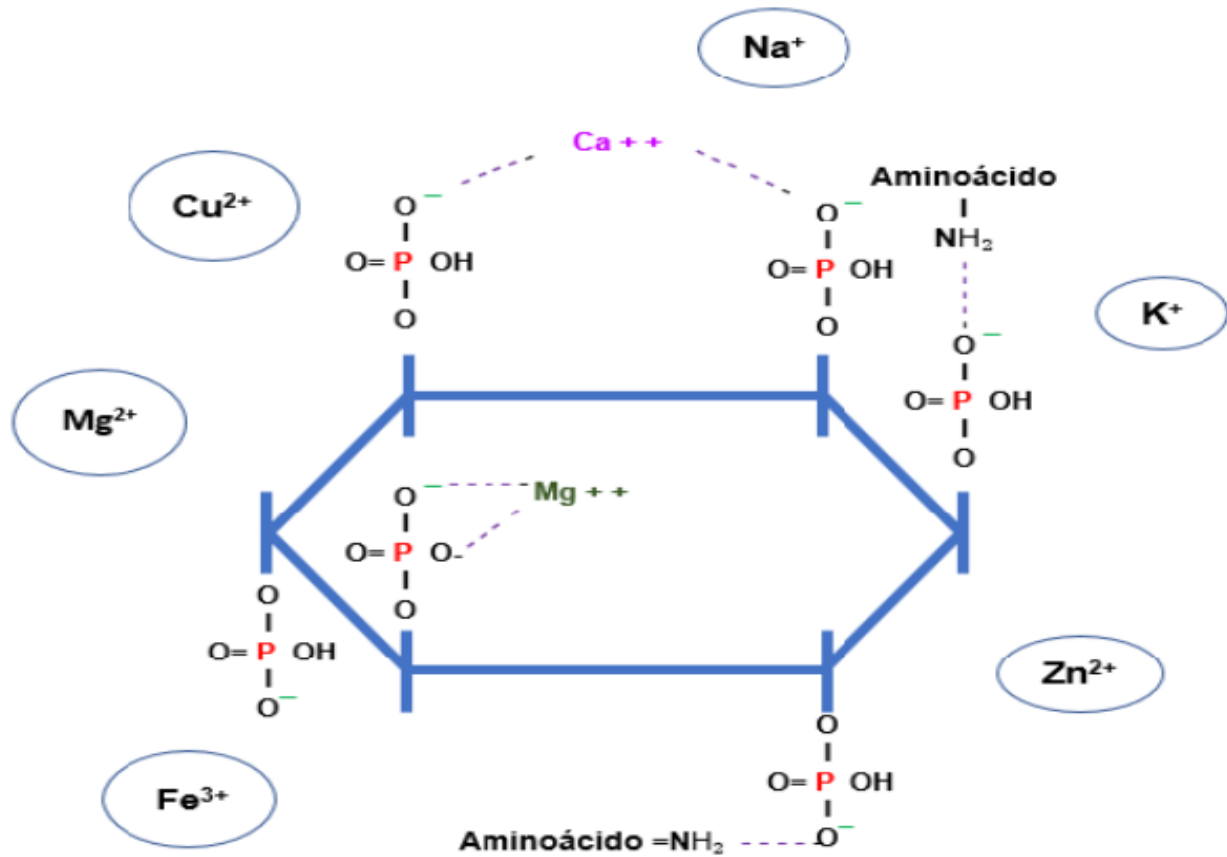
O ácido fítico ou hexafosfato de mioinositol é um complexo orgânico presente nos grãos de cereais, leguminosas, oleaginosas e quando encontrado em forma de sal é chamado de fitato (CONSUEGRO, 1999).

O fitato está naturalmente presente na dieta das aves, pois as rações contêm ingredientes vegetais, destacando-se o milho e o farelo de soja como os mais comuns. Formado por uma mistura de sais de ácido fítico (hexafosfato de mioinositol, IP6), tem peso molecular de 660, uma concentração de P de 282 g/kg que consiste em seis grupos fosfatos ligados à um anel de carbono ($C_6H_{18}O_{24}P_6$) (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010).

A estrutura química do fitato é formada por uma molécula polianiónica (Figura 1). Na sua maioria é encontrado complexado a minerais de carga positiva como: Ca^{2+} , cobre (Cu^{2+}), Ferro (Fe^{2+}), Mg^{2+} e Zn^{2+} e, também, a aminoácidos e esta capacidade torna-se fator antinutricional para o animal, de tal modo que, esses nutrientes ficam indigestíveis (SWICK; IVES, 1992).

Nos ruminantes as moléculas de fitato podem ser decompostas por bactérias durante o processo de fermentação no rúmen, sendo o P liberado e absorvido pelos animais (SANTOS, 2012). Por sua vez, animais não ruminantes, possuem quantidades insuficientes de enzima que degradam o ácido fítico (SILVA et al., 2008).

Figura 1- Interação fitato com minerais e proteínas



Fonte: Adaptado de: IUPAC (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry. Journal biochemistry. Numbering of atoms in myo-inositol: recommendations 1988, p.1).

O fitato tem como principal função fisiológica nos vegetais o armazenamento de nutrientes, em especial P utilizado como futura fonte para o crescimento da planta após germinação (FERREIRA et al., 2015). Quando as condições são ideais para a germinação, as sementes das plantas iniciam crescimento e liberam o P armazenado através de enzimas endógenas específicas, como fitase ou exposição a certos ácidos. O fitato então é decomposto e o P armazenado é transportado para a geração de ATP e auxiliando no transporte de nutrientes nas células das plantas (WODZINSKI; ULLAH 1996).

Existe variação na quantidade de fitato em função da espécie, da idade e do estágio de maturação, cultivar, clima, disponibilidade de água, grau de processamento e quantidade de P no solo, o qual a planta absorve e armazena complexando-o com a

molécula de inositol para formar o ácido fítico (ASADA & KASAI, 1962). Há também uma variação em relação a localização dos fitatos nos grãos de cereais e leguminosas. Nos grãos de milho, está localizado em maior abundância no gérmen. Nos grãos de soja, é encontrado ligado aos compostos proteicos. Já no trigo e na cevada, o fitato se acumula nas camadas externas denominadas aleurona que são ricas em proteínas (WYATT et al., 2004).

Para determinar o fitato na matéria prima, existem diversas metodologias disponíveis, tais como a precipitação pelo cloreto férrico, HPLC (high-performance liquid chromatography) e metodologias enzimáticas, as quais, devido aos altos custos, podem se tornar inviáveis. Além desses métodos, é possível realizar avaliação por NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) (DE BOEVER et al., 1994; SMITH et al., 2001).

2.2. Efeitos anti-nutricionais do Fitato

O P é um importante mineral estrutural presente nos componentes fosfatados das membranas celulares e participa nos processos fisiológicos enzimáticos, na absorção de nutrientes, na mineralização óssea além de ser um dos minerais que mais onera nos custos das rações das aves, sendo que sua suplementação na dieta é feita na forma inorgânica. No entanto, a base das dietas de aves comerciais é constituída por alimentos de origem vegetal e aproximadamente 66% do P está disponível sob a forma de ácido fítico ou fitato (mio-inositol hexafosfato) (SELLE et al., 2007; LELIS et al., 2010).

Naturalmente, o fitato é quimicamente polianiônico, o que permite que ele atue como uma estratégia de armazenamento de nutrientes para sementes de plantas. Essa natureza química faz com que a molécula quelate facilmente com cátions di- e trivalentes, atuando como “armadilha de nutrientes”. Com a atração de se ligar a cátions, o fitato aumentou interações com os minerais, proteínas e carboidratos encontrados nas dietas das aves. As interações dessas moléculas levam à formação de grandes moléculas que prolongam os processos de quebra e digestão. Esses

compostos são conhecidos como binários (fitato-proteína) ou ternário (fitato-mineral-proteína) (SELLE et al., 2000). Dependendo do estado do composto binário ou ternário, eles podem passar pelo trato gastrointestinal (TGI) significativamente não digerido, diminuindo o aproveitamento dos nutrientes que poderiam ter sido absorvidos e utilizados para o crescimento (COWIESON et al., 2006).

Os nutrientes são expostos a uma variedade de níveis de pH à medida que passam pelo trato gastrointestinal (TGI) das aves. Segundo Santos (2012) a solubilidade do fitato e afinidade aos cátions da dieta muda em diferentes níveis de pH, podendo estar relacionado com a constante de dissociação da molécula (pKa), o que significa que concentrações baixas de pH o fitato estará levemente carregado negativamente e em um pH neutro/alcalino ele ficará fortemente carregado negativamente. Em se tratando de uma situação em que o pH for baixo, como ocorre no âmbito estomacal, o fitato formará ligações eletrostáticas com aminoácidos como arginina, lisina e histidina resultando em complexos insolúveis.

O fitato tem a capacidade de se ligar a proteases endógenas, como tripsina e quimotripsina. Com essas enzimas proteolíticas ligadas ao fitato, ocorre redução da interação com nutrientes, diminuindo a digestão de proteínas, em comparação com dietas em que o fitato é hidrolisado por ação enzimática liberando as ligações com essas enzimas proteolíticas (ANDERSON 1985). O fitato também está relacionado com a diminuição de outras enzimas proteolíticas, como pepsina, tripsina e outras amino peptidases localizadas no intestino delgado (LIU et al., 2014). O fato destas proteínas estarem ligadas ao fitato, pode potencialmente diminuir a digestibilidade dos aminoácidos em 3 - 20% (COWIESON et al., 2006). Alguns estudos apontaram que que aminoácidos essenciais como histidina, lisina e arginina têm uma maior afinidade para se ligar ao fitato (COSGROVE, 1966; REDDY et al., 1982). Desta maneira, há redução da digestibilidade das proteínas, exigindo maior gasto de nutrientes com a manutenção do que com o crescimento em aves (NAMKUNG; LEESON, 1999).

Quando o fitato encontra-se em um meio com níveis mais elevados de pH, a molécula pode se ligar quimicamente a minerais, isso se torna um problema, já que os minerais são mais solúveis nestas condições. Quando os minerais formam complexos

com fitato, estas moléculas tornam-se insolúveis e pode ocorrer redução na digestibilidade destes nutrientes (SEBASTIAN et al., 1997).

O Ca tem sido bem estudado em relação ao fitato devido à sua dependência e relação com P. Nelson (1967) descobriu que o fitato pode inibir a absorção de Ca já que é influenciada pela quantidade de P absorvido. Dependendo do pH, das relações intestinal e molar, o fitato tem a capacidade de ligar até a cinco átomos de Ca. Com o fitato ligado a P e Ca, ocorre redução da capacidade da ave em absorver quantidades adequadas de ambos os nutrientes para o crescimento e desenvolvimento, reduzindo assim a sua eficiência produtiva (LIU et al., 2014).

A hidrólise do fitato está ligada à quantidade de Ca presente na dieta. Há uma redução linear na degradação do fitato ileal P e nos níveis de Ca, quando a suplementação de Ca é aumentada de 4,7 para 11,6 g / kg nas dietas de frangos de corte (PLUMSTEAD et al., 2008).

O fitato pode impactar a digestibilidade do Zn. Aves alimentadas com uma fonte inorgânica de Zn, apresentaram digestibilidade reduzida devido à formação de complexos com fitato, em comparação, as aves alimentadas com um complexo orgânico de Zn-metionina, já que o Zn estava ligado a um aminoácido tornando-se indisponível para se juntar ao complexo fitato-Ca (WEDEKIND; HORTIN, 1992).

O fitato pode diminuir a digestão de carboidratos devido sua ligação a enzimas, como amilase. A digestão reduzida de carboidratos pode estar relacionada ao fato de que o fitato pode bloquear competitivamente os locais de fixação de certas enzimas que quebram os açúcares (RAVINDRAN et al., 2001). Ademais, o complexo fitato-Ca também pode se ligar a ácidos graxos devido à natureza divalente do Ca, aumentando a ocorrência sabões lipídicos e redução da energia disponível, pois os lipídios são a principal fonte de energia (RAVINDRAN et al., 2001).

A ligação de nutrientes como proteínas e carboidratos ao fitato aumenta a ocorrência de perdas endógenas. Os complexos proteína-fitato formados no estômago causam secreções gástricas adicionais de pepsina e ácido clorídrico (HCl) como compensação em resposta à proteína intacta no intestino delgado (AUGSPURGER; BAKER, 2004). Esta situação pode reduzir o pH do quimo, que ao seguir para o intestino delgado, poderá ocasionar danos na mucosa. Consequentemente, haverá

aumento da produção de mucinas protetoras, elevando-se o gasto energético dispendido na secreção e perda de aminoácidos devido à baixa digestibilidade do fitato, incrementando as perdas endógenas das aves. Juntamente com a elevação da produção de mucina, ocorre elevação dos níveis de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) para tamponar a acidez do quimo causada pelo excesso HCl . Desta maneira, a ave aumentará a ingestão de Na para atender o aumento da produção de NaHCO_3 , além disso com a depleção dos níveis de Na , ocorre a redução da atividade de transportes de nutrientes que dependem da bomba Na-K-ATPase , como peptídeos e glicose (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

2.3. Enzima fitase

A incorporação das enzimas exógenas na alimentação animal se deve ao potencial que as mesmas possuem de melhorar a digestão e absorção de nutrientes e reduzir os efeitos antinutricionais certos componentes da ração (LESSON, 1999), principalmente quando utilizados ingredientes alternativos. Além disso, as técnicas de biologia molecular tornaram o seu uso viável, do ponto de vista econômico, com isso sua utilização nas dietas de aves tem sido considerada uma alternativa na redução de custos e aumento na eficiência de produção.

As enzimas endógenas são proteínas que catalisam reações químicas nos sistemas biológicos, ou seja, participam da síntese e degradação do metabolismo animal, sem serem elas próprias alteradas nesse processo (CHAMPE, 1989). Já as enzimas exógenas atuam da mesma forma que as endógenas, apresentando um sítio ativo com capacidade de atuar sobre um substrato específico e hidrolisando-o, sob condições favoráveis de temperatura, umidade e pH (PENZ Jr, 1998).

A enzima fitase (mioinositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma fosfatase amplamente estudada e utilizada na formulação de rações para monogástricos com o intuito de disponibilizar nutrientes complexados na molécula de fitato presente nos ingredientes de origem vegetal (DARI, 2004). Sua atividade é expressa por número

unidade de fitase ativa (FTU, ou simplesmente U), definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um μmol de P inorgânico por minuto em condições de temperatura de 37° C; pH 5,5 em substrato de Na (FUKAYAMA et al., 2008; SAKOMURA, 2014).

Primariamente a enzima fitase foi estudada e utilizada no intuito de hidrolisar o fitato e liberar o P, melhorando a disponibilidade para o animal e reduzindo os impactos negativos da excreção de P inorgânico para o meio ambiente (KESHAVARZ et al., 2004; RAVINDRAN et al., 2006). De acordo com Choct (2006) a fitase exógena permite aumentar entre 25 a 70% a disponibilidade do P proveniente do fitato. No entanto, outro importante enfoque do uso da enzima está relacionado com a capacidade da redução dos efeitos antinutricionais do fitato.

As aves possuem fitases endógenas com baixa atividade no trato digestório e a suplementação exógena destas enzimas têm se mostrado um método eficaz (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). A fitase usada para suplementação na dieta pode ser obtida de diferentes fontes, sendo vegetal, bacteriana ou fúngica (FIREMAN; FIRIMAN, 1998). A vegetal, é comumente extraída do trigo e seus subprodutos, devido ao seu alto teor de fitase, mais de 10.000 FTU/kg (LEESON; SUMMERS, 2008). Contudo a fitase intrínseca as plantas possuem baixa capacidade de atuação, é termolábil e inativada em pH ácido, sendo seu emprego em dietas de monogástricos questionável (KONIETZNY; GREINER, 2002). Já as de origem microbiana, podem ser produzidas por fungos (*Saccharomyces cerevisiae*, gênero *Aspergillus*, em especial *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficcum*), bactérias (*Pseudomonas*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) (SEBASTIAN et al., 1998). A fitase de origem microbiana é a mais utilizada na alimentação de monogástricos, devido ao fato ter um amplo espectro de atuação, em faixas de pH entre três e sete, e por ser termoestável até a temperatura de 60°C (FIREMAN; FIREMAN, 1998).

