



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIA AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS E DE FITASE NAS DIETAS
PARA CODORNAS JAPONESAS

DIEGO MARIANO VASCONCELOS

AREIA – PARAÍBA
ABRIL DE 2018

**DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS E DE FITASE NAS DIETAS
PARA CODORNAS JAPONESAS**

Diego Mariano Vasconcelos

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa

Prof. Dr^a. Patrícia Emília Naves Givisiez

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

AREIA – PARAÍBA

ABRIL DE 2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

V331d Vasconcelos, Diego Mariano.

DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS E DE FITASE NAS
DIETAS
PARA CODORNAS JAPONESAS / Diego Mariano Vasconcelos.
- João Pessoa, 2019.
40 f. : il.

Orientação: Fernando Costa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/Campus II.

1. enzima; fitase; mineralização óssea;
performance. I. Costa, Fernando. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS E DE FITASE NAS DIETAS PARA CODORNAS JAPONESAS”

AUTOR: Diego Mariano Vasconcelos

ORIENTADOR: Fernando Guilherme Perazzo Costa

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva
Examinador
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Jorge Cunha Lima Munt
Examinador
Bolsista/ PNPB

Areia, 12 de abril de 2018

AGRADECIMENTOS

Obrigada Senhor por ter me dado forças para continuar nessa caminhada, sem o Senhor nada disso teria acontecido. Entender a sua vontade nem sempre é fácil, mas crer que Ele está no comando e tem um plano para nossa vida, faz a caminhada valer a pena. Só tenho agradecer ao Senhor.

Aos professores da Universidade Federal da Paraíba, que contribuíram para minha formação e ensinamentos científicos. Em especial à professora Patrícia Emília Naves Givisiez, e ao Professor José Humberto Vilar da Silva.

Aos professores Fernando Guilherme Perazzo Costa, Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, Patrícia Emília Naves Givisiez e José Humberto Vilar da Silva pelas orientações, ensinamentos, paciência e dedicação que me fizeram ter força de vontade.

Agradeço a UFPB e ao CCA que tornou realidade meu sonho.

Ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciência Agrárias – Universidade Federal da Paraíba pelas oportunidades oferecidas.

A minha família que sempre me deu apoio, força e confiança, em especial ao meu pai João da Veiga Cabral, minha mãe Maria das Graças de Vasconcelos, tia Neves, pelas palavras de incentivos e sempre acreditaram no meu potencial. Sempre ao meu lado nas vitórias e nas derrotas. Desejo todo carinho a vocês e esse trabalho também é mérito de vocês!

Aos meus irmãos João Paulo e Jeronymo. São exemplos de dignidade, força, humildade que serviram de motivação. E aos meus primos André e Raphael por estarem sempre presentes.

A minha namorada Ana Clara Almeida, por estar comigo nos momentos mais difíceis, e compartilhando momentos bons. Peço desculpas pela minha ausência, mesmo assim sempre me motivando para meu crescimento.

Ao estado da Paraíba e a cidade de Areia, pelo acolhimento e oportunidades concedidas.

À empresa AB Vista, à CAPES.

A todos do GETA, que teve contribuição com meu crescimento profissional nesses dois anos. Em especial ao Professor Matheus Ramalho, Guilherme Lima o “Rei do Galo” e a Lucas Nunes o “Galinho” que nossa amizade será para sempre. Todos que fazem parte tenham sucesso!

Às pessoas que moraram comigo, Fabrício Ehm e Fernanda Parízio. Obrigado pela oportunidade de serem meus amigos e de terem compartilhado momentos bons, ao lado de uma boa ipueira.

Aos amigos Thiago, Luciano, Wendel e Valéria Borges que fizeram que essa caminhada fosse divertida, força e apoio incondicional.

Aos amigos da casa abandonada, Aldevan, Raphael, Danilo, Fio Fio e Yasmin, que sempre estavam presentes nesse período de aprendizado e compartilhando conhecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Ácido Fítico.....	14
2.2 Ação da fitase no trato digestivo.....	16
2.3 Suplementação de fitase para aves.....	17
2.4 Superdosagem de fitase.....	18
2.5 Efeito da fitase na qualidade óssea.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Local.....	21
3.2 Animais, instalações e dietas experimentais.....	21
3.3 Variáveis analisadas.....	25
3.3.1. Desempenho Zootécnico.....	25
3.3.2. Características da qualidade dos ovos.....	25
3.3.3. Resistência óssea.....	26
3.4. Análise estatística.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1. Desempenho Zootécnico.....	27
4.2. Características da qualidade do ovo.....	29
4.3. Resistência óssea.....	31
5. CONCLUSÕES.....	33
6. REFERÊNCIAS	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição das rações de codornas japonesas em sua fase de postura, submetidas a diferentes dietas alimentares e suplementadas com fitase.....	23
Tabela 1. (Continuação)	Composição calculada das diferentes dietas experimentais para codornas japonesas.....	24
Tabela 2.	Efeito da suplementação de fitase associado a diferentes matrizes nutricionais sobre o consumo de ração (CR, g/ave/dia), produção de ovos (PR, %), peso médio dos ovos (PO, g), massa de ovo (MO, g/g), conversão por massa de ovo (CMO, g/g) e conversão por dúzia de ovos (CDZ, kg/dz).....	27
Tabela 3.	Desdobramento da interação entre a matriz nutricional e a utilização da enzima fitase, sobre a produção de ovos (PR), conversão por massa de ovos (CMO) e conversão por dúzia de ovos (CDZ) de codornas japonesas de 17 a 32 semanas.....	28
Tabela 4.	Efeito da suplementação de fitase em dietas com redução nutricional sobre gravidade específica (GE, g/cm ³), espessura de casca (E _{casca} , mm), porcentagem de gema (P _{gema} , %), porcentagem de albúmen (P _{alb} , %), porcentagem de casca (P _{casca} , %) e unidade haug (UH) de ovos de codornas japonesas.....	30
Tabela 5.	Desdobramento da interação entre a matriz nutricional e a utilização da enzima fitase, sobre o porcentagem de albúmen de codornas japonesas de 17 a 32 semanas.....	31
Tabela 6.	Parâmetros ósseos de codornas japonesas alimentadas com rações com ou sem restrição nutricional suplementadas ou não com fitase	32

Diferentes níveis nutricionais e de fitase nas dietas para codornas japonesas

RESUMO

Foram utilizadas 588 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com idade média de 120 a 188 dias o objetivo com essa pesquisa foi de avaliar o efeito da superdosagem de fitase sobre as variáveis de desempenho, qualidade de ovos e mineralização óssea. O estudo foi desenvolvido em um delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial (4x3), sendo 4 doses de fitase (0, 500, 100 e 1500 FTU/kg de ração) e 3 matrizes nutricionais (Matriz 1 com 100%, a Matriz 2 com 95% e a Matriz 3 com 90% das recomendações nutricionais), totalizando 12 tratamentos com sete repetições de 12 aves cada. As matrizes nutricionais influenciaram a produção de ovos ($P<0,001$), massa de ovos ($P<0,001$), conversão por massa de ovos ($P<0,001$) e a conversão por dúzia de ovos ($P<0,001$). Houve interação significativa das matrizes nutricionais com os níveis de fitase na produção de ovos, sendo que a redução nutricional de 10% reduziu a variável na ração sem fitase ($P<0,001$), enquanto a suplementação da fitase, não apresentou efeito significativo. A matriz 1 promoveu ovos com casca mais espessa ($P=0,027$). Não houve efeito de matrizes nutricionais sobre as outras variáveis de qualidade do ovo ($P>0,05$). Houve efeito de interação (matriz x fitase) sobre porcentagem de albúmen ($P=0,0047$). A fitase na ração incrementa o desempenho das aves independente da matriz avaliada, com melhores aplicações em dietas com 10% de redução nutricional e dose de 1166 FTU/kg de ração.