O mecanismo de ação das fitases baseia-se na quebra sequencial e remoção dos fosfatos e ácido fítico a partir do hexafosfato de mio inositol (IP6), penta- (IP5), tetra- (IP4), tri- (IP3), di- (IP2) e monoéster de inositol em ordem decrescente. Assim, em situação ideal, a desfosforilação completa do fitato, disponibilizará o mioinositol,

além de fosfato, aminoácidos, macrominerais e microminerais antes indisponíveis (DERSJANT-LI et al., 2015).

Algumas fitases iniciam o rompimento no grupo fosfato ligado ao carbono-6 (C6) do anel do inositol enquanto outras começam o processo pelo carbono-3 (C3). Portanto, as fitases podem ser divididas em duas categorias de enzimas, de acordo com o local onde é iniciada a hidrólise da molécula de fitato: 3-fitase e 6-fitase, ou seja, iniciam a hidrólise do anel de mio-inositol hexafosfato nas posições 3 e 6, respectivamente (PALLAUF & RIMBACH, 1995). Em um estudo feito comparando 3-fitase e 6-fitase em dietas de frangos de corte, os autores concluíram que ambas produziram efeito semelhante em relação a mineralização óssea (PAYNE et al., 2005).

As diferentes categorias de fitase podem ser influenciadas por diversos fatores incluindo níveis ótimos de pH, estabilidade térmica, propriedades catalíticas, concentrações de Ca, P, relação Ca: P disponível, vitamina D (SILVERSIDES et al., 2004), resistência à protease endógena e afinidade ao substrato fitato (DERSJANT-LI et al., 2015). Levando em consideração todos os fatores, é de se supor que as diferentes fitases tenham liberações de P e de outros nutrientes de formas distintas. Tem sido sugerido que as novas gerações de fitases bacterianas possuem afinidade específica aos diferentes ésteres de fitato (IP6 e IP5) e possuem maior resistência à digestão proteolítica do que a fitase fúngica, que pode em parte, explicar a sua maior eficácia (DERSJANT-LI et al., 2014).

Os estudos mostrando os benefícios do uso da fitase iniciaram na década de 60. Nelson et al. (1968) foram os primeiros a adicionar fitase produzida por uma cultura de *Aspergillus ficuum* em dietas de frangos de corte, obtendo um aumento linear no ganho de peso e conteúdo de cinzas ósseas, concluindo que as aves conseguiram utilizar o P do fitato bem como o P inorgânico. Porém, seu uso só atingiu a escala comercial no final da década de 80, reduzindo seu custo e tornando viável sua utilização nas dietas de monogástricos (CONTE et. al, 2002).

Apesar da intensa utilização das fitases, há ainda grande discussão sobre a efetividade do produto, já que em algumas situações não há benefícios quanto ao seu uso e os resultados são inconsistente, que pode ser causado por fatores como

valorização nutricional incorreta da enzima e, principalmente, pela qualidade e composição dos ingredientes utilizados na dieta (BAO et al., 2013).

Quando usada na forma adequada, a fitase oferece benefícios econômicos por disponibilizar nutrientes ao animal. Neste sentido, tem-se o fósforo que normalmente é suplementado utilizando-se o fosfato bicálcico, que tem um custo elevado, representando de 2,5 a 3,0 % do custo total de uma ração (BORGES, 1997). O P representa o terceiro maior custo nas rações das aves, ficando atrás apenas da proteína e energia metabolizável (TEICHMANN et al., 1998). Além disso, ele é um mineral não renovável na natureza e, em longo prazo, suas fontes inorgânicas podem se esgotar devido ao uso intenso na produção agropecuária (PENZ Jr., 1998). Estudos com frango de corte e poedeiras comerciais mostram o efeito econômico de fitases exógenas na disponibilização de P, quando utilizado 500 FTU/kg e 600 FTU/kg, respectivamente, alcançando uma redução de 30 % de fosfato bicálcico na ração (PLUMSTEAD, 2008; WALK et al., 2013).

Além do P estar relacionado como importante fator econômico nas rações, outro fato a ser considerado é sua relação com problemas ambientais. Com a adição de fosfato inorgânico nas dietas, uma grande quantidade de P consumido é eliminada nas excretas, podendo contaminar o solo e a água, quando os mesmos são utilizados como adubo, em especial em regiões de alta produção de aves e suínos (CARLOS & EDWARDS, 1998). Assim, a adição da enzima fitase proporcionará a redução do nível de P total na ração, diminuindo a sua excreção e, conseqüentemente, a minimizando a poluição ambiental (COSTA et al., 2004).

Muitas pesquisas têm mostrado a eficácia da fitase microbiana em dietas com valorização dos níveis de P disponível, reduzindo os requerimentos de P inorgânico e a sua excreção em frangos de corte (BROZ et al., 1994; CONTE et al., 2003; DILGER et al., 2004; SNOW et al., 2004) e poedeiras (CARLOS; EDWARDS, 1998; BOLING et al., 2000; JALAL; SCHEIDELER, 2001; KESHAVARZ, 2003).

Um estudo realizado para comparar os efeitos de diferentes inclusões de fitase (250 FTU/kg; 500 FTU/kg; 2.500 FTU/kg de ração na dieta), com baixas concentrações de P disponível (28 g/kg na fase inicial e 23 g/kg na fase de crescimento), mostrou que a ingestão de ração e o ganho de peso aumentaram de modo linear em resposta à

dose de fitase quando comparados aos frangos alimentados com a baixa quantidade de P na dieta sem suplementação de fitase. Sendo, aves alimentadas com 2.500 FTU/kg de ração tiveram 6,6% maior ganho de peso e 2,4% maior conversão alimentar quando comparados aos frangos alimentados com 500 FTU/kg de ração (PIRGOZLIEV et al., 2009).

Denbow et al. (1995) trabalharam com 400, 800, 1.200 FTU/Kg em dietas para frangos contendo 0,20; 0,27 ou 0,34% de P não fítico. Foi observado aumento no ganho de peso e no consumo de ração em todos os níveis de P disponível, mas a máxima resposta foi obtida com a dieta que continha 0,20% de P não fítico.

Segundo Donato et al, (2011) melhorias no ganho de peso e no consumo de ração de frangos suplementados com 1.200 FTU/kg de fitase e com 30% de redução nos níveis de Ca e P disponível e níveis mínimos de proteína bruta (18,5%). Porém, nenhum resultado foi observado para a conversão alimentar.

BOLING et al. (2000) não encontraram diferenças significativas na produção de ovos de poedeiras de 20 a 60 semanas de idade alimentadas com dietas contendo 0,10% de P disponível e 300 FTU de fitase/kg de ração, quando comparadas com aves que foram alimentadas com dieta controle contendo 0,45% de P disponível e sem suplementação de fitase. Efeito positivo da adição de 300 FTU de fitase/kg de ração contendo 0,10% de P disponível também foi observado por BERRY et al. (2003), em um estudo com matrizes de frango de corte com idade de 27 a 60 semanas de idade. A adição de 300 FTU de fitase/kg em dieta com 0,10% de P disponível promoveu um aumento de 8,9% na produção de ovos em relação à dieta com o mesmo nível de P disponível e sem adição da enzima. Além disso, a suplementação de fitase proporcionou queda na mortalidade dos ovos embrionados, porém, não influenciou no peso dos ovos.

KESHAVARZ (2003), avaliando a qualidade dos ovos de quatro diferentes linhagens de poedeiras comerciais consumindo dietas com diferentes níveis de P disponível (0,45; 0,25; 0,20; 0,15 e 0,10%) e suplementadas com 150 e 300 FTU de fitase/kg de ração, verificaram que mesmo no nível de 0,10% de P disponível não ocorreu diferença significativa na gravidade específica em relação à dieta controle (0,45% de P disponível). Por outro lado, os autores observaram melhora na gravidade

específica quando utilizou o nível de 0,20% de P disponível independentemente do nível de fitase e da linhagem estudada.

A suplementação da fitase também pode melhorar a concentração de minerais na gema. Soto-Salanova e Santos (2013) avaliaram em poedeiras de 26 semanas de idade, dietas com 0,30% ou 0,10% P disponível e inclusão de 300 FTU/Kg e 1500 FTU/Kg de fitase. Foi observada maior concentração de Ca, P, Zn e Fe na gema, nas aves suplementadas com 1500 FTU/Kg na dieta.

2.4. Uso de altas dosagens de fitase

As fitases podem ser utilizadas como estratégia nutricional para reduzir a inclusão de alguns ingredientes, diminuir o custo da formulação de ração, a excreção de nutrientes ao ambiente e melhora a disponibilidade de P fítico. Esta enzima é utilizada na indústria avícola há décadas como ferramenta para os nutricionistas visando melhora no aproveitamento do P, porém os efeitos extra fosfóricos são cada vez mais evidentes e desejados (SELLE et al., 2009; VIVEROS et al., 2002).

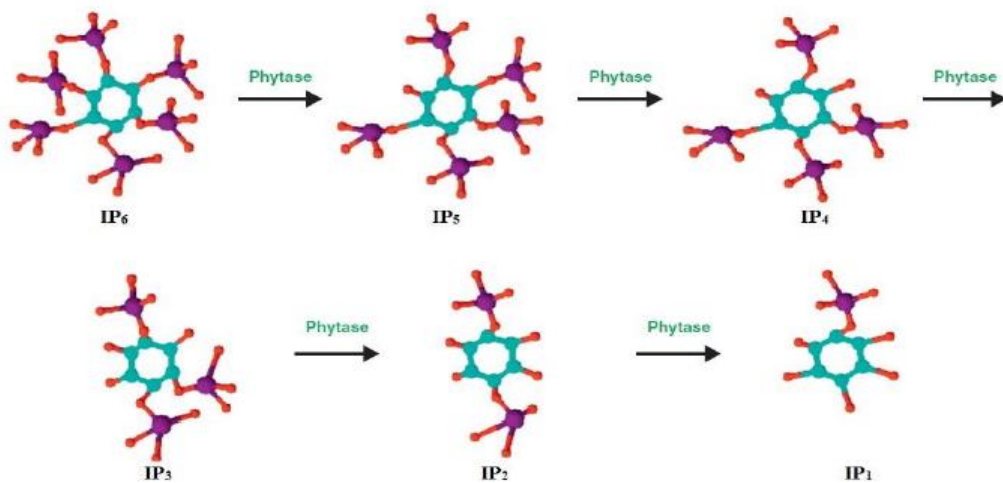
Em relação as características do fitato, houve uma maior compreensão dos efeitos dos fatores antinutricionais, apontando sua interação com outras substâncias como minerais, amido e proteínas podendo reduzir ou mesmo indisponibilizar estes nutrientes aos animais, além de aumentar as perdas endógenas devido à elevação no *turnover* dos enterócitos e da secreção de mucinas, ocorrendo um aumento no catabolismo e do requerimento energético (ANGEL et al., 2002; KONIETZNY ET AL., 2002; COWIESON et al., 2004; COWIESON et al, 2006; SELLE et al., 2007; SANTOS et al., 2012).

Em doses usuais, a fitase não consegue hidrolisar completamente o fitato presente na ração de maneira eficiente. Desta maneira, surgiu o conceito de utilização de altas doses de fitase com o intuito de maximizar a hidrólise da molécula de fitato. Este fato proporcionou ganhos adicionais no desempenho das aves, que vão muito além da simples liberação de Ca e P normalmente observadas quando se utiliza doses convencionais. A partir desta descoberta, diferentes estudos apontaram melhor

entendimento da eliminação do fitato nas dietas por meio de altas dosagens de fitase, bem como a qualidade e a quantidade de enzima necessária para obtenção dos diferentes benefícios associados a esta estratégia (COWIESON; WILCOCK; BEDFORD, 2011).

Conforme demonstrado na figura 2, altas dosagens de fitase resultaram na hidrólise quase completa do IP6 bem como aumento das concentrações de inositol na moela, melhoria do ganho de peso, da conversão alimentar (WALK, et al., 2014) e uma redução na concentração de fitato da digesta ileal (WALK et al., 2018) de frangos de corte.

Figura 2- Degradação do fitato (mio inositol hexafosfato) pela enzima fitase



Fonte: (adaptado de KEBREAB et al., 2012).

O mio inositol ou inositol é uma molécula de poliálcool cíclico, com uma fórmula semelhante à glicose, que compõe a molécula fitato. O papel do inositol na nutrição de aves não é claro e é uma área ativa de pesquisa. No entanto, verificou-se que o inositol possui propriedades e funções metabólicas semelhantes à insulina, estimulando a translocação de GLUT4, que é o principal transportador de glicose sensível à insulina em mamíferos, para a membrana plasmática. Isso sugere que ele pode regular o transporte de glicose, a gliconeogênese e a deposição de proteínas em mamíferos (DANG et al., 2010; YAMASHITA et al., 2013).

Pesquisas confirmam que de fato, o mio inositol administrado por via oral demonstrou melhorar o desempenho de frangos de corte (Cowieson et al., 2013; Zyla et al., 2013). Outro ponto importante é a relação do mio inositol aumentando os níveis de vitamina A, vitamina E e coenzima Q10, desempenhando um papel importante no transporte de lipídeos, como antioxidante e no metabolismo de energia (HUBER, 2016).

Desta maneira, a dose de 24.000 FTU/kg de fitase para dietas deficientes em P resultou em melhora do desempenho de frangos de corte comparado com os que consumiram dietas com doses mais baixas de fitase (<1.000 FTU/kg). As aves apresentaram maior porcentagem de cinza de tibia bem como maior utilização de aminoácidos e minerais quando as dietas apresentaram alta inclusão de fitase (Cowieson et al., 2006).

Olukosi et al. (2013) realizaram um experimento testando a eficácia da fitase bacteriana na inclusão de 500, 1.000 e 2.000 FTU/kg em dietas com níveis reduzidos de P (2.2 g/kg P disponível) para frangos de corte. Os tratamentos com fitase produziram um aumento significativo no desaparecimento do ácido fítico e na retenção de P. A maior retenção de P foi apoiada pela melhora da porcentagem cinza de tibia. Além disso, observou-se melhora na digestibilidade ileal em 36 kcal/kg para frangos de corte alimentados com dieta com inclusão de fitase 2.000 FTU quando comparado com frangos alimentados com dieta sem suplementação de fitase.

Walk et al. (2013) verificaram que a utilização de superdoses de fitase a 1.500 FTU/kg para frangos de corte criados até 49 dias, melhoraram seu crescimento, desempenho e taxa de conversão alimentar em comparação com as aves alimentadas com dietas adequadas ou reduzidas em P. Em outro estudo, Walk et al. (2014) demonstraram que, com a inclusão de fitase em 1.000 FTU/kg ou 1.500 FTU/kg, houve maior concentração de inositol na moela das aves, que esteve correlacionada com o melhor desempenho das mesmas.

Shirley et al. (2003) observaram que a fitase suplementada a 12.000 FTU/kg de fitato, foi capaz de hidrolisar 95% do P fítico, o que, por sua vez, aumentou a retenção total de P para 80%. Além disto, houve aumento da energia metabolizável aparente de 3216 para 3415 kcal/kg, incremento do percentual de P ósseo em 20% e do P

plasmático de quase 5mg/100mL. Desta maneira, o ganho de peso foi melhorado em frangos de corte que receberam baixo P e alta inclusão de fitase.

Zeller et al. (2015) realizaram um experimento utilizando a dose de 12.500 FTU/kg em dieta de frangos de corte, mas o experimento foi focado no mecanismo de liberação do inositol a partir da destruição do fitato. Nesta dose, as aves apresentaram maior resposta na liberação de fosfato de isômeros de inositol especificamente mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis (fosfato de di-hidrogênio) (InsP6). A maior liberação e degradação desses isômeros de inositol levaram a um aumento na absorção e retenção de P em frangos de corte aos 24 dias de idade. Quando os pintainhos foram alimentados com dieta contendo fitato, deficiente em aminoácidos e suplementada com a dose mais alta de fitase (12.500 FTU/kg), houve melhoria da conversão alimentar e da digestibilidade verdadeira dos aminoácidos. Este fato apoia a hipótese de que a fitase estaria liberando os grupos P do anel inositol, sendo que as proteínas ligadas ao fitato são liberadas e tornando-se disponíveis para interagir com as enzimas digestivas (Biehl e Baker 1997).