Palavras-chave: enzima; fitase; mineralização óssea; performance; qualidade do ovo

Phytase overdosing in Japanese quail diets

ABSTRACT

Were used 588 Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) aged 17 to 32 weeks were used to investigate the effects of phytase overdosage on performance, egg quality, and bone mineralization. The study was developed in a factorial scheme (4 doses of phytase, 0, 500, 100 and 1500 FTU / kg of feed and 3 nutritional matrices, Matrix 1 with 100%, Matrix 2 with 95% and Matrix 3 with 90 % of nutritional recommendations), totaling 12 treatments with seven replicates with 12 birds each. Nutritional matrices influenced egg production ($P < 0.001$), egg mass ($P < 0.001$), conversion by egg mass ($P < 0.001$) and conversion per dozen eggs ($P < 0.001$). There was a significant interaction in egg production, and the nutritional reduction of 10% reduced the variable in the diet without phytase ($P < 0.001$), whereas with phytase supplementation (500 FTU, $P = 0.56$, 1000 FTU, $P = 0.57$; 1500 FTU, $P = 0.15$), there was no significant effect. The matrix 1 promoted eggs with the thicker shell ($P = 0.027$). There was no effect of nutritional matrices on the other egg quality variables ($P > 0.05$). There was interaction effect (matrix x phytase) on the percentage of albumen ($P = 0.0047$), diets without nutritional reduction. Nutritional reduction negatively influences quails. Phytase in the diet increases the performance of birds in any evaluated matrix, with better applications in diets with 10% nutritional reduction and a dose of 1166 FTU / kg of feed.

Keywords: phytase; Performance; egg quality; bone mineralization; superdosing

1. INTRODUÇÃO

O fitato é um dos mais importantes fatores antinutricionais em alimentos de origem vegetal, sendo responsável por perdas significativas de nutrientes como aminoácidos, energia, proteínas e minerais. Ele reduz a disponibilidade dos nutrientes para o animal, formando sais insolúveis com minerais e aminoácidos, e ainda aumenta a produção de mucinas intensificando o “*turnover*” celular no trato digestório (COWIESON et al., 2009). Considerando-se que os principais alimentos utilizados nas dietas de não ruminantes no Brasil são de origem vegetal, sendo milho e soja os mais utilizados, e que a maior parte do fósforo presente nestes ingredientes se encontra na forma de ácido fítico, o qual é indisponível para as aves. Vale ressaltar que ingredientes alternativos, como o trigo, também possuem este fator antinutricional (FRANCESHINA et al., 2016).

Como os animais produzem fitase em quantidade inferior as suas necessidades, é importante a sua suplementação na dieta, pois verifica-se que a utilização da fitase exógena aumenta a utilização de vários nutrientes, incluindo aminoácidos e vários cátions, como fósforo (P), cálcio (Ca), ferro (Fe), magnésio (Mg) e potássio (K) (SANTOS et al., 2011).

A suplementação com fitase foi inicialmente estudada para avaliar a disponibilidade de fósforo nas dietas para não ruminantes, visto que o fósforo é um dos mais importantes e caros minerais essenciais para as aves, e 50% a 85% está na forma de fitato de P nos ingredientes, sendo, portanto mal utilizado pelas aves (SELLE & RAVIDRAN, 2007). A má utilização do fitato de P tem sido uma preocupação em termos ambientais e econômicos, porque esse mineral eliminado junto com as excretas contamina o solo, em vez de ser aproveitado pelo animal e acarreta maior necessidade de suplementação na dieta (LELIS et al., 2010).

A suplementação com fitase é amplamente utilizada na nutrição de aves, sendo 500 FTU/kg o nível recomendado de inclusão (COWEISON et al., 2009). No entanto, recentemente tem surgido o interesse científico e industrial do uso do conceito da “superdosagem de fitase”, visto os possíveis benefícios de doses mais elevadas de fitase (>1.500 FTU/kg) visando alcançar a desfitanização quase completa da dieta e gerar mio-inositol. Estes benefícios vão além da capacidade da fitase em liberar P, mas também incluem a remoção dos efeitos antinutritivos do fitato trazendo a melhoria da eficiência alimentar (DOS SANTOS et al., 2013), melhoria da capacidade de resposta imunológica (LIU et al., 2008), melhoria da capacidade antioxidante (KARADAS et al., 2010), e redução do teor de umidade nas excretas (DELEZIE et al., 2015).

Os benefícios acima mencionados têm sido atribuídos à ruptura quase completa de ácido fítico, liberando o P e a molécula de mio-inositol simultaneamente, através da remoção dos ésteres de fosfato (IP5, IP4, IP3, IP2 e IP1) (COWIESON et al., 2013). O mio-inositol age na transferência de impulsos nervosos, na liberação de Ca intracelular a partir do retículo endoplasmático e na osteogênese, além de agir como componente fosfolipídico da membrana e de lipoproteínas e mimetizar o efeito da insulina (CROZE & SOULAGE et al., 2013).

Embora o uso de doses elevadas de fitase seja o foco de muitos estudos para frangos de corte e poedeiras, seu emprego em dietas para codornas japonesas são escassos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi de avaliar os efeitos de superdosagem de fitase em dietas com redução nutricional sobre o desempenho, qualidade de ovos e resistência óssea.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ácido Fítico

O ácido fítico (1,2,3,4,5,6 mio-inositol hexafosfato-IP6) é a principal forma de armazenamento de fósforo (P) em vegetais e está amplamente distribuído em cereais, leguminosas e oleaginosas. As concentrações são de aproximadamente 7-8 g/kg em milho e 50-60 g/kg em subprodutos de cereais (EECKHOUT & DE PAEPE, 1994). O ácido fítico não é tipicamente encontrado em vegetais na sua forma dissociada, mas sim como uma mistura de sais, nos quais está comumente associado a magnésio (Mg), potássio (K) e cálcio (Ca). Aproximadamente dois terços do P estão presentes como fitato em vegetais (HARLAND & OBERLEAS, 1999).

A estrutura do ácido fítico foi bem descrita (JOHNSON & TATE, 1969; BLANK et al., 1971; COSTELLO et al., 1976). Ele contém 12 prótons dissociáveis com valores de dissociação da molécula (pKa) variando de 1,5 até 10 (COSTELLO et al., 1976). Vários fatores afetam a disponibilidade de ácido fítico e P nos grãos, tais como genética, variações ambientais, condições de irrigação, tipos de solo e aplicações de fertilizantes. Durante a germinação, o fitato é degradado pela ação da enzima fitase a fosfato inorgânico, auxiliando o crescimento dos grãos (DOST & TOKUL, 2006). Nas células animais, a função do ácido fítico envolve a sinalização transmembrana e mobilização do Ca para as reservas intracelulares (XU; LIU; PRESTWICH, 2005).

Os animais não ruminantes não possuem a enzima fitase, pois ela é produzida apenas por vegetais e alguns microrganismos como fungos, leveduras e bactérias. O *Aspergillus sp.* é um fungo que é usado em grande escala comercial para a obtenção de fitase (COUSINS, 1999). O fitato torna indisponível para aves cerca de 2/3 do P presente nos vegetais (BANKS et al., 2004). Sua localização nos grãos é bastante variável; nos grãos pequenos está principalmente localizado na parte externa da semente (camada de pericarpo, testa e aleurona), no caso do milho está no germe, enquanto que nas sementes de leguminosas, encontra-se nos cotilédones. Nas rações, o IP6 está na forma de complexos ligados a minerais, como Mg, Ca e K. O éster de IP6 é a forma dominante no milho, no farelo de arroz, no sorgo, no farelo de soja e no trigo (NAGASHIRO, 2007).

O fitato tem um importante papel em armazenar P, para ser utilizado pelo embrião da planta em desenvolvimento e, se ligar com cátions bivalentes para serem liberados após a germinação (REMUS, 2007). A molécula de ácido fítico é intitulada como um fator antinutricional (COUSINS, 1999; DE CARLI et al., 2006; CONTE et al., 2003; TEJEDOR et

al., 2001; LAURENTIZ et al., 2007; BENEVIDES et al., 2011), pois, dependendo do pH em que ela se encontra, ela forma precipitados com alguns minerais, como cálcio, zinco, magnésio, ferro e cobre, dando origem a precipitados minerais que não são absorvidos pelo organismo animal, sendo assim, os nutrientes são eliminados nas fezes e urina (FUKAYAMA et al., 2008). Esse complexo possui grande impacto na digestão de nutrientes, diminuindo não só a energia metabolizável da ração, como também o crescimento causando hipoglicemia e danos aos tecidos animais (LAURENTIZ et al., 2007).

O melhor aproveitamento do P-fítico, depende da ação da enzima fitase exógena, como os não ruminantes não produzem fitase, tornando-se necessária a sua suplementação (SANTOS et al., 2011). Ravindran; Cowieson; Selle (2008) verificaram que as dietas com maiores concentrações de sódio. Apresentava sensibilidade a fitase, sugerindo que altas concentrações de Na podem diminuir os efeitos antinutritivos do ácido fítico ou prejudicar a eficácia da fitase. Foi observado também que essa formação de complexos insolúveis proteína-fitato na parte ácida do trato digestivo pode ter consequências nutricionais importantes devido à acessibilidade diminuída às proteases pepsinas, resultando no aumento de secreção de pepsina, em mais perdas endógenas e digestão ineficaz de proteína, conforme indicado pela redução da digestibilidade ileal de aminoácidos a partir do fitato (VAINTRAUB & BULMAGA, 1991).

Segundo Ravindran; Cowieson; Selle (2008), é improvável que o Ca esteja ligado com o fitato nos ingredientes de origem vegetal, uma vez que eles possuem baixa concentração desse mineral. Entretanto, como as aves, em especial as poedeiras, tem uma exigência maior de Ca, fontes externas deste mineral fazem parte da formulação das dietas, passando a existir formação significativa de complexos no trato gastrointestinal. Nestas condições, estima-se que aproximadamente um terço do Ca dietético forme complexos com o fitato durante a passagem da ração pelo intestino (NAVES, 2014).

2.2. Ação da fitase no trato digestivo

A fitase ou mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase é uma enzima pertencente ao grupo da fosfatase de histidina ácida, que hidrolisa o fitato para mio-inositol e ácido ortofosfórico, sendo o ácido fosfórico necessário ao processo metabólico na biossíntese celular. Existem dois tipos de fitase, a mio – inositol hexaquinofosfato 3 – fosfohidrolase, denominada 3-fitase e a mio-inositol hexaquinofosfato 6 – fosfohidrolase, denominado 6 – fitase ou fitato 6 – fosfatase (VOHARA & SARTYANARAYANA, 2003).

A fitase é uma enzima e sua atividade é expressa em unidade de fitase (FTU), ou unidade de fitase por quilo (FTU/kg) ou simplesmente U/kg, sendo definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico em um minuto, tendo como substrato o fitato de sódio, a temperatura de 37 °C e pH 5,5 (CONTE et al., 2003). Essa enzima pode ser utilizada como alternativa para amenizar o efeito antinutricional do ácido fítico em aves, uma vez que esta enzima atua na degradação do fitato (Mio-inositol hexafosfato, IP6) para liberação de P (SELLE et al., 2011). Como o ácido fítico é uma molécula polianiónica, ele pode quelar cátions di e trivalentes e interagir com proteínas e carboidratos, reduzindo a disponibilidade desses compostos para aves (SANDBERG, 2002).

As primeiras fitases comercializadas foram derivadas de diferentes espécies de fungos, como *Arpergillus niger* e *Peniophora lycii* (REMUS, 2007). Em 1999, descobriu-se que as fosfatase ácidas de *Escherichia coli* eram mais eficazes do que as fúngicas. Isso levou ao desenvolvimento de novas gerações de fitases bacterianas.

Observou-se que as fitases bacterianas de nova geração têm afinidade muito específica para IP6 e IP5 e possuem maior resistência à digestão proteolítica do que as fitases fúngicas, o que pode explicar em parte sua maior eficácia (ADEOLA et al., 2011). O modo de ação da fitase envolve a remoção do grupo fosfato. As fitases primeiro hidrolisam todo o ácido fítico totalmente fosforizado disponível ao penta ésteres de inositol antes de os hidrolisarem a tetra – ésteres de inositol e assim por diante (YU et al., 2012).

Em relação à expressão gênica da fitase no intestino de aves, foi demonstrado que galinhas poedeiras apresentam atividade de fitase 35% maior no íleo do que frangos, sendo que a atividade no íleo das aves é duas vezes maior que no duodeno (MAENZ & CLASSEN, 1998). No trato gastrintestinal, o fitato inibe a ação de enzimas proteolíticas, tais como pepsina e tripsina. São formados complexos fitato-proteína-aminoácido ou fitato-mineral-proteína, sendo esses de difícil digestão (RAVINDRAN; BRYDEN; KORNEGAY, 1995; KORNEGAY et al., 1996).

De acordo com Bedford (2000), não há quebra de 100% do fitato presente nos vegetais, bem como não ocorre a hidrólise completa das moléculas de fitato. Além disso, a exigência nutricional de fósforo muda conforme a idade da ave. Aves na fase inicial e de crescimento estão em processo de desenvolvimento da estrutura óssea e massa muscular, necessitando quantidades maiores de nutrientes e energia. Na fase final de criação, as aves podem aumentar o aproveitamento do fósforo complexado ao ácido fítico, em consequência da plena atividade enzimática do sistema digestivo (LAURENTIZ et al., 2007).

Cada vez mais tem sido evidenciada a importância da suplementação da fitase sobre o uso de fitato, pois cada 0,1% de P disponível pela fitase equivale entre 4,5 a 5,5 kg de fosfato bicálcico, e 15 a 25 kg de farinha de carne, por tonelada de ração, dependendo das matrizes nutricionais consideradas para os ingredientes (LECZNIESKI, 2006).

2.3. Suplementação de fitase para aves

Apesar da dificuldade em se utilizar o fósforo fítico e os outros componentes ligados ao fitato, há atividade de fitase de origem microbiana e dietética, mas é muito baixa e praticamente desconsiderada. Em um estudo com poedeiras, as mais velhas (47 semanas) apresentaram maior disponibilidade de fósforo fítico, com menor teor desse fósforo nas excretas. Já as galinhas mais jovens (20 semanas), apresentaram menor disponibilidade do fósforo fítico, com maior teor nas excretas, isso ocorre por que as aves mais velhas conseguem hidrolisar o fitato de forma mais eficiente devido à maior maturação do trato gastrointestinal (MAROUNEK et al., 2008).

Em pesquisa Boling et al. (2000) observaram que a suplementação de fitase exógena para galinhas com 70 semanas de idade ou mais incrementou a utilização do fósforo da dieta, e as aves mantiveram a postura de ovos, já as aves que não receberam fitase exógena na dieta apresentaram baixos índices de postura e demonstraram sinais clínicos de deficiência de fósforo mais rápido do que as aves mais jovens. A suplementação de dietas compostas principalmente por milho e farelo de soja com fitase aumentou a biodisponibilidade de cálcio, melhorou a espessura e aumentou a gravidade específica dos ovos das poedeiras alimentadas com essas dietas (SOHAIL; ROLAND, 2000). A suplementação com fitase, além de aumentar a porcentagem de casca, também pode gerar ovos com maior peso de clara (AHMADI et al., 2008). Silva et al. (2012) estudaram poedeiras semipesadas de 26 semanas de idade e observaram que houve a manutenção do desempenho e da qualidade de ovos quando se comparou os animais recebendo dietas com redução nutricional e adição de fitase ou de fitase e carboidratos com os animais que receberam dietas sem redução nutricional.

Alguns dos efeitos prejudiciais de ácido fítico podem ser diminuídos pela adição de fitase exógena na dieta (RAVINDRAN et al., 1999, 2001; SELLE et al., 2000; COWIESON et al., 2009). As dietas de frango suplementadas com fitase microbiana aumentam a digestibilidade, o ganho diário, a conversão alimentar, o uso de nutrientes, a mineralização óssea e a disponibilidade de P vegetal (fitato) e, assim, reduzem o uso de fontes suplementares caras (RAMA RAO et al., 1999) e, por sua vez, a contaminação ambiental. Essas melhorias são

muitas vezes acima do que pode ser explicado apenas pela retenção melhorada de P (NEWKIRK & CLASSEN, 2001).

Fukayama et al. (2008) avaliaram a uniformidade das aves, o consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar, a resistência óssea e a concentração de matéria mineral, Ca e P, das tíbias de frangos de corte no período de 1 a 20 dias de idade, recebendo dietas suplementadas com fitase. Entre os níveis testados, o de 750 FTU/kg de ração possibilitou o máximo desempenho das aves, além de boas características de mineralização óssea e de digestibilidade.

Teixeira et al. (2013) avaliaram o efeito da suplementação de fitase com diferentes níveis de P sobre o desempenho de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade e observaram que a utilização de dietas suplementadas com 1.500 UF kg⁻¹ reduz o nível de P disponível para 0,30% sem prejudicar o desempenho desses animais. Naves et al. (2014) observaram que o melhor plano nutricional com a utilização de fitase de 1 a 7 dias de idade é de 4,7 g kg⁻¹ de P-disponível sem fitase; de 1 a 8 dias de idade é 2,0 g kg⁻¹ de P-disponível suplementada com fitase; 3,4 kg⁻¹ de P-disponível em ração sem fitase com 22 a 35 dias de idade e 3,0 g kg⁻¹ de P-disponível em ração sem fitase com 36 a 42 dias. Esses autores concluíram que no período de 8 a 21 dias de idade foi possível utilizar a redução de P correspondente à quantidade que a enzima libera de acordo com a recomendação da enzima, sem prejudicar o desempenho das aves.