Melhorias na digestibilidade aparente de aminoácidos em frangos de corte 1- 42 dias de idade foram observadas em aves submetidas a dietas com redução de P disponível (12 a 22%) e suplementadas com 2.000 FTU/kg de fitase em comparação ao grupo suplementado com 500 FTU/kg na mesma redução dietética de P. Em adicional os autores concluíram que o peso corporal, conversão alimentar e consumo de ração foram semelhantes ao grupo controle positivo e melhores que a suplementação de 500 FTU/kg (PIENIAZEK et al., 2017).

Estudo realizado para avaliar aumento gradual nas doses de fitase (0, 2.000 e 4.000 FTU/kg) na dieta de frangos de corte com alto fitato. Estes autores mostraram que as aves alimentadas com a dieta de controle negativo (Redução de 0,22% Ca, 0,20% P disponível, 120 kcal/kg e aminoácidos de 1 até 5%), acrescida com a dose de 4000 FTU/kg tiveram melhor ganho de peso comparado ao grupo controle positivo. Em adicional os menos autores observaram que o aumento das doses de fitase proporcionou uma redução linear na concentração de fitato e uma aumento linear de inositol e hidrolise do fitato (WALK; OLUKOSI, 2019). Outro experimento também avaliando altas doses de fitato (0,24, 0,345 e 0.45 %) e quatro doses de fitase (0, 500,

1.000 e 2.000 FTU/kg), com redução de 0,22 % de Ca, 0,20 % fósforo disponível, energia (80 até 120 kcal/kg) e aminoácidos (1 até 5 %), observaram que o aumento da suplementação de fitase proporcionou resposta máxima em melhorias no consumo de ração, peso corporal e eficiência alimentar. Em adicional a suplementação de fitase nas doses 822 ou >2.000 FTU/ kg melhorou o peso e porcentagem de cinzas da tíbia (Walk. C. L; Rao, S. V. R., 2020).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, P.A. Interactions between proteins and constituents that affect protein quality. in: Digestibility and Amino Acid Availability in Cereals and Oilseeds. G.W. Finley and D. T. Hopkins, ed. **American Association of Cereal Chemists**, St. Paul, MN, p. 31-46, 1985.
- ANGEL, R.; TAMIM, N.M.; APPLGATE, T.J.; DHANDU, A.S.; ELLESTAD, L.E. Phytic Acid Chemistry: Influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal App. Poul. Res**, v. 11, n. 4, p. 471-480, 2002.
- ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M.R.; LIMA, C. B. Uso de Aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.
- ARAÚJO, L.F.; ZANETTI, M. A. Nutrição Animal: Minerais. 1ed. Barueri-SP: Manole, 2019.
- ASADA. K.; KASAI, Z. Formation of myo-inositol and phytin in ripening rice grain. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 3, p.397, 1962.
- AUGSPURGER, N. R.; BAKER, D. H. High dietary phytase levels maximize phytate-phosphorus utilization but do not affect protein utilization in chicks fed phosphorus- or amino acid-deficient diets. **Journal of Animal Science**, v.82, n 4, p. 1100–1107, 2004.
- BAO, Y. M.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A. J. Functional patterns of exogenous enzymes in different feed ingredients. **World's Poultry Science Journal**, v.69, p. 759-774, 2013.
- BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Ed). **Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd ed. Wallingford: CABI, 2010.
- BERRY, W.D., HESS, J.B., LIEN, R.J., ROLAND, D.A. Egg production, fertility, and hatchability of breeder hens receiving dietary phytase. **Poultry Science**, v. 12, p. 264-270, 2003.
- BESS, F.; ROSA, A. P.; KRABBE, E. L.; SOUZA, T. B. S.; FAVERO, A. Efeito da adição de fitase sobre a percentagem de postura e densidade de ovos em matrizes de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Santos, supl.8, p. 106, 2006.
- BIEHL, R. R., & BAKER, D. H. Microbial phytase improves amino acid utilization in young chicks fed diets based on soybean meal but not diets based on peanut meal. **Poultry Science**, v.76, n.2, p.355–360,1997.
- BOLING, S. D.; DOUGLAS, M. W.; SHIRLEY, R. B.; PARSONS, C. M.; KOELKEBECK, K. W. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 3-4, p. 535-538, 2000.

- BORGES, F. M. O. Utilização de enzimas em dietas avícolas. In: **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n. 20, p. 5-30, 1997.
- BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN-VOLTZ, A. H.; RYCHEN, G.; SCHULZE, J.; SIMOES NUNES, C. Effect of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, n. 1- 2, p. 273-280, 1994.
- CALINI, F.; SIRRI, F. Breeder nutrition and offspring performance. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, p. 77 – 83, 2007.
- CARLOS, A. B.; EDWARDS JR., H. M. The effects of 1,25-Dihydroxycholecalciferol and phytase on the natural phytase phosphorus utilization by laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 850-858, 1998.
- CASARTELI, E.; MUCKE, D.; JUNQUIERA, O.M., *et al.* efeito de diferentes fontes e níveis de fósforo e da enzima fitase sobre o desempenho de poedeiras. In: CONFERÊNCIA APINCO 2003 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2003, Campinas-SP: FACTA, Suplemento5, p.49.
- CHAMPE, B. C. Enzimas. In: CHAMPE, B. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, p. 53-66, 1989.
- CHOCT M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World. Poult. Scie. Journ**, v. 62, n.1, p. 5-15, 2006.
- CONSUEGRO, J.P. Uso da fitasa microbiana em dietas para avicultura. *Industria Avícola*, v. 46, n. 5, p. 27-28, 1999.
- CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; FIALHO, E. T.; NEUDI, A. S.; BERTECHINI, A. G. Efeito da fitase e xilase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1147-1156, 2003.
- CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; FIGUEIREDO, A. V.; VITTI, D. M. S. S.; SILVA FILHO, J. C. Efeito da fitase na biodisponibilidade de fósforo do farelo de arroz em frango de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**; Brasília, v. 37, n. 4, p. 547-552, 2002.
- COSGROVE, D. J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. **Rev. Pre Appl. Chem**, v.16, p. 209-224, 1966.
- COSTA, F.G.P. ET AL. Níveis de fósforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v.5, n.2, p.73-81, 2004.

COWIESON AJ, ACAMOVIC T, BEDFORD MR. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **Brist. Poult. Sci**, v. 45, n.1, p. 101-108, 2004.

COWIESON, A, J, WILCOCK, P, & BEDFORD, M, R. 'Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics', **World's Poultry Science Journal**, v. 67, n.02, p. 225–236, 2011.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Supplementation of corn-soy-based diets with an Escherichia coli-derived phytase: effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. **Poultry Science**, v. 85, n.8, p.1389–1397, 2006.

COWIESON, A.J.; PTAK, A.; MACKOWIAK, P.; SASSEK, M.; PRUSZNSKA-OSZMALEK, E.; ZYLA, K.; SWIATKIEWICZ, S.; KACMAREK, S.; JOZEFIAK, D. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. **Poult. Sci**, v. 92, p. 2124–2134, 2013.

DANG, N.T.; MUKAI, R.; YOSHIDA, K.-I.; ASHIDA, H. D-pinitol and myo-inositol stimulate translocation of glucose transporter 4 in skeletal muscle of C57BL/6 mice. **Biosci. Biotechnol. Biochem**, v. 74, p.1062–1067, 2010.

DARI, R.L. A utilização de fitase na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2004, Santos-SP: FACTA, Volume: 1, p.127-143, 2004.

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

DENBOW, D.M.; RAVINDRAN, V.; KORNEGAY; YI, Z. et al. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, v.74, n.11, p.1831-1842, 1995.

DERSJANT-LI, Y; AWATI, A; SCHULZE, H; PARTRIDGE, G. 'Phytase in nonruminant animal nutrition: A critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors', **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 878-896, 2015.

DERSJANT-LI, Y; AWATI, A; SHULZE, H; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Jour. of the Scie. of Food and Agricult**, v.1, p. 1-16, 2014.

DILGER, R. N.; ONYANGO, E. M.; SANDS, J. S.; ADEOLA, O. Evaluation of Microbial Phytase in Broiler Diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 6, p. 962–970, 2004.

DONATO DCZ, ALBUQUERQUE R, GARCIA PDSR, BALEIRO JCC. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio suplementadas com fitase. **Rev. Bras. de Zoot**, v. 40. n.10, p. 2161-2166, 2011.

EMAMVERDI et al. An improvement in productive and reproductive performance of aged broiler breeder hens by dietary supplementation of organic selenium. **Theriogenology**, v. 126, p. 279-285, 2019.

FERREIRA, C. B. et al. Associação de carbohidrase e fitase em dietas valorizadas e seus efeitos sobre desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras leves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.67, n.1, p. 529-534, 2015.

FIREMAN, A. K. B. A. T.; FIREMAN, F. A. T.; LOPEZ, J. Efeito da fitase sobre a qualidade da casca do ovo de poedeiras alimentadas com dietas baseadas em farelo de arroz desengordurado. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, v.36, 1998.

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. **Rev. Bras. Zootec**, v.37, n.4, p.629-635, 2008.

FUKAYAMA, E.H.; SAKONURA, N.K.; DOURADO, L.R.B., *et al.* Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho de frangos de corte. In: CONFEÊNCIA APINCO 2006 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2006, Santos-SP: FACTA, Suplemento 8, p.113, 2006.

HUBER, K. Cellular myo-inositol metabolism. Pages 53-60 in Phytate Destruction – Consequences for Precision Animal Nutrition, C. L. Walk et al. (ed.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 2016.

IUPAC- International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature Committee of International Union of Biochemistry. **Journal biochemistry**. Numbering of atoms in myo-inositol: recommendations p.1, 1988.

JALAL, M. A.; SHEIDELER, S. E. Effect of supplementation of two different sources of phytase on egg production parameters in laying hens and nutrient digestibility. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 9-10, p. 1463-1471, 2001.

KENNY, M., KEMP, C. Breeder nutrition and chick quality. **International Hatchery Practice**, v. 19, p. 7 – 11, 2004.

KESHAVARZ, K. The effect of different levels of nonphytate phosphorus with and without phytase on the performance of four strains of laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 1, p. 71-91, 2003.

KESHAVARZ, K; AUSTIC R.E. The use of low-protein, low phosphorous, amino acid and phytase supplemented diets on laying hen performance and nitrogen and phosphorous excretion. **Poult. Scie**, v. 83, n.1, p. 75-83, 2004.

KONIETZNY, U.; GREINER, R. Molecular and catalytic properties of phytatedegrading enzymes (phytases). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 791–812, 2002.

LEESON, S. Vitamins requirements: is there basis for re-evaluating dietary specifications: **World's Poultry Science Journal**, v. 63, p. 255-266, 2007.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. Nottingham: Nottingham University, 2008.

LELIS, G.R; ALBINO, L.F.T; SILVA, C.R; ROSTAGNO, H.S; GOMES, P.C; BORSATTO, C.G. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Rev. Bras. de Zootecnia**, v. 39, n.8, p. 1768-1773, 2010.

LESSON, S. Enzimas para aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO PARA AVES, 1999. Campinas. Anais... Campinas, FACTA, p. 173-185, 1999.

LIU, S. Y., CADOGAN, D. J., PERON, A., TRUONG, H. H., & SELLE, P. H. Effects of phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization and digestive dynamics of starch and protein in broiler chickens offered maize-, sorghum- and wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p. 164–175, 2014.

KIDD. M. T. A treatise on chicken dam nutrition that impacts on progeny, **World's Poultry Science Journal**, 59: 475-494, 2003.

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. n.9, p. 1317–1319, 1999.

NELSON, T. Utilization of Phytate Phosphorus by Poultry - a Review. **Poultry Science**, v.46, n.4, 862–8, 1967.

OLUKOSI, O. A.; KONG, C.; FRU-NJI, F.; AJUWON, K. M.; ADEOLA, O. Assessment of a bacterial 6-phytase in the diets of broiler chickens. **Poultry Science**, v.92, n. 8, p. 2101–2108, 2013.

PALLAUF, J.; RIMBACH, G. Recent results on phytic acid and phytase. In: Proceedings of Forum Animal Nutrition, **Anais**, BASF, 1995.

PAYNE, R.L; LAVERGNE, T.K; SOUTHERN, L.L. A comparison of two sources of phytase in liquids and dry forms in broilers. **Poult. Sci**, v. 84, n.2, p. 265-272, 2005.

PENZ, JR, A. M. Enzimas em rações de aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu, SP.

Anais... Botucatu, SP: SBZ, p. 165-178, 1998.

PERSIA, M.E.; SAYLOR, W.W. Effects of broiler strain, dietary nonphytate phosphorus, and phytase supplementation on chick performance and tibia ash. **Poultry Science**, v.15, p.72-81, 2006.

PIENIAZEK, j; SMITH, K.A.; WILLIAMS, M.P.; MANANGI, M.K.; VAZQUEZ-ANON, M.; SOLBAK, A.; MILLER, M; LEE, J.T. Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. **Poultry Science**, V. 96, p.370-382, 2017.

PIRGOZLIEV, V; ODUGUWA, O; ACAMOVIC, T; BEDFORD, M.T. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. **Brist. Poult. Sci**, v. 49, n.2. p. 144-154, 2009.

PLUMSTEAD, P. W; LEYTEM, A. B; MAGUIRE, R. O; SPEARS, J. W; KWANYUEN, P; BRAKE, J. Interaction of calcium and phytate in broiler diets. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. **Poultry Science**, v. 87, n. 3, p. 449–458, 2008.

RAVINDRAN, V; MOREL, P.C.H; PARTRIDGE, G.G; HRUBY, M; SANDS, J.S. Influence of an Escherichia coli-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poult. Scie**, v. 85, n.1, p. 82-89, 2006.

RAVINDRAN, V; SELLE, P. H; RAVINDRAN, G; MOREL, P. C. H; KIES, A. K; BRYDEN, W. L. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v.80, n.3, p. 338–344, 2001.

REDDY, N. R; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Phytates in legumes and cereals. **Adv. Food. Res.** V. 28, p. 1-92, 1982.

RENEMA, R.A; ROBINSON, F.E; BELIVEAU, R.M; DAVIS, H.C.; LINDQUIST, E.A. Relationships of body weight, feathering, and footpad condition with reproductive and carcass morphology of end-of-season commercial broiler breeder hens **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, p. 27-38, 2007.

SAKOMURA, N.Z.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P et al. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal, FUNEP, 2014.

SANTOS, T.T. Phytate: anti-nutrient for poultry and swine. **Feedstuffs**, v. 84, p.1-3, 2012.

- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R. Implication of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, London, v. 54, n. 1, p. 27-47, 1998.
- 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.
- SELLE, P. H., RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1-2, p. 1–41, 2007.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V; CALDWELL, A; BRYDEN, W. L. Phytate and phytase; Consequences for protein utilization. **Nutr. Res. Rev**, v 13, p. 255-278, 2000.
- SELLE, P.H; COWIESON, A.J; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Lives. Scie**, v. 124, n.1-3, p. 126–141, 2009.
- SHIRLEY, R. B; EDWARDS, H. M. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v.82, n.4, p. 671–680, 2003.
- 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. **Rev. Bras. de Zootec**, v. 37, n. 3, p. 469-477, 2008.
- SILVERSIDES, F.G; SCOTT, T.A; BEDFORD, M.R. The effect of phytase enzyme and level on nutrient extraction by broilers. **Poult. Scie**, v. 83, n.6, p. 985–989, 2004.
- SMITH, T. N.; PESTI, G. M.; BAKALLI, J.; KILBURN, J.; EDWARDS, H. M. The use of near infrared reflectance spectroscopy to predict the moisture, nitrogen, calcium, total phosphorus, gross energy, and phytate phosphorus contents of broiler excreta. **Poultry Science**, v.80, p. 314–319, 2001.
- SNOW, J. L.; BAKER, D. H.; PARSONS, C. M. Phytase, Citric Acid, and 1 α -Hydroxycholecalciferol Improve Phytate Phosphorus utilization in Chicks Fed a Corn soybean Meal Diet. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 1187–1192, 2004.
- SOTO-SALANOVA, M; T.T. SANTOS, 2013: High phytase levels increase mineral deposition in egg yolks. XV European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Bergamo, Italy 15-19th September 2013.
- SWICK, R.A.; IVEY, F. J. Phytase: the value of improving phosphorus retention. **Feed Management**, Rockford, v.43, p. 8-17, 1992.

- TEICHMANN, H. F.; LÓPEZ, J.; LÓPEZ, S. E. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo em dietas com farelo de arroz integral para frangos de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 338-344, 1998.
- VAN EMOUS et al. Effects of growth patterns and dietary protein levels during rearing of broiler breeders on fertility, hatchability, embryonic mortality, and offspring performance. **Poultry Science**, v. 94, p. 681–691, 2015.
- VIANA, Maurício Tércio dos Santos et al. Efeito da suplementação de enzima fitase sobre o metabolismo de nutrientes e o desempenho de poedeiras. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 38, n. 6, p. 1074-1080, 2009.
- VIVEROS, A; BRENES, A; ARIJA, I; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poult. Scie**, v. 81, n. 8, p. 1172-1183, 2002.
- WALK, C L; O A OLUKOSI. Influence of graded concentrations of phytase in high-phytate diets on growth performance, apparent ileal amino acid digestibility, and phytate concentration in broilers from hatch to 28 D post-hatch. **Poultry science**, v. 98, n. 9, p. 3884-3893, 2019.
- WALK, C. L et al. Effect of phytase on growth performance, phytate degradation and gene expression of myo-inositol transporters in the small intestine, liver and kidney of 21-day old broilers. **Poultry science** vol. 97, v. 4, p.1155-1162, 2018.
- WALK, C.L.; SANTOS, T.S.; BEDFORD, M.R. Influence of superdoses of a microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. **Poultry Science**, v. 93, n.5, p. 1172-1177, 2014.
- WALK, C.L; BEDFORD, M.R; SANTOS, T.S; PAIVA, D; BRADLEY, J.R; WLADECKI, H; HONAKER, C; MCELROY; A.P. Extra-phosphoric effects of superdoses of a microbial phytase. **Poult. Scie**, v. 92, n.3, p. 719-725, 2013.
- WALK, C.L; RAO. S. V. R. Dietary phytate has a greater anti-nutrient effect on feed conversion ratio compared to body weight gain and greater doses of phytase are required to alleviate this effect as evidenced by prediction equations on growth performance, bone ash and phytate degradation in broilers. **Poultry Science**, v. 99, p. 246-255, 2020.
- WEDEKIND, K. J; HORTIN, A. E. Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. **Journal of Animal Science**, v.70, n.1, p. 178–87, 1992.
- WODZINZINSKI, R.J.; ULLAH, A.F.J. Phytase. **Advantaces in Applied Microbiology**, v.42, p.263-302, 1996.

WYATT, C.L; MILOUD, A; BEDFORD, M. Current advances in feed enzymes for corn-soya based poultry and swine diets: emphasis on cell wall and phytate. 65th Minnesota Nutrit. **Confer**; p. 21-22, 2004.

YAMASHITA, Y; YAMAOKA, M; HASUNUMA, T; ASHIDA, H; YOSHIDA, K.I. Detection of orally administered inositol stereoisomers in mouse blood plasma and their effects on translocation of glucose transporter 4 in skeletal muscle cells. **J. Agric. Food Chem**, v. 61, p. 4850–4854, 2013.

ZELLER, E; SCHOLLENBERGER, M; WITZIG, M; SHASTAK, Y; KUHN, I; HOELZLE, E; RODEHUTSCORD, M. Interactions between supplemented mineral phosphorus and phytase on phytate hydrolysis and inositol phosphates in the small intestine of broilers. **Poult. Sci**, v. 94, p.1018–1029, 2015.

ŻYŁA, K; DULIŃSKI, R; PIERZCHALSKA, M; GRABACKA, M; JÓZEFIAK, D; ŚWIĄTKIEWICZ, S. 'Phytases and myo-inositol modulate performance, bone mineralization and alter lipid fractions in serum of broilers', **J. Anim. Feed Sci**. v. 22, p. 56–62, 2013.

CAPÍTULO II

USO DE SUPERDOSES DE FITASE EM DIETA DE MATRIZES PESADAS SOBRE O
DESEMPENHO, QUALIDADE DE OVOS, CONCENTRAÇÃO DE MINERAIS E
INOSITOL NA GEMA DO OVO

1. INTRODUÇÃO

As reprodutoras apresentam a capacidade de transferir os nutrientes ingeridos da dieta para o ovo. Desta forma, é possível alcançar respostas significativas na qualidade, eclodibilidade e crescimento inicial do pintinho (CHANG et al., 2016). De acordo com Kenny et al. (2004) o desenvolvimento do embrião e do pintinho, depende diretamente dos nutrientes depositados no ovo e o seu status fisiológico é influenciado pela nutrição da matriz. Segundo Calini e Sirri (2007) macronutrientes, minerais e vitaminas, desempenham papel fundamental no desempenho de frangos de corte quando os mesmos são suplementados adequadamente na dieta das matrizes.

O melhoramento na eficiência da utilização de matérias-primas e o uso de uma ampla variedade de ingredientes são as estratégias que produzirão avanços na alimentação da ave. Uma ferramenta eficaz para alcançar essas metas, que tem recebido grande atenção ao longo dos anos, é o uso de enzimas exógenas como aditivos nutricionais. Neste contexto, pode-se destacar o uso da fitase que atua na degradação do fitado e permite melhorar o aproveitamento da energia e de nutrientes, como o P e os aminoácidos bem como permite a redução dos gastos metabólicos de aves e suínos (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

O fitato está naturalmente presente na dieta das aves, pois as rações contêm ingredientes vegetais, destacando-se o milho e o farelo de soja como os mais comuns. Formado por uma mistura de sais de ácido fítico (hexafosfato de mioinositol, IP6), tem peso molecular de 660, uma concentração de P de 282 g/kg que consiste em seis grupos fosfatos ligados à um anel de carbono ($C_6H_{18}O_{24}P_6$), sendo a principal forma de armazenamento do P nos grãos de cereais, leguminosas e oleaginosas (FERREIRA et al., 2015).

A estrutura química do fitado é formada por uma molécula polianiónica, na sua maioria é encontrado complexado em minerais de carga positiva como: Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} e Zn^{2+} e aminoácidos e esta capacidade torna-se fator anti-nutricional para o animal, de tal modo que esses nutrientes ficam indigestíveis (SWICK; IVES, 1992).

Os efeitos negativos que fitato pode causar para a digestibilidade de microminerais (HARLAND; MORRIS, 1995), proteína (COWIESON; COWIESON, 2011),

aminoácidos (COWIESON; RAVINDRAN 2007, COWIESON et al., 2004), Na (COWIESON et al., 2004) e energia tem sido amplamente discutidos. Desta forma, um conceito mais recente vem sendo estudado, em que doses mais altas de fitase têm sido empregadas para propiciar não apenas o efeito associado à liberação de P, mas também evitar os danos causados pelo fitato na digestibilidade e absorção de outros nutrientes complexados. Cowieson et al. (2011) relatam que o aumento da concentração de fitase no trato gastrintestinal, irá degradar a molécula de fitato em ésteres menores (IP3 e IP2) até que se chegue a uma molécula de ortofosfato (IP1), sendo que a ave consegue degradá-la liberando a última molécula de ortofosfato e o inositol que é absorvido com facilidade. O inositol desempenha papel importante em diversos processos fisiológicos como no transporte de lipídeos e da coenzima Q10, um importante antioxidante, auxilia nas funções mitocondriais melhorando o metabolismo energético e a transferência de nutrientes para o embrião quando da formação da gema (HUBER, 2016). Estudo feito por Walk, et al (2014), mostrou que utilização de altas dosagens de fitase resultaram em aumento das concentrações de inositol livre na moela e na melhoria do ganho de peso e da conversão alimentar de frangos de corte.

Além de melhorias na disponibilidade de inositol, estudos anteriores avaliando doses crescentes de fitase em dietas de poedeiras (SOTO-SALANOVA; SANTOS, 2013) e bagres (PEATMAN; BECK, 2016), relataram aumento significativo na concentração mineral em tecidos, como a gema, o plasma ou o fígado. Segundo os autores, os benefícios relacionados com o incremento dos níveis de minerais foram presumivelmente associados a destruição quase completa do fitato. No que se refere ao desempenho, está clara a resposta positiva quando da suplementação da fitase tanto para frangos como para poedeiras (DENBOW et al., 1995; COSTA, et al., 2004; MANAGI; COON, 2008; WALK; OLUKOSI, 2019; WALK; RAO, 2020). No entanto, a literatura traz pouca informação sobre o uso da fitase em altas dosagens para reprodutoras pesadas.

Diante do exposto, a proposta do presente estudo foi a de avaliar o impacto da suplementação de superdoses de fitase em dietas de reprodutoras pesadas, no período de 27 e 50 semanas de idade, sobre o seu desempenho, a qualidade de ovos, a concentração de minerais, de inositol e de glicerol na gema.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais na da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob protocolo nº 9196040614.

2.1. Aves, dietas experimentais, delineamento experimental e características do galpão

Foram utilizadas 216 matrizes, da linhagem AP95 Aviagen, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e 18 repetições de quatro aves cada, suplementadas com a enzima fitase em altas dosagens, conforme descrito na Tabela 1. As aves foram criadas até 20 semanas de idade em um ambiente comercial de criação, quando foram transferidas para a instalação experimental. As práticas de manejo e alimentação durante a fase de cria e recria e produção seguiram as recomendações do manual da linhagem utilizada (ROSS 308 AP, 2017). No período de 20 a 26 semanas de idade, todas as reprodutoras receberam uma ração comum até sua adaptação ao novo ambiente. O experimento teve início na 27^a semana e finalizou-se na 50^a semana.

Tabela 1-Descrição dos tratamentos experimentais das matrizes de corte

Tratamentos	Dieta experimentais	P, %	Ca, %	Fitase, FTU/kg
1	Dieta basal + 500	-0.15	-0.16	500
2	Dieta basal + 1500	-0.15	-0.16	1500
3	Dieta basal + 4500	-0.15	-0.16	4500

As aves eram alimentadas às 6:45 da manhã, sendo que cada repetição recebia o equivalente de ração em gramas/ave/dia e alterava conforme a idade da ave, seguindo o manual de desempenho da linhagem na Tabela 2 (ROSS 308AP, 2017).

Tabela 2-Consumo de ração de matrizes de corte durante o período de 27 a 50 semanas de idade

Consumo de ração/ave, g						
P1 ¹	P2	P3	P4	P5	P6	P1-P6
169.0	169.0	167.5	165.5	163.5	161.5	166.0

¹ Períodos: P1 (semana 27-30), P2 (semana 31-34), P3 (semana 35-38), P4 (semana 39-42), P5 (semana 43-46), P6 (semana 47-50).

A ração foi fornecida na forma farelada e sua formulação (Tabela 3) permitiu que a ingestão diária de nutrientes fosse a mesma entre os tratamentos atendendo as recomendações propostas pelo manual da linhagem (ROSS 308AP, 2017). Todas as rações foram isonutritivas variando apenas a inclusão de fitase em cada tratamento (500; 1.500; 4.500 FTU/kg). A enzima utilizada nesse experimento foi uma fitase de *E. coli* aprimorada (Quantum Blue), fornecida pela AB Vista (Marlborough, Reino Unido), com uma atividade esperada de 5.000FTU/g. As dietas experimentais foram analisadas quanto à atividade da enzima fitase, Ca e P total. O método usado para analisar a atividade da enzima fitase, conforme descrito por Engelen et al. (2001) e procedimentos padrão AOAC (2006) foram usados para determinação de Ca e P total.

O galpão possuía boxes de alojamento com capacidade para quatro aves cada (densidade de 2250 cm² por ave), contendo um comedouro tipo calha, bebedouro tipo “nipple”, um ninho e cama tipo maravalha. O galpão era em um semi “dark house”, com pressão negativa havendo dois exaustores dispostos nas laterais do galpão e dois painéis evaporativos na extremidade oposta dos mesmos. Para o gerenciamento de temperatura, luminosidade, pressão e umidade, o galpão possuía um painel de controle. Diariamente a temperatura, umidade relativa do ar e mortalidade eram registradas. Durante a fase de produção as aves receberam 16 horas de luz/dia.

Tabela 3-Composição percentual da dieta basal das matrizes de corte

Ingrediente	Inclusão percentual (%)
Farelo de milho	63,90
Farelo de soja	22,92
Farelo de trigo	3,12
Óleo	1,44
Fosfato bicálcico	1,06
Premix vitamínico ¹	0,100
Premix mineral ²	0,100
Sal	0,41
L - Lisina HCl (78,4%)	0,06
Calcário calcítico	6,98
Total	100,00
Níveis calculados	
Energia Metabolizável, kcal/kg	2.820
Ácido linoleico, %	2,20
Cálcio, % ³	3,04
Fósforo disponível, % ³	0,30
Lisina, %	0,77
Aminoácidos sulfurados, %	0,59
Metionina, %	0,58
Proteína Bruta, %	16,50
Sódio, %	0,20
Treonina, %	0,54
Valina, %	0,67

¹Suplementado por kg de ração: Vitamina A (min.) 9.000U.I./kg; Vitamina D3 (min.)2.600U.I./kg; Vitamina E (min.)14 U.I./kg; Vitamina K3(min.)1,6U.I./kg; Vitamina B1 (min.) 2,2mg/kg; Vitamina B2 (min.) 6mg/kg; Vitamina B6 (min.) 3mg/kg; Vitamina B12 (min.)10mcg/kg; Ácido nicotídico (min.) 0,03g/kg; Ácido pantotênico (min.) 0,005g/kg; Ácido fólico (min.) 0,6mg/kg; Biotina (min.) 0.1mg/kg

²Suplementado por kg de ração: Zn (min) 0,126g, Cu (min) 0,0126g, I (min) 2,52mg, Fe (min) 0,105g, Mg (min) 0,126g.

³ A matriz assumida pela fitase foi: 0,16% Ca e 0,15% P disponível. O valor médio analisado foi 3,18% e 0,50 para Ca e P total, respectivamente.

2.2. Avaliação do desempenho produtivo e qualidade de ovos

As características de desempenho produtivo e de qualidade dos ovos foram avaliadas por repetição ao final de cada ciclo de 28 dias, totalizando seis períodos de produção. Os ciclos foram divididos da seguinte forma: P1 (27-30, semanas), P2 (31-34, semanas), P3 (35-38, semanas), P4 (39-42, semanas), P5 (43-46, semanas) e P6 (47-50, semanas).

Foi avaliada a produção total de ovos (número total de ovos produzidos diariamente, dividido pelo número de aves e multiplicado por 100). Para avaliar as características de qualidade interna e externa dos ovos, foram coletados dois ovos por boxe nos dias 27 e 28 de cada ciclo, totalizando quatro ovos, identificados por tratamento e repetição. Os ovos foram analisados individualmente por meio de um equipamento denominado Digital Egg Tester (DET6000, Nabel, Japão) quanto ao peso dos ovos (g), resistência da casca (kgf) e unidade Haugh (HU).

Na 35^o e 40^o semana de idade, foram coletadas três gemas frescas de cada as quais foram liofilizadas e, posteriormente, analisadas as concentrações de inositol, glicerol e de minerais (Ca, P, Na, Mg, K, Cu, Fe, Mn e Zn). A concentração de inositol e glicerol foi determinada utilizando-se a metodologia descrita por Lee et al. (2018) e a de minerais por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (AOAC, 2006).

2.3. Análise Estatística

Os dados foram analisados por meio do programa estatístico JMP Pro v. 14.0 (SAS institute, 2014). Para as características de produção e qualidade de ovos, o modelo experimental incluiu dieta, período e a interação entre os mesmos. Para inositol, glicerol e concentração mineral, o modelo experimental incluiu dieta, semana de coleta e interação entre as mesmas. Dieta e semana da coleta foram consideradas variáveis

nominais. O período foi considerado uma medida repetida no tempo. Quando os efeitos do modelo foram significativos em $P < 0.05$, as médias foram avaliadas usando o teste-t. As tendências foram discutidas em $P < 0.10$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da fitase recuperada nas dietas foi de 336, 1.160 ou 4.610 FTU / kg para 500, 1.500 ou 4.500 FTU / kg, respectivamente, validando a precisão da geração de ração. As galinhas reprodutoras pesavam inicialmente 2,6 kg em média para todos os grupos de tratamento experimental às 27 semanas de idade ($P = 0,57$). Após 23 semanas de tratamento com enzimas (50 semanas de idade), os pesos corporais das galinhas eram de 4,1 kg, sem quaisquer diferenças devido à suplementação de fitase ($P = 0,61$).

A viabilidade de criação foi de 100% e a produção de ovos (ave / semana) foram os esperados de acordo com o manual da linhagem de 27 a 50 semanas (Ross 308 AP, 2017). O consumo de ração, mencionado anteriormente, foi de 169 g na P1 e diminuiu para 161.5 na P6 (Tabela 2). O consumo de ração foi o mesmo em todos os grupos de tratamento experimental em cada período.