Ribeiro et al. (2015) avaliaram os efeitos da suplementação das enzimas amilase, fitase e protease de formas isoladas e em associação (300 ppm de amilase, 300 de protease e 500 FTU/kg de fitase), em dietas para codornas japonesas em postura com redução de 5% de proteína bruta e dos aminoácidos digestíveis (metionina + cistina, lisina, treonina e triptofano). Concluíram que é vantajoso o uso das enzimas (amilase, fitase e protease) de forma isolada ou em associação para codornas japonesas em postura, pois promove melhor aproveitamento dos nutrientes da ração.

2.4. Superdosagem de fitase

A suplementação de fitase tem sido amplamente utilizada na nutrição de aves, sendo 500 FTU/kg o nível recomendado de inclusão (COWEISON et al., 2009). O uso de doses de fitase acima de 1000 FTU/Kg, ou seja, a “superdosagem de fitase”, tem sido amplamente empregada. É possível que uma parte do benefício da superdosagem da fitase seja proveniente da produção do mi-inositol (MYO), que posteriormente é absorvido e utilizado em várias

funções biológicas do animal (LEE & BEDFORD, 2017). Embora a maioria dos animais sejam capazes de sintetizar o MYO a partir do D-glucose-7-fosfatase em vários tecidos sua importância para sobrevivência e crescimento celular é evidente (EAGLE et al., 1956).

Nelson et al. (1971) estudando a superdosagem de fitase onde 1 – 8 g de uma fitase *Aspergillus ficuum* com 950 FTU/g foi utilizado por kg na dieta de pintinhos de corte, estas doses somariam de 950 e 7,600 FTU/kg de alimento. Concluíram que ocorre um desaparecimento aparente de fitato-P de 38,9% com 950 FTU/kg para 94,4% com 7,600 FTU/kg. A eficácia da superdosagem de fitase é relatada por alguns autores (ZHANG et al., 2000; SHIRLEY & EDWARDS, 2003), sendo usadas por esses autores doses de até 2.500 FTU/kg. Augspurger & Baker (2004); Brana et al. (2006); Cowieson et al. (2009); e Pirgozliev et al. (2009) demonstraram em seus estudos que usar doses de até 10.000 FTU/kg melhora a disponibilidade de nutrientes nas dietas, podem resultar em maior liberação de fosfato ou restauração da relação P/Ca, sendo proporcional a liberação com menos fitato residual no intestino (COWIESON et al., 2011).

Karadas et al. (2010) avaliaram o uso de até 12.500 FTU/kg de fitase de *E. coli* fitase geneticamente modificada, verificaram um aumento nos níveis de vitamina A, vitamina E e coenzima Q10 (um antioxidante que pode auxiliar nas funções mitocondriais). Walk et al. (2012) concluíram que a suplementação de fitase de 5000 FTU/kg melhorou a digestibilidade ideal aparente em 2 a 4 % do Ca, P e dos aminoácidos em comparação com a suplementação de fitase de 0 e 500 FTU/kg de fitase. Manobhavan et al. (2015) estudaram o efeito da superdosagem de fitase no desempenho do crescimento, digestibilidade ideal e características ósseas em frangos de corte alimentados com dietas compostas principalmente de milho-soja e observaram que a superdosagem de fitase (2500 – 5000 FTU/kg) em dieta com baixo teor de P são mais benéficas do que a dose padrão normal (500 FTU).

2.5. Efeito da fitase sobre a qualidade óssea

O tecido ósseo é dinâmico e está em constante renovação para adaptar-se às cargas as quais são impostas. Em condições normais, o equilíbrio entre a formação (osteoblastos) e a reabsorção (osteoclastos) está ligado às vias metabólicas associadas à homeostasia mineral necessária para manter a integridade estrutural e manutenção dos estoques de Ca e P (BOGNI, 2013). O Ca e o P são os principais formadores da matriz mineral, contribuindo com 95% (RATH et al., 2000), sendo que o Ca é o mineral encontrado em maior quantidade, estando presente quase que em sua totalidade (99%) no tecido ósseo, sendo exigido em quantidade

maior que qualquer outro mineral. O P é essencial para o crescimento e desenvolvimento dos ossos nas aves. A deficiência de P pode resultar em deformidades ósseas, as quais são responsáveis pela desclassificação da carcaça durante o processamento (BRENES et al., 2003).

Deve-se salientar que as exigências nutricionais de Ca e P para o desenvolvimento ósseo são superiores às aquelas para o ganho de peso (VELOSO et al., 2000). O maior aproveitamento de P e Ca pode ser proporcionado pela fitase, como esses minerais estão diretamente relacionados com a formação óssea, os parâmetros ósseos passam a ser bons indicadores da eficiência da fitase.

Dentre os métodos usados para avaliar a mineralização óssea em aves, encontram-se as análises do teor de minerais, resistência à quebra, peso do osso e a densitometria óssea. Embora o desempenho e a retenção de minerais sejam medidas importantes em qualquer alteração dietética, as concentrações plasmáticas e ósseas são geralmente mais sensíveis do que os fatores de desempenho para avaliar disponibilidade de minerais (ONYANGO et al., 2003). A tíbia é o osso mais utilizado para determinação de exigências de minerais, pois é o principal osso de sustentação do corpo da ave (AHMAD et al., 2000).

Qian et al. (1996) observaram maior comprimento tibial com suplementação de fitase a 600 FTU/kg em comparação com a dieta com baixo teor de P. O comprimento do osso foi maior provavelmente devido ao maior peso vivo das aves pertencentes a grupos de superdosagem. Kocabagli (2001) relatou que a inclusão de 0 a 700 FTU/kg de fitase em dietas para frangos de corte com idade de 0 a 45 dias, observou que a suplementação de fitase reduziu a ruptura de tíbia e quando usado níveis de fitase de 300 a 700 FTU/kg não apresentaram benefícios adicionais para as características ósseas da tíbia.

Abdellatif & Kamal (2003) relataram que a inclusão de 750 FTU/kg de fitase em dietas com 0,4% de fósforo não fítico melhorou o peso e o comprimento de tíbias. Laurentiz et al. (2007) avaliaram o efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. Observaram que na fase final de criação a redução de 63% no nível de P disponível de 0,38% para 0,14%, com a inclusão de fitase, resultou em desempenho e características ósseas semelhantes ao grupo controle, sendo observado nessa fase o efeito da enzima fitase sobre o P complexado ao ácido fítico. Jamroz et al. (2007) verificaram que menores níveis de P dietéticos resultam em menores pesos de tíbias em frangos.

Oliveira et al. (2008) avaliaram diferentes parâmetros de qualidade óssea, quando utilizaram níveis reduzidos em 85% e 70% da exigência de P disponível dos frangos de corte

com a inclusão de fitase (2500 FTU/kg). Eles não observaram diferença para concentração de P e cinzas nos ossos entre nenhum dos tratamentos, já em relação ao Ca, os tratamentos com inclusão de fitase apresentaram maior concentração de cálcio nos ossos, do que os que não tiveram fitase. Isso pode ser explicado devido a essa enzima liberar, além do P, o Ca, e como as dietas eram isocálcicas, provavelmente ocorreu excesso de Ca em relação ao P, aumentando assim sua deposição nos ossos. Para o parâmetro de resistência óssea, a resistência diminuiu ao utilizar 70% da exigência de P. Com isso, eles concluíram que é possível utilizar dietas com 85% das exigências de P disponível suplementadas com 2500 FTU/kg de fitase, sem apresentar efeitos negativos ao teor de minerais, densidade, peso, morfometria e resistência óssea.

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

Schaly et al. (2009) concluíram que é possível a utilização de dietas com 0,29, 0,25 e 0,21% de fósforo não fítico na fase inicial, de crescimento e terminação, respectivamente, suplementadas com 500 FTU/kg de fitase, sem prejuízos para a qualidade do fêmur dos frangos de corte de um a 42 dias de idade. Rutherford et al. (2012) e Guo et al. (2009) relataram que o peso da tíbia era significativamente maior no grupo suplementado com fitase. Rousseau et al. (2012) relataram que o diâmetro tibial/largura do meio do eixo foi melhorado por suplementação de fitase de 500 FTU/kg em dietas de baixa P, mas sem melhora no comprimento do osso tibial. Vaz et al. (2013) encontraram que a porcentagem de Ca e P nas tíbias é influenciada pelos níveis de proteína e de P na dieta com a utilização de fitase. Os teores de matéria mineral nas tíbias apresentaram maior valor com o nível de 22,5% de proteína, 0,45% de P disponível e 1200 FTU/Kg de fitase na dieta.

Os benefícios vão além da capacidade da fitase em liberar P, mas também incluem a remoção dos efeitos antinutritivos do fitato trazendo a melhoria da eficiência alimentar (DOS

SANTOS et al., 2013), melhoria da capacidade de resposta imunológica (LIU et al., 2008), melhoria da capacidade antioxidante (KARADAS et al., 2010), e redução do teor de umidade nas excretas (DELEZIE et al., 2015). A utilização de fitase na dieta de poedeiras, além de diminuir a variação nutricional, auxilia na digestão, que se torna mais completa, reduz os níveis de nutrientes excretados e, portanto, a poluição ambiental (ALBINO et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local

O experimento foi realizado no período de julho a dezembro de 2016 no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, localizado no município de Areia – PB, onde a altitude é de 618 m entre as seguintes coordenadas geográficas: 6°5'554'' de latitude sul e 35°43'047'' de longitude a oeste.

3.2. Animais, instalações e dietas experimentais

O estudo foi certificado pelo Comitê de Ética de Animais pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil (protocolo nº 125/2017). Foram utilizadas 588 codornas japonesas (*Coturnix coturnix Japonica*), com idade média de 120 a 188 dias, e taxa de produção de ovos de 89,0%. As aves foram distribuídas em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3x4 (3 matrizes nutricionais, 4 doses de fitase), totalizando 12 tratamentos e 7 repetições com 7 aves cada. Os tratamentos utilizados foram: Matriz 1 composta por ração basal sem restrição FTU; Matriz 2 com restrição de 5% FTU e a Matriz 3 com redução de 10% e cada matriz recebeu doses de fitase (500, 1000 e 1500 FTU provenientes da *E.coli*). A redução de 5 e 10 % ocorreram para o cálcio e fósforo disponível. As dietas foram formuladas variando-se a inclusão dos ingredientes como milho, farelo de soja e óleo de soja, sendo que o menor nível de energia metabolizável (EM) não havia qualquer inclusão de óleo de soja (Tabela 1).

As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado com dimensão de 30 x 30 x 15 cm (largura x altura x profundidade), equipadas com bebedouros tipo nipple e comedouro tipo calha. Ração e água foram fornecidos à vontade. Para o programa de iluminação, foi adotado um fotoperíodo natural combinado com iluminação artificial, totalizando 17 horas de luz. A mortalidade foi registrada e utilizada para correções de consumo de ração e porcentagem de produção de ovos.

. A criação das aves foi dividida em oito períodos de 21 dias e os animais foram alimentados com dietas fareladas.

Tabela 1. Composição das rações de codornas japonesas em sua fase de postura, submetidas a diferentes dietas alimentares e suplementadas com fitase

Ingredientes (kg)	Matriz 1				Matriz 2				Matriz 3			
	Níveis de fitase, FTU/kg de ração											
	0	500	1000	1500	0	500	1000	1500	0	500	1000	1500
Milho 7,88%	55,18	55,18	55,18	55,18	60,18	60,18	60,18	60,18	60,11	60,11	60,11	60,11
F. de Soja, 45%	33,72	33,72	33,72	33,72	30,62	30,62	30,62	30,62	28,47	28,47	28,47	28,47
Óleo de soja	1,717	1,717	1,717	1,717	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosfato bicálcico	1,166	1,166	1,166	1,166	1,10	1,10	1,10	1,10	1,04	1,04	1,04	1,04
Calcário Calcítico	7,204	7,204	7,204	7,204	6,85	6,85	6,85	6,85	6,49	6,49	6,49	6,49
Sal comum	0,346	0,346	0,346	0,346	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
DL-Metionina	0,354	0,354	0,354	0,354	0,330	0,330	0,330	0,330	0,309	0,309	0,309	0,309
L-Lisina	0,144	0,144	0,144	0,144	0,165	0,165	0,165	0,165	0,167	0,167	0,167	0,167
Colina	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
Premix mineral ¹	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix vitamínico ²	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Fitase ³	0,000	0,010	0,020	0,030	0,000	0,010	0,020	0,030	0,000	0,010	0,020	0,030
Inerte ⁴	0,030	0,020	0,010	0,000	0,030	0,020	0,010	0,000	0,030	0,020	0,010	0,000
Total (kg)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

¹Premix Mineral (concentração/kg de produto): Mn – 60g, Fe – 80 g, Zn – 50 g, Cu – 10 g, Co – 2 g, I – 1g e Se – 250 mg; Quantidade suficiente para 500 g do Veículo; ²Premix vitamínico (concentração/kg de produto): Vit. A – 15 mil UI, Vit. D3 – 1,500,000 UI, Vit. E – 150000 UI; Vit. B1 – 2,0 g, Vit. B2 – 4,0 g; Vit. 6 – 3,0 g, Vit. B12 – 0,015 g, ácido nicotínico – 25 g, ácido pantoténico – 10 g, Vit. K3 – 3,0, ácido fólico – 1,0 g; ³Quantum Blue 5.000. Fitase (E.coli) na sua matriz de 500 FTU disponibiliza P disp 0,15 %, Ca 0,165 %, Lis 0,017 %, Met 0,004 %, Met + Cis 0,039, Treo 0,033, PB 0,421 %, EM 52 kcal/kg; ⁴Inerte = Areia lavada.

Tabela 1. Composição calculada das diferentes dietas experimentais para codornas japonesas. (Continuação)

Composição química	Matriz 1				Matriz 2				Matriz 3			
	Níveis de enzima fitase											
	0	500	1000	1500	0	500	1000	1500	0	500	1000	1500
PB %	19,94	19,94	19,94	19,94	18,94	18,94	18,94	18,94	17,95	17,95	17,95	17,95
EM, kcal/kg	2800	2800	2800	2800	2748	2748	2748	2748	2696	2696	2696	2696
Met + Cis dig, %	0,888	0,888	0,888	0,888	0,844	0,844	0,844	0,844	0,799	0,799	0,799	0,799
Lis dig, %	1,083	1,083	1,083	1,083	1,029	1,029	1,029	1,029	0,975	0,975	0,975	0,975
Treo dig, %	0,678	0,678	0,678	0,678	0,643	0,643	0,643	0,643	0,609	0,609	0,609	0,609
Val dig, %	0,846	0,846	0,846	0,846	0,802	0,802	0,802	0,802	0,759	0,759	0,759	0,759
Trip dig, %	0,223	0,223	0,233	0,233	0,208	0,208	0,208	0,208	0,195	0,195	0,195	0,195
Ile dig, %	0,780	0,780	0,780	0,780	0,732	0,732	0,732	0,732	0,691	0,691	0,691	0,691
Arg dig, %	1,256	1,256	1,256	1,256	1,175	1,175	1,175	1,175	1,107	1,107	1,107	1,107
Leu dig, %	1,572	1,572	1,572	1,572	1,518	1,518	1,518	1,518	1,449	1,449	1,449	1,499
Cálcio, %	3,099	3,099	3,099	3,099	2,944	2,944	2,944	2,944	2,789	2,789	2,789	2,789
Fósforo disp, %	0,323	0,323	0,323	0,323	0,307	0,307	0,307	0,307	0,291	0,291	0,291	0,291
Sódio, %	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
Cloro, %	0,256	0,256	0,256	0,256	0,257	0,257	0,257	0,257	0,256	0,256	0,256	0,256
Potássio, %	0,777	0,777	0,777	0,777	0,735	0,735	0,735	0,735	0,695	0,695	0,695	0,695
Ácido fítico, *	0,247	0,247	0,247	0,247	0,241	0,241	0,241	0,241	0,238	0,238	0,238	0,238
BE, mEq/kg	193,94	193,94	193,94	193,94	182,91	182,91	182,91	182,91	172,90	172,90	172,90	172,90

* A quantidade de ácido fítico nas dietas foi calculado pelo conteúdo presente no milho e no farelo de soja, de acordo com Rostagno et al. (2011).