Houve o efeito do período de produção, que diminuiu significativamente de P2 para P6 (Tabela 4). Isto se deve ao fato de que à medida que as aves envelhecem as sequências de postura tornam-se mais curtas, aumentando a frequência de intervalo entre as ovulações (VIEIRA, 2001). O período de criação também influenciou significativamente o peso do ovo ($P < 0.01$), a unidade Haugh ($P < 0,01$) e a resistência a quebra da casca ($P < 0,05$) (Tabela 4). Conforme esperado, a medida em que as aves ficaram mais velhas, observou-se aumento do peso do ovo e redução da resistência da casca e da unidade Haugh. A redução na taxa de postura com o avanço da idade das matrizes é acompanhada do aumento no tamanho do ovo, pois a mesma quantidade de gema proveniente da síntese hepática é depositada em um número cada vez menor de folículos, e conseqüentemente, estes atingem peso e tamanho superiores (ZAKARIA et al., 1983). Assim, ovos produzidos por matrizes mais velhas apresentam gemas

maiores, e menores quantidades de albúmen em relação ao peso total quando comparados com ovos de aves jovens (FRENCH e TULLET, 1991; SUAREZ et al.,1997). A idade influencia também na porcentagem de casca do ovo devido à menor capacidade de absorção dietética e mobilização óssea de Ca, e ao aumento gradual do tamanho do ovo sem aumento proporcional da quantidade de casca (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2013).

Houve uma tendência de efeito da inclusão de fitase para a variável porcentagem total de ovos ($P = 0.06$), observando-se melhor produção quando utilizado o nível de 1.500 FTU/kg de fitase em comparação ao nível de 4.500 FTU/kg (tabela 4). A redução do percentual de produção de ovos em galinhas recebendo 4.500 FTU / kg de fitase na dieta não era esperado, particularmente porque os parâmetros produtivos estavam de acordo com os padrões da linhagem. Diferentemente dos resultados observados no presente estudo, Kim et al. (2017) observaram aumento na produção de ovos de poedeiras suplementadas com superdose de fitase (20.000 FTU). As diferenças entre os resultados encontrados por estes autores e os do presente estudo podem estar relacionadas à dose de fitase, este fato pode ser explicado pela maior liberação de nutrientes proporcionada pela dose de 20.000 FTU/kg e também a fitase utilizada pelos autores provém da espécie *E.coli* e é expressa em uma *Saccharomyces pombe*.

A inclusão de 4.500 FTU/kg reduziu o peso de ovo ($P < 0,01$) e a resistência a quebra da casca ($P < 0,05$), em relação à inclusão de 500 FTU/kg (Tabela 4). Possivelmente, a elevação das doses de fitases aumentaram a quantidade de P disponível pela quebra da molécula de fitato, conseqüentemente, pode ter havido redução na absorção do Ca devido ao desbalanço entre Ca e P, afetando o peso do ovo e a resistência da casca pela menor deposição de Ca na mesma. É sabido que o aumento da quantidade de P na circulação promove maior absorção de Ca dos ossos como tampão, de maneira que, a resistência da casca e o peso específico dos ovos podem diminuir (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2013). Esses resultados reforçam a importância da correta aplicação da matriz nutricional para as enzimas, pois a liberação de nutrientes extras (P disponível neste caso) pode resultar em desempenho negativo, principalmente em matrizes de corte. Kim et al. (2017) não encontraram diferenças significativas para o peso do ovo, resistência e espessura de casca em poedeiras com

a utilização de fitase em superdoses (10.000, 20.000, 30.000 FTU/kg de ração). No entanto, estes resultados podem ter sido diferentes pelo fato de que os autores utilizaram dose muito superiores, diferente tipo de fitase e trabalharam com poedeiras comerciais.

Tabela 4- Influência do uso da fitase e do período produtivo sobre a produção e qualidade de ovos de matrizes de corte durante o período 27 a 50 semanas de idade

Fitase, FTU/kg	Produção total de ovos (%)	Peso do ovo (g)	Unidade haugh	Resistência de casca (KgF)
500	77,6 ^{ab}	67,53 ^a	80,31	3,94 ^a
1.500	78,6 ^a	67,26 ^a	81,31	3,80 ^b
4.500	76,4 ^b	66,64 ^b	80,95	3,81 ^b
EPM ²	0,8	0,22	0,41	0,05
P1	80,4 ^{ab}	63,46 ^d	85,32 ^a	3,96 ^a
P2	84,7 ^a	64,58 ^c	83,29 ^b	3,90 ^{ab}
P3	81,3 ^b	67,30 ^b	81,59 ^c	3,92 ^{ab}
P4	78,3 ^c	68,14 ^b	80,82 ^{cd}	3,82 ^{abc}
P5	72,8 ^d	69,38 ^a	79,33 ^d	3,76 ^{bc}
P6	67,8 ^e	69,80 ^a	74,78 ^e	3,72 ^c
EPM	1,0	0,33	0,59	0,06
Fitase	0,06	0,01	0,24	0,02
Período	<0,01	< 0,01	< 0,01	0,02
Fitase x período	0,52	0,92	0,41	0,79

¹ Período: P1 (semana 27-30), P2 (semana 31-34), P3 (semana 35-38), P4 (semana 39-42), P5 (semana 43-46), P6 (semana 47-50).

² Erro padrão da média (EPM)

^{a-e} Médias com diferentes sobrescritos dentro da mesma coluna diferem entre si (P < 0,05).

As concentrações de inositol e glicerol foram influenciadas pela dose de fitase na dieta, sendo que a suplementação de dietas de reprodutoras com doses crescentes de fitase resultou em diminuição no conteúdo de inositol (P<0,01) e aumento no conteúdo de glicerol na gema de ovos (P<0,01) na 35^a. e 40^a. semana de idade, não havendo influência da semana de coleta (P=0,66 e P=0,90, respectivamente) (Tabela 5). De acordo com estes resultados, é possível presumir que a diminuição do inositol e o

correspondente aumento no teor de glicerol na gema podem ser o resultado da conversão do inositol em triglicerídeos, que poderiam então ser utilizados pelo pintinho no nascimento para melhorar a qualidade e a taxa de crescimento.

Os minerais foram influenciados pela dieta, semana de coleta e interação entre os fatores (Tabela 5). Concentração de Ca na gema de reprodutoras alimentadas com 1.500 FTU/kg às 40 semanas foi superior à concentração de reprodutoras alimentadas com 500 e 4.500 FTU/kg, mas a mesma diferença não foi observada em ovos coletados às 35 semanas ($P < 0,01$). Concentração de Na em gema de aves alimentadas com 4.500 FTU/kg foi superior à concentração de aves alimentadas com 500 e 1.500 FTU/kg às 40 semanas mas sem diferenças observadas às 35 semanas enquanto a concentração de K foi superior em aves alimentadas com 4.500 FTU/kg em relação à aves alimentadas com 1.500 FTU/kg às 35 semanas e inferior em aves alimentadas com 500 FTU/kg às 40 semanas em relação aos demais tratamentos. Da mesma forma, a data da coleta aumentou a deposição desses três minerais na gema, porém atribui-se que o efeito de interação possa estar mais relacionado com o fator semana de coleta, já que maiores valores de concentração de minerais na gema, para as doses de 1.500 ou 4.500 FTU/Kg na dieta, foram encontrados nas aves mais velhas. É possível que o aumento do intervalo de postura ocasionado pela idade resulte em maior deposição de minerais, ou seja, a mesma quantidade de mineral é depositada em menor número de folículos. Além disso, a atividade da fitase é aumentada no trato gastrointestinal à medida que o animal envelhece, consequentemente aumentando a degradação do fitato e liberação de nutrientes (Edwards et al., 1989; Nelson, 1967).

Com relação a concentração de P, observou-se que sua concentração ($P < 0,05$) foi menor em gemas de galinhas alimentadas com 1.500 FTU/kg de dieta em comparação com aquelas suplementadas com 500 ou 4.500 FTU/kg de dieta (Tabela 5). Houve menor concentração de P nas gemas coletadas com 40 semanas quando comparadas com aquelas coletadas com 35 semanas ($P < 0,01$). Bhanja et al. (2005) relataram que a concentração de P na gema foi aproximadamente 21% menor do que o encontrado no presente estudo. Além disto, os autores não observaram qualquer efeito significativo sobre esta característica quando utilizaram 500 FTU/kg na dieta em matrizes de 25 a 40 semanas de idade, em relação isenta de fitase.

As gemas coletadas com 40 semanas de idade continham uma concentração significativamente maior de Mg, Cu, Zn ou Mn quando comparadas com as gemas provenientes de galinhas com 35 semanas de idade (Tabela 5). Semelhantemente ao que ocorreu com outros minerais analisados, é possível tenha ocorrido aumento da deposição dos mesmos com o avançar da idade das aves. Em estudo realizado por Favero et al. (2013), foi observado efeito da idade das aves nas concentrações de minerais na gema, com aumento de Zn e Mn, de 35 a 55 semanas, e diminuição significativa na gema e no albúmen das reprodutoras no período de 55 a 65 semanas de idade.

Não houve efeito significativo da fitase e da semana de coleta na concentração de Fe da gema ($P=0,29$ e $P=0,66$, respectivamente) (Tabela 5). Segundo Underwood (1999) nos monogástricos a absorção deste mineral é afetada pela idade e status de Fe no organismo, condições do trato gastrintestinal, particularmente do duodeno que é o principal sítio de absorção; quantidades e forma química do Fe ingerido, proporção de outros minerais e compostos na dieta, os quais podem interagir com este elemento. A absorção de Fe pode ser afetada pela presença de outros metais divalentes na dieta tais como: Cu, Mn, cobalto (Co), cádmio (Cd), os quais podem competir pelo sítio de absorção de Fe.

Contrariamente aos resultados deste estudo, Rojas et al., (2018) observaram que poedeiras leves suplementadas com 450 FTU/kg de fitase em dietas com 0,12% P obtiveram aumento no nível de Fe na gema do ovo quando comparadas com aves do grupo controle. Os autores não encontraram efeitos significativos para os níveis de Zn, Ca e P. Da mesma forma, Abbasi et al., (2014) utilizando dose de 600 FTU/Kg de fitase em dieta de poedeiras, observaram aumento na concentração de Fe na gema e no soro. No presente estudo, foi observado um efeito de tendência com aumento gradual no nível de Zn ($P=0,07$) com o uso de 4.500 FTU/kg na dieta comparando-se com a dose de 500 FTU/kg.

Melhoria da absorção de minerais como consequência da redução da concentração de fitatos nas dietas já foi observada em outras espécies (Soto- Salanova e Santos., 2013; Peatman e Beck, 2016; Rojas et al., 2018;) e foi alcançada no presente estudo, particularmente nas dietas contendo 1.500 e 4.500 FTU/Kg de

inclusão de fitase. Diferenças observadas nas concentrações dos minerais Na, K, Cu, Zn na gema, apontam que o fitato não interfere apenas na absorção de macrominerais, como Ca e P, proporcionando um efeito muito mais amplo na nutrição animal.

Tabela 5- Inositol, glicerol e concentração minerais na gema de matrizes de corte, coletadas com 35 e 40 semanas de idade, alimentadas com doses crescentes de fitase no período de 27 a 50 semanas de idade

Seman a	Fitase, FTU/kg	Inositol, nmol/g	Glicerol, nmol/g	Ca, %	Na, %	Mg, %	K, %	P, %	Cu, mg/kg	Fe, mg/kg	Mn, mg/kg	Zn, mg/kg
35	500	1141	3849	0,28 ^{bc}	0,09 ^b	0,02	0,19 ^{cd}	0,94	2,50	126	2,33	80,2
	1500	1035	5797	0,28 ^{bc}	0,09 ^b	0,02	0,18 ^d	0,94	3,56	130	2,43	82,0
	4500	888	8891	0,27 ^c	0,10 ^b	0,02	0,20 ^{bc}	0,99	2,28	125	2,28	82,6
40	500	1155	3818	0,30 ^b	0,10 ^b	0,02	0,21 ^b	0,93	4,39	123	4,90	85,4
	1500	1021	5942	0,39 ^a	0,10 ^b	0,03	0,24 ^a	0,88	8,19	129	4,61	86,3
	4500	931	9017	0,30 ^b	0,13 ^a	0,03	0,24 ^a	0,93	5,11	126	4,00	92,4
EPM ¹		40	794	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	1,08	3,2	0,38	2,09
Resultados principais												
Seman a												
35		1021	6179	0,27 ^b	0,09 ^b	0,02 ^b	0,19 ^b	0,95 ^a	2,78 ^b	127	2,35 ^b	81,6 ^b
40		1036	6259	0,33 ^a	0,11 ^a	0,03 ^a	0,23 ^a	0,91 ^b	5,90 ^a	126	4,50 ^a	88,0 ^a
EPM		23	459	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,62	1,9	0,22	1,20
	FTU/kg											
	500	1148 ^a	3833 ^c	0,29 ^b	0,09 ^b	0,02	0,20 ^b	0,94 ^a	3,44 ^b	124	3,62	82,8 ^b
	1500	1028 ^b	5869 ^b	0,33 ^a	0,10 ^b	0,02	0,21 ^a	0,91 ^b	5,87 ^a	129	3,52	84,1 ^{ab}
	4500	909 ^c	8954 ^a	0,28 ^b	0,12 ^a	0,02	0,22 ^a	0,96 ^a	3,69 ^b	126	3,14	87,5 ^a
EPM		29	561	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,77	2,3	0,27	1,47
Fitase		< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,94	< 0,01	< 0,01	0,06	0,29	0,41	0,07
Semana		0,66	0,90	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,66	< 0,01	< 0,01
Interação		0,77	0,99	< 0,01	< 0,01	0,31	< 0,01	0,10	0,44	0,89	0,53	0,38

^{a-c} Médias com diferentes sobrescritos dentro da mesma coluna diferem entre si (P < 0,05).

¹ Erro padrão da média (EPM)

4. CONCLUSÃO

A suplementação de fitase a 1.500 UFT/kg em matrizes aumentou a produção de ovos total de ovos, assim como a concentração de glicerol e minerais na gema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, M.; ZAGHARI, M.; GANJKHANLO, M.; KHALAJI, S: Is dietary iron requirement of broiler breeder hens at the late stage of production cycle influenced by phytase supplementation? **Journal of Applied Animal Research**, v.43, n.2, p.166-176, 2014.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International 18th ed., AOAC, Arlington, VA, 2006.

BHANJA, S. K.; V. R. REDDY; A. K. PANDA; S. V. RAMA RAO; R. P. SHARMA. Effect of supplementing microbial phytase on performance of broiler breeders fed low non-phytate phosphorus diet. **Asian-Aust. J. Animal Science**.v.18, p.1299-1304, 2005.

CALINI, F.; SIRRI, F. Breeder nutrition and offspring performance. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, p. 77 – 83, 2007.

CHANG, A.; J. HALLEY; M. SILVA. Can feeding the broiler breeder improve chick quality and offspring performance? **Animal Production Science**. v.56, p.1254-1262, 2016.

COSTA, F.G.P. ET AL. Níveis de fósforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira, Goiania**, v.5, n.2, p.73-81,2004.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. The effect of phytase and phytic acid on the endogenous loss from broiler chickens. **British Poultry Science**, v.45, p.101 – 108, 2004.

COWIESON, A.J.; COWIESON, N.P. Phytate and the thermodynamics of water. **Australian Poultry Symposium**, p 11, 2011.

COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of the growing broiler chicken. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.45-752, 2007.

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

DENBOW, D.M.; RAVINDRAN, V.; KORNEGAY; YI, Z. et al. 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.; PALO, P.; SOONCHAERENYING, S.; ELLIOT, M.A. Factors influencing the bioavailability of phytate phosphorus to chickens. In SOUTHGATE, D., JOHNSON, I.; FENWICK, G.R. (eds) Nutrient availability: Chemical and Biological Aspects, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p 271-276, 1989.

ENGELEN, A. J., F. C. VAN DER HEEFT, P. H. G. RANDSDORP, AND W. A. C. SOMERS. Determination of phytase activity in feed by colorimetric enzymatic method: Collaborative interlaboratory study. *J. AOAC. Int.* v.84, p 629-633, 2001.