3.3 Variáveis Analisadas

3.3.1. Desempenho Zootécnico

A coleta dos ovos foi realizada diariamente no período da manhã (08:00 horas), sendo anotadas em ficha a frequência de postura e a mortalidade de cada unidade experimental. As variáveis de desempenho analisadas foram: consumo de ração - CR (g/ave/dia), produção de ovos - PR (%/ave), peso do ovo - PO (g/ovo), massa de ovo - MO (g/ave/dia), conversão por massa - CMO (g/g) e por dúzia de ovo - CDO (kg/dz), peso (g) e porcentagem (%) de gema, de albúmen e de casca, espessura de casca (mm), unidade Haugh, gravidade específica (g/cm^3).

A produção dos ovos em porcentagem foi calculada dividindo-se a quantidade de ovos totalizados por parcela pelo número de aves, corrigindo pela mortalidade no período experimental. O consumo de ração (g/ave) foi determinado a partir da diferença entre a quantidade de ração fornecida no início do período experimental e as sobras existentes no final de cada ciclo de 21 dias, corrigido pela mortalidade no período experimental, conforme a metodologia sugerida por Sakomura & Rostagno (2007). A produção de ovos foi calculada pela relação entre o número de ovos produzidos e o número de aves alojadas, por período, multiplicando-se o valor por cem.

A conversão alimentar foi calculada de duas formas: dividindo-se o consumo de ração (g/ave) pelo número de dúzias de ovos produzidos (dz/ave) e dividindo-se o consumo de ração (g/ave) pela massa de ovos produzidos (g/ave). A massa de ovos (g/ave/dia) foi calculada multiplicando-se a produção de ovos pelo peso médio dos ovos.

3.3.2. Características da qualidade dos ovos

Os ovos dos últimos três dias de cada período foram pesados individualmente para a obtenção do peso médio dos ovos. As características avaliadas relativas à qualidade dos ovos foram: gravidade específica (g/cm^3), peso (g/ovo), peso (g/casca) gema e albúmen, unidade Haugh, coloração da gema, espessura de casca (mm), altura de albúmen (mm).

As cascas dos ovos foram identificadas, secas em estufa a 55-60°C por 24 horas e pesadas em balança digital com precisão de 0,001g para obtenção do peso médio das cascas. A porcentagem da casca foi obtida através da relação entre o peso médio da casca e o peso médio do ovo multiplicado por 100 e a espessura da casca foi obtida através da utilização de micrômetro digital Mitutoyo de 0-25 mm, com precisão de 0,001 mm. A gravidade específica foi determinada pelo método de flutuação em solução salina, conforme metodologia descrita por Hamilton (1982). Os ovos foram imersos em soluções de cloreto de sódio (NaCl) com

densidade variando de 1,0700 a 1,0925 g/ml, com gradiente de 0,0025 entre elas. A densidade das soluções foi rotineiramente aferida por meio de um densímetro de petróleo. Para avaliação da qualidade do albúmen, os ovos foram pesados individualmente em balança de precisão, sendo posteriormente quebrados sobre uma mesa especial de vidro e medida a altura do albúmen através de um altímetro especial AMES. A unidade Haugh foi calculada através de uma equação $UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$, onde: UH = unidade Haugh; H = altura de albúmen (mm); W = peso do ovo (g). As colorações da gema desses ovos foram avaliadas através do leque colorimétrico Roche DSM.

3.3.3. Características ósseas

Para avaliação das variáveis ósseas, ao final do experimento foram selecionadas 2 aves por unidade experimental, abatidas e coletadas a tibia esquerda para análise de resistência óssea (kgf/cm^3). As amostras foram congeladas, em seguida a carne e a cartilagem que envolviam os ossos foram retiradas. Os ossos “in natura” foram secos em temperatura ambiente (KIM et al., 2004).

Logo em seguida as tíbias foram submetidas à análise de resistência óssea. Utilizou-se o aparelho universal de teste TA-XT Plus Stable Micro Systems (Surrey, UK) com uma célula de carga de 50kg a uma velocidade de 50 mm/min. O acessório para fratura 3 Point Bend Rig (HDP/3PB), Stable Micro Systems, as peças ósseas foram posicionadas em apoios da região das epífises, deixando as peças sem apoio na região central. A força foi aplicada na região central, sempre no mesmo ponto, em todos os ossos.

3.4. Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial (3x4). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade por meio do PROC GLM. Quando houve interação dos fatores foram realizados desdobramentos e as médias isoladas das matrizes nutricionais foram também comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade por meio do PROC GLM, para cada nível de suplementação de FTU.

Para determinação dos níveis da enzima fitase utilizou-se a análise de regressão pelo procedimento PROC REG usando o programa SAS® (2011). Dessa forma foi estabelecido o melhor nível de utilização da fitase dentro de cada matriz nutricional.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Desempenho Zootécnico

Observou-se influência das matrizes nutricionais e da suplementação de fitase nas dietas em relação a produção de ovos ($P < 0,001$), massa de ovos ($P < 0,001$), conversão por massa de ovos ($P < 0,001$) e na conversão por dúzia de ovos ($P < 0,001$) (Tabela 2).

Ocorrendo redução dos níveis nutricionais na dieta os valores de PR e MO também diminuíram, comportamento contrário foi observado para CMO e CDZ, cujos valores foram piorando com a redução da matriz nutricional. Com relação a suplementação de fitase verificou-se que a PR e a MO aumentaram à medida que o nível de fitase aumentava, e CMO e CDZ melhoraram. Estes resultados estão de acordo com os observados por Gutierrez et al. (2011), que também verificaram aumento da MO em codornas alimentadas com ração de baixo nível energético suplementadas com fitase.

Tabela 2. Efeito da suplementação de fitase associado a diferentes matrizes nutricionais sobre o consumo de ração (CR, g/ave/dia), produção de ovos (PR, %), peso médio dos ovos (PO, g), massa de ovo (MO, g/g), conversão por massa de ovo (CMO, g/g) e conversão por dúzia de ovos (CDZ, kg/dz)

Matriz, % de redução	Fitase, FTU/kg de ração	CR (g/ave/dia)	PR (%/ave)	PO (g/ovo)	MO (g/ave/dia)	CMO (g/g)	CDZ (kg/dz)
0		30,16	94,15 a	11,92	11,23 a	2,68 b	0,38 b
5		29,91	93,86 a	11,80	11,08 ab	2,70 ab	0,38 b
10		30,26	92,35 b	11,85	10,94 b	2,77 a	0,39 a
	0	30,28	89,28 c	11,78	10,52 c	2,88 a	0,40 a
	500	29,93	94,02 b	11,82	11,11 b	2,69 b	0,38 b
	1000	29,90	94,77 ab	11,90	11,28 ab	2,65 b	0,37 b
	1500	30,32	95,74 a	11,42	11,42 a	2,65 b	0,38 b
SEM		0,814	3,826	0,065	0,0924	0,012	0,00019
Matriz		0,3607	0,0018	0,200	0,0037	0,0133	0,0060
Fitase		0,3064	<0,0001	0,187	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Linear	0,906	<0,0001	0,0334	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Quadrático	0,06	<0,0001	0,9417	0,0011	0,0002	<0,0001
Matriz x FTUs		0,2198	0,0084	0,8460	0,0926	0,0156	0,0026

^{a,b}Médias seguidas de letras minúscula diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey.

No consumo de ração (CR) e no peso do ovo (PO) não foi observado efeito ($P > 0,05$) para as matrizes e adição de fitase. As aves regulam o seu consumo pela ingestão de energia, o resultado obtido indica que as enzimas compensaram a redução do valor energético das dietas, mantendo o consumo semelhante ao tratamento controle (Tabela 2). Silva et al. (2012) também

observaram que a suplementação de fitase não modificou o consumo de ração por poedeiras semipesadas. O teor de proteína da dieta é o principal fator que afeta o tamanho ou o peso do ovo (LEESON, 1996). Ribeiro et al. (2015) em estudo sobre fitase também observaram que o PO se manteve independente do nível de suplementação da enzima.

Os dados do desdobramento da interação entre a matriz nutricional e utilização da enzima fitase sobre PR, CMO e CDZ apresentaram regressão quadrática, sendo que no nível de 1500 FTU/kg de ração as médias das variáveis citadas apresentaram um aumento (Tabela 3). No nível de 0% de FTU na dieta a PR apresentou menor valor na Matriz 3. A PR teve interação significativa, sendo que com 10% de redução nutricional o valor dessa variável diminuiu na dieta sem fitase (86,238b; $P < 0,0001$). Nas dosagens dentro de cada matriz, a PR apresentou regressão linear na Matriz 1, já na Matriz 2 e 3 a regressão foi quadrática, com dosagens ótimas em 990 e 1266 FTU, respectivamente.

Tabela 3. Desdobramento da interação entre a matriz nutricional e a utilização da enzima fitase, sobre a produção de ovos (PR), conversão por massa de ovos (CMO) e conversão por dúzia de ovos (CDZ) de codornas japonesas de 17 a 32 semanas

Matrizes Nutricionais	Níveis de fitase na dieta (FTU)				Regressão	
	0	500	1000	1500	L	Q
Produção de ovos (%/ave)						
Matriz 1	91,246a	93,951	94,524	96,901	<0,001 ¹	0,830
Matriz 2	90,376	94,618	95,410	95,043	<0,001	0,002 ²
Matriz 3	86,238	93,505	94,398	95,292	<0,001	<0,001 ³
Conversão por massa de ovos (g/g)						
Matriz 1	2,760	2,700	2,688	2,601	0,011 ⁴	0,740
Matriz 2	2,862	2,677	2,589	2,685	0,001	0,001 ⁵
Matriz 3	3,026	2,707	2,679	2,679	<0,0001	0,0003 ⁶
Conversão por dúzias de ovos (kg/g)						
Matriz 1	0,395	0,386	0,387	0,371	0,004 ⁷	0,55
Matriz 2	0,401	0,378	0,368	0,385	0,014	0,0003 ⁸
Matriz 3	0,427	0,383	0,383	0,385	<0,0001	<0,0001 ⁹

^{a,b}Médias seguidas de letras minúscula diferentes nas colunas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ¹PR = $91,525 + 0,0035x$; $R^2 = 0,95$; ²PR = $90,49 + 0,0099x - 0,0006x^2$; $R^2 = 0,98$; (Ponto máximo, 990 FTU); ³PR = $86,557 + 0,0152x - 0,00006x^2$; $R^2 = 0,96$; (Ponto máximo, 1.266 FTU); ⁴CMO = $2,7609 - 0,4x$; $R^2 = 0,92$; ⁵CMO = $2,8663 + 0,0005x - 0,007x^2$; $R^2 = 0,99$; (Ponto máximo, 833 FTU); ⁶CMO = $3,0126 - 0,0007x - 0,007x^2$; $R^2 = 0,95$; (Ponto máximo, 1.166 FTU); ⁷CDZ = $0,3949 - 0,5x$; $R^2 = 0,84$; ⁸CDZ = $0,445 + 0,054x - 0,01x^2$; $R^2 = 0,98$; (Ponto máximo, 875 FTU); ⁹CDZ = $0,4835 - 0,0701x + 0,0115x^2$; $R^2 = 0,93$; (Ponto máximo, 900 FTU).

Na CMO a matriz 3 apresentou resultado inferior (3,026 g/g; $P = 0,0001$) sem uso de fitase, e quando se usou fitase, o efeito da redução nutricional não promoveu diferenças significativas ($P > 0,05$). Na Matriz 1 a regressão foi linear para CMO e efeito quadrático foi observado no CMO das aves alimentadas com dietas contendo a matriz 2 e 3, sendo que os

melhores valores foram observados pela suplementação de itase nos respectivos níveis estimados de 833 e 1166 FTU/kg de ração.

Houve piora da CDZ, com utilização da matriz nutricional 3 sem a adição de fitase. Contudo observa-se melhora dessa variável com a suplementação de 1000 FTU em ração contendo a mesma matriz. Nas dosagens em cada matriz a CDZ apresentou regressão linear decrescente na Matriz 1 e quadrática na Matriz 2 e 3, com pontos ótimos em 875 e 900 FTU, respectivamente.

Kim et al. (2017) concluíram, portanto, que no nível de superdosagem de 20.000 FTU/kg de fitase nas dietas tem um efeito positivo na taxa de produção de ovos, mas nenhum efeito benéfico sobre a qualidade de ovo das galinhas poedeiras, no entanto, não foram observadas melhorias adicionais nos níveis de inclusão de 30.000 FTU/kg de fitase. Esta confiabilidade de resultados pode estar associada as diferenças da genética animal, idade, período de alimentação, fontes de fitase e ambiente (DERSJANT-LI et al., 2015).

A CMO das codornas alimentadas com o nível de 0% de fitase na dieta foi pior na Matriz 3. A conversão em massa de ovo na Matriz 1 apresentou regressão linear, e as Matrizes 2 e 3 regressão quadrática com pontos ótimos em 833 e 1166 FTU, respectivamente. No nível de 0% de fitase na dieta a CDZ apresentou maior valor na Matriz 3. A conversão em dúzia de ovos na Matriz 1 teve efeito linear decrescente, e quadrática na Matriz 2 e na Matriz 3 com pontos ótimos em 875 e 900 FTU, respectivamente (Tabela 3).

A redução nutricional prejudicou o desempenho das codornas japonesas, à medida que a fitase foi adicionada as respostas melhoraram, independente da dosagem, esses efeitos são supostamente atribuídos ao aumento da disponibilidade de P e Ca em respostas a adição crescente de fitase nas dietas, como também, na eliminação dos efeitos adversos do fitato sobre a digestibilidade de vários nutrientes tais como Ca, Zn, amido e aminoácidos (KIEFER et al., 2012). Esses efeitos extra fosfóricos estão relacionados com a maior hidrólise do fitato e menor fitato residual e a geração de ésteres inferiores, evitando a formação de complexo de (Ca-fitato) ao longo do TGI, onde a molécula de fitato (IP₆) liga a cinco átomos de Ca, causando a limitação na disponibilidade tanto de P, Ca e outros nutrientes na formação de complexos insolúveis fitato de cálcio (WALK et al., 2014).

4.2 Características da qualidade do ovo

Não houve influencia ($P>0,05$) da matriz nutricional e do nível de fitase sobre a GE e UH dos ovos. Em relação a Ecasca, observa-se que a as aves alimentadas com dietas contendo

a Matriz 1m produziram ovos com cascas mais espessas (Tabela 4). Certamente os efeitos tenham sido causados pelos níveis ideais de cálcio e fósforo. Galinhas poedeiras possuem altas necessidades de cálcio e de fósforo para a manutenção da postura (BERTECHINI, 2012). Por outro lado, não é só a quantidade de cálcio que importa para a boa qualidade dos ovos, mas sim o balanço adequado de minerais (ALBINO et al., 2014). Esses resultados mostram que o uso de enzimas em rações para codornas não alteram a qualidade dos ovos, mesmo aplicando reduções de nutrientes na matriz nutricional das rações.

A representação percentual dos constituintes do ovo não foram significativos ($P < 0,05$), mostrando que as enzimas atuam de forma eficaz nos tratamentos com redução de energia metabolizável, proteína bruta, aminoácidos, cálcio e fósforo. Desta forma, os constituintes do ovo foram mantidos em uma proporção similar ao observado no tratamento controle. Estes resultados corroboram com os observados por Oba et al. (2011) que em estudo com galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de complexo enzimático contendo amilase, fitase e protease não foram observadas alterações nas porcentagens de gema, albúmen e casca de ovo.

Tabela 4. Efeito da suplementação de fitase em dietas com redução nutricional sobre gravidade específica (GE, g/cm³), espessura de casca (Ecasc, mm), porcentagem de gema (Pgema, %), porcentagem de albúmen (Palb, %), porcentagem de casca (Pcasc, %) e unidade haug (UH) de ovos de codornas japonesas

Matriz, % de redução	Fitase, FTU/kg de ração	GE (g/cm ³)	Ecasc (mm)	Pgema (%)	Palb (%)	Pcasc (%)	UH
0		1,0714	0,244a	32,081	57,628	8,396	91,399
5		1,0723	0,235b	31,658	57,884	8,374	91,115
10		1,0714	0,239ab	31,673	57,930	8,388	90,900
	0	1,0721	0,240	31,948	57,654	8,377	91,235
	500	1,0730	0,238	31,766	57,729	8,395	91,225
	1000	1,0709	0,236	31,829	58,117	8,368	91,124
	1500	1,0709	0,243	31,674	57,758	8,405	90,968
SEM		0,000024	0,000137	0,6213	0,9533	0,03744	1,0461
Matriz		0,7287	0,0270	0,0816	0,4562	0,9251	0,1918
Fitase		0,4073	0,2723	0,7208	0,4182	0,9381	0,8183
	Linear	0,2200	0,489	0,328	0,459	0,786	0,368
	Quadrático	0,6662	0,089	0,939	0,308	0,830	0,744
Matriz x FTUs		0,3826	0,6344	0,475	0,0079	0,6197	0,9547

^{a,b}Médias na coluna seguidas de letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)

Lucky et al. (2014) corroboram os resultados do presente estudo que a suplementação de fitase não altera o peso, espessura e porcentagem de casca do ovo. Em estudo conduzido por

Mahmmed et al. (2010) e Panda et al. (2005) ambos os autores observaram influência dos níveis de fitase sobre os parâmetros de qualidade da casca do ovo.