FAVERO, A.; S. L. VIEIRA; C. R. ANGEL; A. BOS-MIKICH; N. LOTHAMMER; D. TASCHETTO; R. F. A. CRUZ; T. L. WARD. Development of bone in chick embryos from Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic amino acid-complexed sources. **Poultry Science**. 92, 402-411, 2013.

FERREIRA, C.B. ET AL. Associação de carboidrase e fitase em dietas valorizadas e seus efeitos sobre desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras leves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.67, n.1, p. 249-254, 2015.

FRENCH, N.A.; TULLET, S. G. Variation in the eggs of various poultry species. In: TULLETT, S.G, (Ed.). *Avian incubation*. London: Butterworth-Heinemann, p.59-77, 1991.

HARLAND, B.F.; MORRIS, E.R. Phytate – A good or bad food component? **Nutrition Research**, 15: 733-754, 1995.

HUBER, K. 2016. Cellular myo-inositol metabolism. Pages 53-60 in *Phytate Destruction – Consequences for Precision Animal Nutrition*, C. L. Walk et al. (ed.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
IUPAC- International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature Committee of International Union of Biochemistry. **Journal biochemistry**. Numbering of atoms in myo-inositol: recommendations 1988, p.1.

KENNY, M.; KEMP, C. Breeder nutrition and chick quality. **International Hatchery Practice**, v. 19, p. 7 – 11, 2004.

KIM, J.H; PITARGUE, F.M; JUNG, H; HAN, G.P; CHOI, H.S; KIL, D.Y. Effect of superdosing phytase on productive performance and egg quality in laying hens. **Asian-Australas J Anim Sci**. v.30, n.7, p.994–998, 2017.

LEE, S. A.; J. DUNNE; E. FEBERY; C. A. BREARLEY; T. MOTTRAM; M. R. BEDFORD. Exogenous phytase and xylanase exhibit opposing effects on real-time gizzard pH in broilers. **Br. Poultry Science**. v.59, p.568-578, 2018.

MANANGI, M.K.; COON, C.K., Phytate phosphorus hydrolysis in broilers in response to dietary phytase, calcium and phosphorus concentrations. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 1577-1586, Aug. 2008.

Manual de Objetivos de Desempenho ROSS (308) AP (AP95). Accessed Nov. 2017.
<http://pt.aviagen.com/tech-center/download/1079/Ross308AP-PS-PO-PT-2017.pdf>

NELSON, T. Utilization of Phytate Phosphorus by Poultry - a Review. **Poultry Science**. V. 46, p.862–871, 1967.

OLIVEIRA, B. L.; OLIVEIRA, D. D. Qualidade e tecnologia de ovos. Lavras: UFLA, p.224, 2013.

PEATMAN, E.; B. H. BECK. From floor sweepings to fish flesh – phytase superdosing in the US catfish industry. In: Phytate Destruction – Consequences for Precision Animal Nutrition, C. L. Walk et al. (ed.), **Wageningen Academic Publishers**, p.237-250, 2016.

ROJAS, I.Y.M.; GONZÁLEZ, E.A.; MENOCA, J.A.; SANTOS, T.T.; ARGUELLO, J.R.; COELLO, C.L. Assessment of a phytase included with lactic acid on productive parameters and on deposition of phosphorus, calcium, and zinc in laying hens fed with sorghum–soybean-meal-based diets, **Journal of Applied Animal Research**, v.46, n.1, p.314-321, 2018.

SAS Institute. 2014. User's guide. Statistics Version JMP Pro v. 14.0. Cary: SAS Inst, Inc., Cary, NC.

SELLE, P. H. and V. RAVINDRAN. Microbial phytase in poultry nutrition. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.135, p.1–41, 2007.

SOTO-SALANOVA, M.; T.T. SANTOS. High phytase levels increase mineral deposition in egg yolks. XV European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Bergamo, Italy 15-19th September 2013.

SUAREZ, M.E.; WILSON, H.R; MATHER, F.B; WILCOX, C.J; MCPHERSON, B.N. Effect of strain and age of the broiler breeder female on incubation time and chick weight. **Poultry Science**, Champaign v.76, p.1029-1036,1997.

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

UNDERWOOD, E. J. The mineral nutrition of livestock. 3. Ed. Wallingford: Cabi, P.614, 1999

VIEIRA, S.L. Idade da matriz, tamanho do ovo e desempenho do pintinho. In: conferência apinco 2001 de ciência e tecnologia avícola, Campinas, SP, 2001. Anais. Campinas: **Facta**, v.2, p.117-123, 2001.

WALK C.L.; SANTOS T.S.; BEDFORD, M.R. Influence of superdoses of a microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. **Poultry Science**. v.93, n.5, p.1172-1177, 2014.

WALK, C.L; OLUKOSI, O. A. Influence of graded concentrations of phytase in high-phytate diets on growth performance, apparent ileal amino acid digestibility, and phytate

concentration in broilers from hatch to 28 D post-hatch. **Poultry science**. V.98, p.3884-3893, 2019.

WALK, C.L.; RAO. S.V.R. Dietary phytate has a greater anti-nutrient effect on feed conversion ratio compared to body weight gain and greater doses of phytase are required to alleviate this effect as evidenced by prediction equations on growth performance, bone ash and phytate degradation in broilers. **Poultry Science**. V.99, p.246-255, 2020.

ZAKARIA, A.H.; MIYAKI, T.; IMAI, K. The effect of aging on the ovarian follicular growth in laying hens. **Poultry Science**, v. 62, p. 670-674, 1983.

CAPÍTULO III
USO DE SUPERDOSES DE FITASE PARA MATRIZES PESADAS E SEUS EFEITOS
SOBRE O DESEMPENHO DA PROGÊNIE, CONCENTRAÇÕES DE MINERAIS,
GLICEROL E INOSITOL NO SACO DA GEMA

1. INTRODUÇÃO

O principal objetivo de uma granja de matrizes é produzir o maior número possível de ovos com qualidade suficiente para maximizar a eclosão e garantir à progênie a capacidade para enfrentar os desafios iniciais e atingir os alvos de desempenho. Desta forma, a nutrição da reprodutora ganha destaque pelo fato de que é relatada como tendo influência na eclodibilidade, na qualidade da progênie e sua taxa de crescimento inicial (CHANG et al., 2016). Isso é possível devido a capacidade que as reprodutoras têm de transferir os nutrientes provenientes da dieta para o ovo (KENNY et al., 2004).

Nesse contexto, a melhoria na digestibilidade dos nutrientes é uma ferramenta utilizada nos programas de formulação de rações de modo a permitir condições favoráveis para a máxima expressão do potencial genético das aves, sem que haja elevação nos custos de produção (ARAÚJO et al., 2007). Dessa forma, o uso de enzimas exógenas como aditivos tem se destacado.

A enzima fitase vem sendo usada a décadas pela a indústria avícola como estratégia nutricional para redução da inclusão de alguns ingredientes, diminuição do custo da formulação de ração e excreção de nutrientes ao ambiente já que ocorre a aumento da disponibilidade de P fítico, porém os efeitos extra fosfóricos são cada vez mais evidentes e desejados (SELLE et al., 2009; VIVEROS et al., 2002). Prévios estudos avaliando doses crescentes de fitase em dietas de poedeiras (SOTO-SALANOVA; SANTOS, 2013) e bagres (PEATMAN; BECK, 2016), demonstraram aumento significativo na concentração mineral em tecidos, como a gema, o plasma ou o fígado. Segundo os autores, os benefícios relacionados com o incremento dos níveis de minerais foram presumivelmente associados a destruição quase completa do fitato. Além disso, a completa hidrólise da molécula do fitato disponibilizará o mio-inositol, que é um poliálcool cíclico, com fórmula semelhante à glicose, que compõe a molécula de fitato. O papel do mio-inositol na nutrição de aves não é claro e é uma área continua de pesquisa. No entanto, o mio-inositol possui propriedades e funções metabólicas semelhantes à insulina, estimulando a translocação de GLUT4 (o principal transportador de glicose sensível à insulina em mamíferos) para a membrana

plasmática. Isso sugere que ele pode regular o transporte de glicose, a gliconeogênese e a deposição de proteínas em mamíferos (DANG et al., 2010; YAMASHITA et al., 2013). Pesquisas recentes, confirmam que de fato, o mio-inositol administrado por via oral demonstrou melhorar o desempenho de pintos de corte (COWIESON et al., 2013; ZYLA et al., 2013). Em adicional, a suplementação com doses crescentes nas dietas de matrizes pesadas, resultou em uma diminuição significativa no teor de inositol e aumento significativo no teor de glicerol na gema de ovos de reprodutoras com 35 ou 40 semanas de idade (GRANGHELLI et al., 2019). Os autores levantaram a hipótese de que a diminuição do inositol e o aumento correspondente no teor de glicerol na gema podem ser o resultado da conversão do inositol em triglicerídeos, que poderiam então ser utilizados pelo pintinho na eclosão para melhorar a qualidade e a taxa de crescimento

No entanto, pouca informação há para reprodutoras pesadas, nota-se que existe a necessidade de mais estudos demonstrando como a suplementação de fitase na dieta de matrizes pode impactar o desempenho e a qualidade pintinho. Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar a influência da suplementação de superdoses de fitase em dieta de reprodutoras sobre a qualidade do pintinho, a concentração de minerais, inositol e glicerol no saco vitelínico bem como o desempenho da progênie até 42 dias pós nascimento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais na da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob protocolo nº 9196040614.

2.1. Reprodutores

2.1.1. Aves, dietas e delineamento experimental.

Foram utilizadas 216 matrizes, da linhagem AP95 Aviagen, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e 18 repetições de quatro aves cada, suplementadas com a enzima fitase em altas dosagens, conforme descrito na Tabela 6. As aves foram criadas até 20 semanas de idade em um ambiente comercial de criação, quando foram transferidas para a instalação experimental. As práticas de manejo e alimentação durante a fase de cria e recria e produção seguiram as recomendações do manual da linhagem utilizada (ROSS 308 AP, 2017). No período de 20 a 24 semanas de idade, todas as reprodutoras receberam uma ração comum até sua adaptação ao novo ambiente. O experimento teve início na 24^a semana e finalização na 50^a semana.

A ração foi fornecida na forma farelada e sua formulação (Tabela 7) permitiu que a ingestão diária de nutrientes fosse mesma entre os tratamentos atendendo as recomendações nutricionais propostas pelo manual da linhagem (ROSS 308 AP, 2017). Todos os tratamentos receberam rações contendo a mesma formulação de macronutrientes e micronutrientes variando apenas a inclusão de fitase em cada tratamento (500; 1.500; 4.500 FTU/kg).

A enzima utilizada no experimento foi uma fitase de *E. coli* aprimorada (Quantum Blue), fornecida pela AB Vista (Marlborough, Reino Unido), com uma atividade esperada de 5.000 FTU/g.

Os machos utilizados no experimento, para a inseminação artificial, foram mantidos no mesmo ambiente das matrizes, todavia, todos receberam uma mesma ração sem inclusão de fitase, uma vez que, o efeito macho não seria levado em consideração no estudo.

Na 48^o semana de idade, as aves foram inseminadas utilizando-se “pools” de sêmen de três galos. Para isto, foram utilizadas alíquotas (50 µl) de sêmen fresco com concentração final de 200 milhões de espermatozoides /fêmea por dose inseminante e os ovos foram coletados a partir do terceiro dia, após a primeira inseminação, até o décimo dia, e posteriormente armazenados em sala climatizada (18°C) até o momento que antecedeu a incubação. Antes de serem colocados na incubadora, os ovos ficaram em uma sala de espera, à temperatura ambiente, a fim de se prevenir a morte

embrionária pela diferença de temperatura entre a câmara climatizada e a incubadora. A transferência dos ovos ocorreu no 18º dia de incubação e no 21º dia, as aves eclodidas foram contadas, selecionadas e pesadas. Todos os ovos incubáveis trincados antes da incubação ou na transferência, foram eliminados.

Tabela 6- Descrição dos tratamentos experimentais das matrizes de corte

Tratamentos	Dieta experimentais	P, %	Ca, %	Fitase, FTU/kg
1	Dieta basal + 500	-0.15	-0.16	500
2	Dieta basal + 1500	-0.15	-0.16	1500
3	Dieta basal + 4500	-0.15	-0.16	4500

Tabela 7- Composição percentual da dieta basal de matrizes de corte

Ingrediente	Inclusão percentual (%)
Farelo de milho	63,90
Farelo de soja	22,92
Farelo de trigo	3,12
Óleo	1,44
Fosfato bicálcico	1,06
Premix vitamínico ¹	0,100
Premix mineral ²	0,100
Sal	0,41
L - Lisina HCl (78,4%)	0,06
Calcário calcítico	6,98
Total	100,00
	Níveis calculados
Energia metabolizável, kcal/kg	2.820
Ácido linoleico, %	2,20
Cálcio, %	3,04
Fósforo disponível, %	0,30
Lisina, %	0,77
Aminoácidos sulfurados, %	0,59
Metionina, %	0,58
Proteína bruta, %	16,50
Sódio, %	0,20
Treonina, %	0,54
Valina, %	0,67

¹Suplementado por kg de ração: Vitamina A (min.) 9.000U.I./kg; Vitamina D3 (min.) 2.600U.I./kg; Vitamina E (min.)14 U.I./kg; Vitamina K3 (min.) 1,6U.I./kg; Vitamina B1 (min.) 2,2mg/kg; Vitamina B2 (min.) 6mg/kg; Vitamina B6 (min.) 3mg/kg; Vitamina B12 (min.) 10mcg/kg; Ácido nicotídico (min.) 0,03g/kg; Ácido pantotênico (min.) 0,005g/kg; Ácido fólico (min.) 0,6mg/kg; Biotina (min.) 0.1mg/kg

²Suplementado por kg de ração: Zn (min.) 0,126g, Cu (min.) 0,0126g, I (min.) 2,52mg, Fe (min.) 0,105g, Mg (min.) 0,126g.

³ A matriz assumida pela fitase foi: 0,16% Ca e 0,15% P disponível. O valor médio analisado foi 3,18% e 0,50 para Ca e P total, respectivamente.

2.2. Progênie

2.2.1. Aves, instalações, dietas e delineamento experimental

As aves eclodidas, provenientes do experimento com as reprodutoras pesadas, foram selecionadas, pesadas e distribuídas nos tratamentos experimentais. Antes da distribuição, foi feita uma média do peso das aves para evitar desuniformidade do lote. Foram utilizados 648 pintainhos mistos, em delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 3 x 3 (dietas maternas X doses de fitase para a progênie) totalizando nove tratamentos com seis repetições de 12 aves cada. Nos tratamentos em que se avaliou o efeito da dieta maternal sobre a progênie, as aves receberam uma dieta comum (controle negativo sem inclusão de fitase) para verificação desses efeitos. Os tratamentos recebidos pela progênie são descritos na Tabela 8.

Tabela 8- Descrição dos tratamentos experimentais da progênie

Tratamentos	Dieta da matriz	Dieta da progênie
1	Dieta basal + 500 FTU/ Kg	Controle negativo (CN)
2	Dieta basal + 500 FTU/ Kg	CN + 500 FTU/Kg
3	Dieta basal + 500 FTU/ Kg	CN + 1500 FTU/Kg
4	Dieta basal + 1500 FTU/ Kg	Controle negativo (CN)
5	Dieta basal + 1500 FTU/ Kg	CN + 500 FTU/Kg
6	Dieta basal + 1500 FTU/ Kg	CN + 1500 FTU/Kg
7	Dieta basal + 4500 FTU/ Kg	Controle negativo (CN)
8	Dieta basal + 4500 FTU/ Kg	CN + 500 FTU/Kg
9	Dieta basal + 4500 FTU/ Kg	CN + 1500 FTU/Kg

O programa de alimentação adotado foi o de duas fases: inicial (1 a 21 dias) e crescimento/final (21 a 42 dias). As dietas foram fareladas, a base de milho e farelo de soja, e foram formuladas para atender os níveis nutricionais propostos por Rostagno et al. (2011), com redução de Ca e P disponível de 0,16 % e 0,15 %, respectivamente (Tabela 9). A ração era pesada conforme a necessidade do boxe para gerenciamento do consumo e a cada troca de fase era retirada a sobra e distribuída a nova ração, sendo que a água e alimentação foram fornecidos à vontade.

A fitase usada no experimento foi uma fitase de *E. coli* aprimorada (Quantum Blue), fornecida pela AB Vista (Marlborough, Reino Unido), com uma atividade esperada de 5000 FTU/kg. As Tabela 11 e 12 contém os resultados das análises bromatológicas de cálcio, fósforo e fitase, garantindo que os níveis desejados foram atendidos, nas duas fases de criação: inicial (1 a 21 dias), crescimento/ final (21 a 42 dias), respectivamente.

Tabela 9- Composição percentual da dieta basal inicial e crescimento/ final para frangos de corte

Ingrediente	Inicial	Crescimento/Final
Farelo de milho	61,12	64,73
Farelo de soja	34,53	29,53
Fosfato bicálcico	1,00	1,64
Óleo	1,20	2,19
Calcário Calcítico	0,94	0,79
Sal	0,42	0,42
L - Lisina HCl (78,4%)	0,20	0,25
DL-Metionina (99%)	0,08	0,24
Premix vitamínico ¹	0,05	0,05
Premix mineral ²	0,10	0,10
Treonina	0,09	0,06
Total	100	100
Níveis calculados		
Energia Metabolizável kcal/kg	2.983	3.100
Proteína Bruta, %	21,27	19,41
Cálcio, % ³	0,74	0,82
Fósforo disponível, % ³	0,30	0,41
Aminoácidos sulfurados, %	0,87	0,77
Lisina, %	1,21	1,07
Metionina, %	0,47	0,77
Treonina, %	0,79	0,70
Sódio, %	0,21	0,21

¹Suplementado por kg de ração: Vitamina A (min.) 6.000U.I./kg; Vitamina D3 (min.) 2.000U.I./kg; Vitamina E (min.) 10U.I./kg; Vitamina K3 (min.) 1,6 U.I./kg; Vitamina B1 (min.) 1,4mg/kg; Vitamina B2 (min.) 4mg/kg; Vitamina B6 (min.) 2mg/kg; Vitamina B12 (min.)10 mcg/kg; Niacina (min.) 0,03g/kg; Ácido pantotênico (min.) 0,011g/kg; Ácido fólico (min.) 0,6mg/kg.

²Suplementado por kg de ração: Zn (min.) 0,126g, Cu (min.) 0,0126g, I (min.) 2,52mg, Fe (min.) 0,105g, Mg (min.) 0,126g.

³ Matriz assumida pela fitase foi: 0,16 % Ca e 0,15 % P disponível. O valor médio analisado foi: 0,77 % Ca e 0,53 P total (dieta inicial) e 0,78 % Ca e 0,63 P total (dieta de crescimento/ final).

A instalação utilizada foi um galpão convencional com pressão positiva o com boxes equipados com comedouros tubulares, bebedouros tipo “nipple” e o material utilizado como cama foi a casca de arroz. O controle do aquecimento ambiental inicial, foi realizado com a ajuda lâmpadas de infravermelho. Para as fases posteriores de criação, o controle da temperatura e ventilação foi realizado por meio do manejo de cortinas, ventiladores e nebulizadores. Diariamente, foram aferidas as temperaturas máxima, mínima e instantânea, bem como a umidade relativa do ar. O programa de luz

adotado bem como as práticas de manejo adotados foram os preconizados pelo manual da linhagem (ROSS 308 AP, 2017).

2.2.2. Características analisadas

Inicialmente foram avaliadas as fases de mortalidade embrionária dos ovos incubados não eclodidos: mortalidade inicial (1 a 7 dias), intermediária (8 a 14 dias) e mortalidade final (15 a 21 dias). Ademais, avaliou-se a fertilidade (relação entre o número de ovos férteis e o de ovos incubados), a eclodibilidade (calculada pela divisão entre o número de pintos nascidos e o número de ovos férteis incubados, multiplicado por 100) bem como o peso médio dos pintos ao nascer.

Além disto, para fins de coleta do saco vitelínico no dia do nascimento, uma ave por repetição foi selecionada eutanasiada utilizando-se deslocamento cervical. As amostras de saco da gema foram congeladas e armazenadas em freezer (-30°C) e, posteriormente, processadas. As amostras foram liofilizadas e analisadas para determinação da concentração de inositol, glicerol e de minerais (Ca, P, Na, Mg, K, Cu, Fe, Mn e Zn). A concentração de inositol e glicerol do saco da gema foi determinada utilizando-se a metodologia descrita por Lee et al. (2018). A concentração de minerais foi determinada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (AOAC, 2006).

As características de desempenho estudadas na progênie foram: o ganho de peso (g), consumo de ração (g) e a conversão alimentar (g/g) avaliados aos 7, 21 e 42 dias de idade. O cálculo utilizado para o ganho de peso foi atribuído a partir da diferença entre o peso médio das aves final com o peso médio das aves inicial, de cada período avaliado. O consumo de ração foi obtido a partir da diferença do fornecimento e a sobra resultante no comedouro para cada período avaliado. No que se diz respeito a conversão alimentar, foi adquirida a partir da divisão entre o consumo de ração e o ganho de peso em cada período avaliado. A mortalidade foi registrada diariamente. Todas estas características foram avaliadas considerando-se a unidade experimental

3. Análise estatística

Os dados foram analisados no JMP Pro v. 14.0 (SAS, Cary, NC). Para eclodibilidade, qualidade do pintinho e teor de nutrientes da gema, o modelo experimental incluiu a dieta de matrizes. Os dados de eclodibilidade foram transformados usando transformações de Box-Cox e as médias não transformadas são apresentadas. Para as características de desempenho da progênie, o modelo experimental incluiu dieta da reprodutora, dieta da progênie e a interação. Todos os fatores do modelo foram considerados variáveis nominais. Quando os efeitos do modelo foram significativos em $P < 0,05$, as médias foram avaliadas usando contraste ortogonais lineares e quadráticos. As tendências foram discutidas em $P < 0,10$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito da dieta ($P > 0,10$) sobre o peso das reprodutoras de 27 a 50 semanas. O peso médio das galinhas era de 2,6 kg no início do experimento e de 4,1 kg na conclusão do experimento. A atividade da fitase recuperada nas dietas dos reprodutores foi de 336, 1.160 ou 4.610 FTU/kg para 500, 1.500 ou 4.500 FTU/kg, respectivamente. A atividade fitase média recuperada nas dietas da progênie foi < 50 , 360 ou 1.510 FTU/kg (inicial) e < 50 , 670, 1310 FTU/kg (crescimento / final) para 0, 500 ou 1.500 FTU/kg, respectivamente.

Não houve efeito significativo da dieta da matriz na porcentagem de ovos férteis e eclodibilidade (Tabela 10). O percentual de mortalidade embrionária inicial aumentou linearmente ($P < 0,05$) com o incremento da dose de fitase na dieta da matriz, enquanto a porcentagem de mortalidade final e ovos bicados ($P < 0,05$) diminuiu à medida que a dose de fitase aumentou (Tabela 10). O conteúdo de inositol no saco vitelino foi maior na progênie proveniente de matrizes alimentadas com 4.500 FTU/kg seguida daquela proveniente de matrizes alimentadas com 500 FTU/kg, resultando em uma influência quadrática ($P < 0,05$) para esta característica (Tabela 10). Não houve

efeito da dieta das reprodutoras no conteúdo de glicerol do saco vitelínico ($P > 0,01$). Granghelli et al. (2019) relataram aumentos significativos no conteúdo de glicerol da gema (em ovos não incubados) de acordo com o aumento na dose de fitase de 500 para 4.500 FTU/kg. No entanto, o teor de glicerol no saco vitelino, no presente experimento, foi aproximadamente 45 vezes maior que o medido na gema de ovos não incubados de Granghelli et al. (2019).

O teor lipídico da gema aumenta ao longo da incubação quando medido nos dias 6, 9, 12 e 15 do desenvolvimento embrionário conforme relatado por Peebles et al., 1999. Durante a última semana de incubação, a oxidação dos ácidos graxos derivados da gema fornece ao embrião sua principal fonte de energia (YADGARY; UNI, 2012). Isto é essencial devido à alta demanda de energia dispendida durante o desenvolvimento embrionário aliada a incapacidade dos ácidos graxos na gema de fornecer toda a energia necessária para o embrião. Esta situação acaba levando ao catabolismo anaeróbico da glicose que é um processo que depende da quantidade de reservas de glicogênio nos tecidos e do que é gerado pela gliconeogênese a partir de aminoácidos, glicerol e lactato. O inositol pode ser sintetizado a partir de glicose no cérebro, fígado, rim e em testículos de ratos a partir de fosfatidilinositóis (IP2, IP3, PIPs, PIP3) (HUBER, 2016). Portanto, no experimento atual, a redução significativa da mortalidade embrionária final e do percentual de ovos bicados, com o aumento da suplementação de fitase nas dietas de matrizes, pode ser devido à provisão de inositol ou glicerol, atuando como melhoradores do *status* energético, que é então usado pelo pintinho durante e imediatamente após o nascimento, impactando na primeira semana após o nascimento e na redução da mortalidade inicial.

Tabela 10- Influência da suplementação de fitase em dieta de matrizes de corte sobre a qualidade da progênie e concentração de nutrientes no saco vitelínico no dia da eclosão

Variáveis	Fitase, FTU/kg				Dieta	Contraste ¹	
	500	1500	4500	SEM ³		L	Q
Ovos férteis, %	97,0	95,9	96,5	1,3	0,92		
Eclodibilidade, %	81,5	88,0	84,6	3,1	0,40		
M inicial ² , %	3,44	6,01	10,8	1,7	0,02	<0,01	0,61
M intermediária ² , %	0,00	1,12	0,64	0,5	0,23		
M. final ² , %	6,37	1,62	1,46	1,4	0,03	0,02	0,19
Ovos bicados, %	7,46	2,32	1,91	1,9	0,08	0,04	0,31
Inositol, µmol/g	1,36	1,22	1,52	0,07	0,02	0,13	0,02
Glicerol, µmol/g	158	148	150	8,17	0,66		

¹ L, Contraste linear. Q, Contraste quadrático.

² Mortalidade inicial (1 a 7 dias), intermediária (8 a 14 dias) e mortalidade final (15 a 21 dias).

³ Erro padrão da média.

O desempenho da progênie foi influenciado pela dieta das matrizes em maior extensão do que a dieta dos pintinhos fornecida após a eclosão. Foi observado que o peso corporal inicial e no 7º dia pós-eclosão aumentaram linearmente ($P < 0,05$) quando a dose de fitase na dieta da reprodutora aumentou de 500 para 4.500 FTU/kg (Tabela 11). Como afirmado anteriormente, a nutrição da matriz pesada pode propiciar um impacto positivo na taxa de crescimento dos pintinhos. Neste sentido, houve uma correlação positiva fraca, mas significativa ($P < 0,05$) entre a concentração de inositol no saco vitelino e peso corporal dos pintos no dia da eclosão ($r=0,32$) e ao 7º dia ($r=0,30$) confirmando a influência da nutrição das matrizes na taxa inicial de crescimento dos pintos. Não houve efeito significativo da dieta da matriz no 21º e 42º dia de idade dos frangos (Tabela 11). Da mesma forma, a suplementação de fitase na dieta da progênie não afetou significativamente o peso corporal durante toda a fase de produção. Além disto, não houve efeito de interação entre dieta da matriz e dieta da progênie para esta característica.

Avaliando dois níveis de P fítico (0,22% e 0,44%) e três concentrações de fitase (0, 500 e 1.000 FTU/kg de ração) na alimentação de frangos, Liu et al. (2008) mostraram que a fitase melhorou o ganho de peso de frangos de corte, porém, não houve diferença para os dois níveis estudados. Já Brunelli et al. (2012) realizaram experimento com ração controle e outras duas rações suplementadas com fitase (750

FTU/kg; 1.500FTU/kg de ração), porém não encontraram efeito sobre as características de ganho de peso de frango de corte. Estes resultados estão em concordância com os do presente estudo e, vale destacar, que tanto no experimento de Brunelli et al. (2012) quanto neste estudo fitase utilizada foi a mesma.

Segundo Laurentiz et al. (2009) a inclusão de 500 FTU/kg na ração é suficiente para garantir o desempenho de frangos quando níveis de P disponível são reduzidos em média de 18% e 36% em relação ao ideal. Por outro lado, estudo conduzido para comparar os efeitos de diferentes concentrações de fitase (250, 500 e 2.500 FTU/kg de ração na dieta) com baixas concentrações de P disponível (28 g/kg na fase inicial e 23 g/kg na fase de crescimento), mostraram que o ganho de peso aumentou de modo linear em resposta à dosagem de fitase quando comparados aos frangos alimentados com a baixa quantidade de P na dieta (PIRGOZLIEV et al. 2009). Os resultados ainda mostraram que aves alimentadas com 2.500 FTU/kg de ração tiveram 6,6% maior ganho de peso e 2,4% maior conversão alimentar quando comparados aos frangos alimentados com 500 FTU/kg de ração. Semelhantemente, Denbow et al. (1995) ao trabalharem com 200, 400, 600, 800, 1.000 e 1.200 FTU/Kg em dietas para frangos contendo 0,20; 0,27 ou 0,34% de fósforo disponível, observaram aumento no ganho de peso e no consumo de ração em todos os níveis de P disponível, mas a máxima resposta foi obtida com a dieta que continha 0,20 de P não fítico. Vale destacar, no entanto, que a fitase utilizada por estes autores era de origem fúngica.

O consumo de ração foi afetado pela dieta da matriz ao 7^o e 21^o dias de idade ($P < 0,05$), ocorrendo um aumento linear de acordo com elevação na dose de fitase de 500 para 4.500 FTU/kg (Tabela 11). Este resultado pode ser explicado pela relação do ganho de peso corporal inicial e o consumo de ração, em que aves com maior desenvolvimento corporal tem melhor desenvolvimento de órgãos internos, em especial intestino, conseqüentemente possuem maior ingestão de ração. Não houve a continuidade do efeito da dieta materna após 21 dia de idade das aves. É provável que essa diferença seja mais sensível na fase inicial de alimentação, visto que em fase final de crescimento os frangos de corte têm uma maior voracidade alimentar. Não houve efeito significativo para o consumo de ração durante a suplementação de fitase na dieta de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade. Não foi observado efeito de

interação entre a dieta da matriz x dieta da progênie para variável consumo de ração durante todo o período de criação.

Melhorias no consumo de ração foi verificada por Donato et al. (2011), com a suplementação de 1.200 FTU/kg de fitase de origem fúngica em associação a 30 % de redução aos níveis de Ca, P disponível e níveis de proteína bruta. Um estudo realizado por Pieniasek et al. (2017) em frangos de corte de 1- 42 dias submetidos a redução de 12 a 22 % de P disponível e suplementados com 2.000 FTU/kg de fitase, mostrou consumo de ração semelhante ao grupo controle positivo e maior que a suplementação com 500 FTU/kg. Contrário a estes resultados, Brunelli et al. (2012) realizaram experimento com ração controle e outras duas rações suplementadas com fitase (750 FTU/kg; 1.500 FTU/kg de ração), porém não encontraram efeito sobre as características de consumo de ração de frango de corte.

Tabela 11- Influência da suplementação de fitase na dieta de matrizes de corte e da progênie e o efeito subsequente sobre o peso corporal e consumo de ração de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade

Fitase, FTU/kg		Peso corporal			
Dieta matriz	Dieta progênie	Inicial	Dia 7	Dia 21	Dia 42
		(g, ave)	(g, ave)	(g, ave)	(g, ave)
500		47,7	168	901	2858
1.500		47,9	173	926	2872
4.500		48,6	181	929	2862
SEM		0,29	2,07	12,3	39,3
	0	47,9	175	908	2848
	500	48,3	172	910	2893
	1.500	48,0	175	938	2852
SEM ¹		0,29	2,08	12,2	39,3
Dieta matriz		0,08	< 0,01	0,22	0,97
Linear		0,03	< 0,01		
Quadrático		0,53	0,70		
Dieta Progênie		0,70	0,39	0,17	0,66
Interação		0,39	0,60	0,68	0,62
Fitase, FTU/kg		Consumo de ração			
Dieta Matriz	Dieta Progênie	Dia 7	Dia 21	Dia 42	
		(g, ave)	(g, ave)	(g, ave)	
500		126,1	1138,4	4713,6	
1.500		131,1	1154,4	4753,0	
4.500		146,5	1200,0	4830,1	
SEM		1,96	16,9	48,3	
	0	133,4	1140,5	4693,9	
	500	134,8	1169,5	4781,9	
	1.500	135,4	1182,8	4821,0	
SEM ¹		1,96	16,9	48,4	
Dieta Matriz		<0,01	0,03	0,24	
Linear		<0,01	0,01		
Quadrático		0,03	0,47		
Dieta Progênie		0,70	0,22	0,18	
Interação		0,84	0,91	0,51	

¹ Erro padrão da média.

Em relação a conversão alimentar, o efeito da dieta maternal continuou até os 21º dias após a eclosão, tendo uma tendência deste efeito até 42 dias de idade dos frangos. Houve aumento quadrático no 7º, 21º, 42º dia de idade de idade dos frangos de corte ($P < 0,05$, $P < 0,01$ e $P = 0,09$, respectivamente), em que observou-se pior conversão alimentar com a utilização de 4.500 FTU/kg de fitase (Tabela 12). Além disto, houve efeito significativo quadrático da suplementação de fitase na dieta de frangos de corte no 21º dia de idade, sendo que ocorreu aumento da conversão alimentar quando a dose de 500 FTU/ Kg foi utilizada. Não foi observado efeito de interação entre a dieta da matriz x dieta progênie sobre a conversão alimentar.

Trabalho realizado por Liu et al. (2008), avaliando dois níveis de P fítico (0,22% e 0,44%) e três concentrações de fitase (0 FTU/kg, 500 FTU/kg e 1.000 FTU/kg de ração) na alimentação de frangos, mostraram que a fitase melhorou a taxa de conversão alimentar de frangos de corte, porém, não houve diferença entre a suplementação de 500 FTU/kg e 1.000 FTU/kg na ração. Diferente do presente estudo, que encontrou piora na taxa de conversão alimentar aos 21 dias de idade com a suplementação de fitase de 500 FTU/kg na dieta de frangos de corte com tendência de aumento linear, de acordo com o incremento das doses de fitase, aos 42 dias de idade dos frangos.

Segundo estudo feito por Donato et al. (2011), houve melhora no ganho de peso e no consumo de ração de frangos com a suplementação de 1.200 FTU/kg de fitase associado a 30 % de redução aos níveis de Ca, P disponível e níveis mínimos de proteína bruta. No entanto, nenhum resultado foi observado para conversão alimentar. Em outros estudos, a inclusão de 1.500 FTU/kg na ração melhorou o desempenho, particularmente a taxa de conversão alimentar de frangos alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de Ca (0,16%) e P disponível (0,15%). Os autores afirmam que as melhorias na eficiência alimentar estão associadas à destruição do fitato e remoção dos seus efeitos antinutritivos, promovendo assim digestão mais eficiente (WALK et al., 2013; WALK et al., 2014).

Tabela 12- Influência da suplementação de fitase na dieta de matrizes de corte e da progênie e o efeito subsequente sobre a conversão alimentar em frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade

Fitase, FTU/kg		Conversão alimentar, g		
Dieta matriz	Dieta progênie	Dia 7 (g/ ave)	Dia 21 (g/ ave)	Dia 42 (g/ ave)
500		1,05	1,33	1,70
1.500		1,04	1,31	1,68
4.500		1,08	1,37	1,71
SEM		0,01	0,01	0,01
	0	1,04	1,32	1,68
	500	1,07	1,37	1,70
	1.500	1,06	1,33	1,72
SEM ¹		0,01	0,01	0,01
Dieta matriz		0,02	<0,01	0,09
Linear		0,02	0,06	0,21
Quadrático		0,06	<0,01	0,07
Dieta Progênie		0,31	0,03	0,07
Linear			0,66	0,02
Quadrático			0,01	0,79
Interação		0,39	0,80	0,85

¹ Erro padrão da média.

Os resultados de desempenho obtidos neste experimento contradizem a hipótese de que o desempenho das aves possa continuar a melhorar com o aumento da suplementação de fitase nas dietas acima dos padrões recomendados pela indústria. A ausência de efeitos com a suplementação em doses crescentes de fitase na dieta de frangos para as características de peso corporal, consumo de ração e piora na taxa de conversão aos 42 dias de idade das aves, pode ser consequência de uma insuficiente redução dos níveis de Ca e P disponível na dieta. Segundo Persia e Saylor (2006) o desempenho de frangos e a suplementação de fitase na dieta podem ser dependentes dos níveis de P não fítico. Segundo estes autores a suplementação de 600 FTU/kg em dietas para frangos resultaram em aumento no ganho de peso, consumo de ração, porcentagem de cinzas nas tíbias e redução da mortalidade de

frangos. Os autores mostraram que a fitase foi capaz de reduzir os requerimentos de P não fítico em 8,5% para o ganho de peso, 3,5% para o consumo de ração e 6,5% para a porcentagem de cinzas na tíbia. O efeito da fitase foi mais evidente em baixas concentrações de P não fítico do que em dietas com altas concentrações deste nutriente.

No entanto, estudo conduzido por Karadas et al. (2010), mostraram que as aves que consumiram dietas contendo 12.500 FTU/kg de ração tiveram 6 % maior ganho de peso e 9.4 % menor conversão alimentar quando comparadas com as aves que consumiram a dieta controle positivo. Provavelmente, se o presente estudo contivesse doses mais elevadas de fitase na dieta da progênie, poderia ser observado melhoria no desempenho dos frangos de corte.

Por outro lado, melhorias no peso (nascimento e 7 dias de idade), consumo de ração (7 e 21 dias de idade) e conversão alimentar (7, 21 e 42 dias de idade), foram observadas na progênie no presente estudo apenas com a suplementação maternal, sugerindo a não necessidade de utilização de fitase para frangos de corte, caso as reprodutoras pesadas tenham sido alimentadas com doses mais altas de fitase. Porém, mais estudos precisam ser realizados para compreender melhor a relação dos efeitos da suplementação de fitase na dieta de matrizes sobre a progênie.

A suplementação de fitase na dieta maternal influenciou a concentração de macrominerais no saco da gema. Houve efeito quadrático nas concentrações de Mg e K ($P < 0,01$) com aumento da concentração destes minerais até a dose de 1.500 FTU/ kg de fitase (Tabela 13). Em relação a concentração de Na, observou-se efeito linear ($P < 0,05$) com o aumento da dose de fitase na dieta da maternal (Tabela 13). As melhorias da disponibilidade de Na, Mg, e K podem ser explicadas pela melhora da absorção de minerais como consequência da redução da concentração de fitatos nas dietas conforme observado em outras em outras espécies (SOTO- SALANOVA; SANTOS., 2013; PEATMAN; BECK, 2016; ROJAS et al., 2017) e foi alcançada no presente estudo, particularmente nas dietas contendo 1.500 e 4.500 FTU/Kg de inclusão de fitase. Não foi observado efeito significativo nas concentrações dos minerais Ca e P (Tabela 13). Isso pode ser explicado pelo aumento da demanda de Ca e P no desenvolvimento embrionário, visto que melhoras foram encontradas em estudo

prévio com a suplementação de fitase em dieta de matrizes de corte em gema de ovos (GRANGHELLI et.al., 2019).

As concentrações de microminerais no saco da gema também foram influenciadas pela suplementação de fitase na dieta maternal. Houve efeito significativo e quadrático na concentração de Mn ($P < 0,05$), aumentando sua concentração até a dose de 1.500 FTU/kg. Houve tendência nos resultados da concentração de Zn ($P=0,06$), observando-se aumento linear de acordo com o acréscimo na dose de fitase. Este resultado para Mn e Zn, pode ser consequência da redução de fitato na dieta, devido à quebra desta molécula propiciando aumento da disponibilidade de microminerais, semelhantemente ao que ocorreu com os macrominerais. Os minerais Cu e Fe não foram influenciados pelo aumento da dosagem de fitase na dieta de matrizes pesadas. Em estudo realizado por Granghelli et al. (2019), foi observado melhorias na disponibilidade de Cu em gema (ovos não incubáveis) quando se utilizou a suplementação de 1.500 FTU/kg. Este resultado mostra um suposto aumento de demanda na utilização de Cu no desenvolvimento embrionário. Em se tratando do Fe, não houve efeito das dosagens de fitase na dieta, assim como não foi observado diferenças em gema de ovos não incubáveis (GRANGHELLI et., 2019).

Tabela 13- Influência da dieta de matrizes de corte sobre a concentração de macrominerais e microminerais no saco vitelínico no dia do nascimento

Dieta	Fitase, FTU/kg	Ca	Na	Mg	K	P
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
1	500	0,975	0,116	0,036	0,101	0,534
2	1.500	1,040	0,129	0,046	0,139	0,539
3	4.500	1,105	0,136	0,036	0,118	0,507
SEM ¹		0,078	0,006	0,002	0,006	0,015
	Dieta	0,49	0,05	<0,01	<0,01	0,28
	Linear		0,01	0,83	0,05	
	Quadrático		0,66	<0,01	<0,01	
Dieta	Fitase, FTU/kg	Cu	Fe	Mn	Zn	
		(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	
1	500	7,39	51,7	3,28	38,4	
2	1.500	11,70	46,9	4,45	44,5	
3	4.500	18,83	46,4	2,98	48,9	
SEM ¹		5,24	3,1	0,37	3,2	
	Dieta	0,29	0,40	0,02	0,06	
	Linear			0,58	0,02	
	Quadrático			<0,01	0,82	

¹ Erro padrão da média.

Diferenças observadas nas concentrações dos minerais Na, K, Mn, Zn no saco gema, apontam que o fitato pode interferir não apenas na absorção de Ca e P, proporcionando um efeito muito mais amplo na nutrição animal. Pode-se dizer que a maior concentração mineral no saco gema pode ter efeito direto na eclodibilidade e no desenvolvimento inicial de pintos, conforme demonstrado pelos resultados observados no presente estudo.

5. CONCLUSÕES

A nutrição de matrizes melhorou a taxa de crescimento inicial e reduziu a mortalidade embrionária final. As doses crescentes de fitase aumentaram a concentração de inositol do saco da gema, que pode ter sido utilizada pelo embrião como fonte de energia durante a eclosão. Além disto, houve aumento na disponibilidade de macro e micro minerais pela quebra da molécula de fitato.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International 18th ed., AOAC, Arlington, VA, 2006

ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M.R.; LIMA, C. B. Uso de Aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.

Brunelli, S.R; Pinheiro, J.W; Bridi, A.M; Fonseca, N.A.N; Silva, C.A; Oba, A. Efeitos da fitase no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. *Cien. Agr.* v.33, n.2, p 3279-3286, 2012.

CHANG, A., J. HALLEY, M. SILVA. Can feeding the broiler breeder improve chick quality and offspring performance? **Animal Production Science**.v.56, p.1254-1262, 2016.

COWIESON, A.J.; PTAK, A.; MACKOWIAK, P.; SASSEK, M.; PRUSZNSKA-OSZMALEK, E.; ZYLA, K.; SWIATKIEWICZ, S.; KACMAREK, S.; JOZEFIAK, D. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. **Poultry Science**, v. 92, p. 2124–2134, 2013.

DANG, N.T.; MUKAI, R.; YOSHIDA, K.-I.; ASHIDA, H. D-pinitol and myo-inositol stimulate translocation of glucose transporter 4 in skeletal muscle of C57BL/6 mice. **Bioscience. Biotechnology. Biochemistry**, v. 74, p.1062–1067, 2010.

DENBOW, D.M.; RAVINDRAN, V.; KORNEGAY; YI, Z. et al. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, v.74, n.11, p.1831-1842, 1995.

DERSJANT-LI, Y; AWATI, A; SCHULZE, H; PARTRIDGE, G. 'Phytase in nonruminant animal nutrition: A critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors', **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 878-896, 2015.

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

GRANGHELLI, C. A.; C. L. WALK; L. F. ARAUJO; S. M. SILVA; M. L. CUADROS; Y. G. A. SARTORE; M. T. DIAS; C. BREARLEY; M. SMITH; C. S. S. ARAUJO Phytase superdosing increased yolk mineral concentration while decreasing yolk inositol concentration from breeder hens aged 35- or 40-weeks. **22nd European Symposium on Poultry Nutrition**, 10-13 June 2019, Gdansk, Poland.

HUBER, K.: Cellular myo-inositol metabolism. In: Phytate Destruction – Consequences for Precision Animal Nutrition, C. L. Walk et al. (ed.), **Wageningen Academic Publishers**, p.53-60, 2016.

KARADAS F; PIRGOZLIEV V; PAPPAS A.C; ACAMOVIC T; BEDFORD M.R. Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the liver of growing broilers. **Jour Ani. Physi. Ani. Nutrit.** v.94, n.1, p.519-526, 2010.

KENNY, M., KEMP, C. Breeder nutrition and chick quality. **International Hatchery Practice**, v. 19, p. 7 – 11, 2004.

LAURENTIZ, A.C; JUNQUEIRA, O.M; FILARDI, R.S; DUARTE, K.F, ASSUENA, V, SGAVIOLI, S. Desempenho, composição da cama, das tíbias, do fígado e das excretas de frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.38, n.10, p.1938-1947, 2009.

LEE, S. A.; J. DUNNE, E; FEBERY, C. A BREARLEY; T. MOTTRAM; M. R. BEDFORD: Exogenous phytase and xylanase exhibit opposing effects on real-time gizzard pH in broilers. **British Poultry Science.** v.59, p.568-578, 2018

LIU N; RU Y.J; COWIESON A.J; LI F.D; CHENG X.CH. Effects of phytate and phytase on the performance and immune function of broilers fed nutritionally marginal diets. **Poultry Science.** v.87, n.6, p.1105-1111, 2008.

Manual de Objetivos de Desempenho ROSS (308) AP (AP95). Accessed Nov. 2017.
<http://pt.aviagen.com/tech-center/download/1079/Ross308AP-PS-PO-PT-2017.pdf>

PEATMAN, E.; B. H. BECK. From floor sweepings to fish flesh – phytase superdosing in the US catfish industry. In: Phytate Destruction – **Consequences for Precision Animal Nutrition**, C. L. Walk et al. (ed.), Wageningen Academic Publishers, v.1 p 237-250, 2016.

PEEBLES, E D.; L. LI, S; MILLER, T; PANSKY, S; WHITMARSH, M. A; LATOUR, P; D. GERARD. Embryo and yolk compositional relationships in broiler hatching eggs during incubation. **Poultry Science.** v.78, p.1435-1442, 1999.

PERSIA M E; SAYLOR WW. Effects of broiler strain, dietary nonphytate phosphorus, and phytase supplementation on chick performance and tibia ash. **Journal of Applied Poultry Research.** v.15, p.72-81, 2006.

PIENIAZEK, J.; SMITH, K.A.; WILLIAMS, M.P.; MANANGI, M.K.; VAZQUEZ-ANON, M.; SOLBAK, A.; MILLER, M.; LEE, J. T. Evaluation of increasing levels of microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. **Poultry Science**, v.96, p.370-382, 2017.

PIRGOZLIEV, V; ODUGUWA, O; ACAMOVIC, T; BEDFORD, M.T. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. **British Poultry Science**. v. 49. N.2. p.144-154, 2009.

ROJAS, I.Y.M.; GONZÁLEZ, E.A.; MENOCA, J.A.; SANTOS, T.T.; ARGUELLO, J.R.; COELLO, C.L. Assessment of a phytase included with lactic acid on productive parameters and on deposition of phosphorus, calcium, and zinc in laying hens fed with sorghum–soybean-meal-based diets, **Journal of Applied Animal Research**,v.46. n.1, p.314-321, 2018.

ROSTAGNO, H. S. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 2011.

SAS Institute. 2014. User's guide. Statistics Version JMP Pro v. 14.0. Cary: SAS Inst, Inc., Cary, NC.

SELLE, P.H; COWIESON, A.J; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock. Science**, v. 124, n.1-3, p. 126–141, 2009.

SOTO-SALANOVA, M.; T.T. SANTOS. High phytase levels increase mineral deposition in egg yolks. **XV European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products**. Bergamo, Italy 15-19th September 2013.

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

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

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

YADGARY, L.; Z, UNI: Yolk sac carbohydrate levels and gene expression of key gluconeogenic and glycogenic enzymes during chick embryo development. **Poultry Science** v.91, p.444-453, 2012

YAMASHITA, Y; YAMAOKA, M; HASUNUMA, T; ASHIDA, H; YOSHIDA, K.I. Detection of orally administered inositol stereoisomers in mouse blood plasma and their effects on translocation of glucose transporter 4 in skeletal muscle cells. **J. Agric. Food Chem**, v. 61, p. 4850–4854, 2013.