Silva et al. (2012) utilizando poedeiras semipesadas de 26 semanas de idade não diferiram no desempenho e na qualidade dos ovos de codorna quando se comparou dietas com redução nutricional e adição de fitase ou de fitase e carboidrases com dietas sem redução nutricional. Estes resultados diferem dos observados por Lima et al. (2011), que observaram que a suplementação de fitase melhorou a qualidade dos ovos de codornas japonesas.

Houve efeito de interação (matriz x fitase) para porcentagem de albúmen. Na matriz 1 e 3 ocorreu regressão quadrática com pontos ótimos em 616,67 e 1.050 FTU, respectivamente. Observa-se que a enzima interagiu com as diferentes matrizes nutricionais em estudo proporcionando maior peso de albúmen, à enzima demonstrou resultados positivos em comparação as dietas com redução de nutrientes sem adição de fitase (Tabela 5).

Tabela 5. Desdobramento da interação entre a matriz nutricional e a utilização da enzima fitase, sobre o porcentagem de albúmen de codornas japonesas de 17 a 32 semanas

Matrizes Nutricionais	Níveis de fitase na dieta (FTU)				Regressão	
	0	500	1000	1500	L	Q
Matriz 1	57,234a	57,842a	58,689a	56,747b	0,707	0,008 ¹
Matriz 2	57,473a	57,828a	58,043a	58,193a	0,150	0,780
Matriz 3	58,254a	57,516a	57,617a	58,335a	0,833	0,050 ²

Médias seguida de letras minúscula diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

¹Palb = 57,083 - 0,0037x - 0,006x²; R² = 0,78; (Ponto máximo de 616 FTU);

²Palb = 58,243 - 0,0021x - 0,6x²; R² = 0,99; (Ponto máximo de 1.050 FTU).

De acordo com Cavalheiros et al., (1983) o aumento da porcentagem de albumen está relacionado ao aumento da disponibilidade de fósforo metabólico e aminoácidos fornecido pela enzima nas rações onde será destinado a formação da albumina.

4.3 Resistência Óssea

Não foi observado influência (P>0,05) da matriz nutricional e da suplementação de fitase nas rações das codornas sobre a resistência da tíbia das aves. Isso confirma que o P adicional foi disponibilizado por suplementação com a maior dosagem de fitase (1000 FTU/kg e 1500 FTU/kg), mostrando que os efeitos aditivos com altas doses de fitase em dietas com redução obteve o mesmo ganho em relação a matriz 1 sem redução nutricional (Tabela 6).

Tabela 6. Parâmetros ósseos de codornas japonesas alimentadas com rações com ou sem restrição nutricional suplementadas ou não com fitase

Tratamentos	Resistência Óssea (kgf ⁻¹ cm ²)
Matriz	1- 0% Redução 3,307

	2 -5% Redução	2,848
	3 -10% Redução	2,950
Fitase (FTU/kg)	0	2,963
	500	3,023
	1000	2,820
	1500	2,959
Valor de P		
Matriz		0,358
Fitase		0,133
Matriz x Fitase		0,2529
CV (%)		25,89

Médias seguidas de letras distintas, diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Orban et al. (1999) e Kocabagli (2001) relataram que a inclusão de 0 a 1500 FTU/kg de fitase em dietas com níveis de P reduzidos para patos e frangos com 42 dias de idade não afetou o peso, comprimento e diâmetro de tíbias. O resultado da hidrólise completa será o mio-inositol, que pode estar relacionado com a formação de fosfatos de inositol no lúmen gastrointestinal. O inositol vai atuar na osteogênese e desenvolvimento mineral ósseo como foram observados em trabalhos com ratos (Dai et al., 2011). Cowieson et al. (2006) relatam que níveis de 24.000 FTU/kg de fitase nas dietas de aves melhoraram a porcentagem de cinzas na tíbia e o aproveitamento na utilização de vários nutrientes.

5. CONCLUSÕES

A superdosagem de fitase é efetiva em aves alimentadas com rações que atendem as necessidades nutricionais, e em rações com reduções nutricionais de 10% com dose de 1166FTU/kg de ração.

6. REFERÊNCIAS

- ABDELLATIF, H. A.; KAMAL, A. M. Effect of phytase supplementation on the performance of broilers grown to market weights. **Veterinary Medicine Journal of Giza**, v.51, n.3, p. 343-354, 2003.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminant animal production. **Journal Animal Science**, v.89, p. 3189–3218, 2011.

- AHMAD, T. et al. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, n. 2, p. 103-114, 2000.
- AHMADI, A. et al. Performance and egg quality of laying hens affected by different sources of phytase. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 18, p. 2286-2288, 2008.
- ALBINO, F. T. **Galinhas poedeiras: criação e alimentação**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2014. 376 p.
- AUGSPURGER, N.R.; BAKER, D. H. Phytase improves dietary calcium utilization in chicks, and oyster shell, carbonate, citrate, and citrate-malate forms of calcium are equally bioavailable. **Nutrition Research**, v. 24, p. 293-301, 2004.
- BANKS, K.M. et al. The effects of copper on the efficacy of phytase, growth, and phosphorus retention in broiler chicks. **Poultry Science**, v.83, p.1335-1341, 2004.
- BEDFORD, M. R. 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p. 1–13, 2000.
- BENEVIDES, C. M.J. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Revista da Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n.2, p. 67-79, 2011
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA. 2012. 373 P.
- BLANK, G. E.; PLETCHER, J.; SAX, M. The structure of myo-inositol hexaphosphate dodecasodium salt octatriacontahydrate: A single crystal x-ray analysis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.44, p. 319–325, 1971.
- BOGNI, F. H. **Efeito do envelhecimento e do treinamento resistido sobre ossos de ratos**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- BOLING, S. D. et al. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, v. 79, p. 224-230, 2000.
- BRANA, D.V. et al. Effect of a novel phytase on growth performance, bone ash, mineral digestibility in nursery and grower-finisher pigs. *Journal of Animal Science*, v. 84, p.1839-1849, 2006
- BRENES, A. et al. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, v.110, p. 201–219, 2003.
- CONTE, A. J. et al. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1147-1156, 2003.

- COSTELLO, A. J. R.; GLONEK, T.; MYERS, T. C. ^{31}P nuclear magnetic resonance-pH titrations of myo-inositol hexaphosphate. **Carbohydrate Research**, v.46, p.159–171, 1976.
- COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. In: I Simpósio Internacional ACAV—Embrapa sobre Nutrição de Aves. Concórdia, SC. 17 e 18 de novembro de 1999.
- COWIESON, A. J. et al. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's poultry science journal**, v. 65, n. 3, p. 401-418, 2009.
- COWIESON, A. J. et al. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. **Poultry Science**, v. 92, n. 8, p. 2124-2134, 2013.
- COWIESON, A. J. et al. The effect of phytic acid and phytase on endogenous losses from broiler chickens. **British Poultry Science**, v.45, p. 101–108, 2004.
- COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Phytic acid and phytase: Implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v.85, p.878–885, 2006.
- COWIESON, A. J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v.67, p.225–235, 2011.
- CROZE, M. L.; SOULAGE, C. O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. **Biochimie**, v. 95, n. 10, p. 1811-1827, 2013.
- DE CARLI, L. et al. Estudo da estabilidade do complexo ácido fítico e o íon Ni (II). **Food Science and Technology**, v.26, n.1, p.19-26, 2006.
- DELEZIE, E. et al. Impacts of calcium and phosphorus concentration, their ratio, and phytase supplementation level on growth performance, foot pad lesions, and hock burn of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 2, p. 115-126, 2015.
- DERSJANT-LI, Y. et al. Fitase na alimentação dos animais não-ruminantes: uma revisão crítica sobre as atividades de fitase no trato gastrointestinal e nos fatores influenciando. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, p. 878-896, 2015.
- DOS SANTOS, T. T. et al. Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 26, n. 2, p. 227, 2013.

- DOST, K.; TOKUL, O. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, n. 1/2, p. 22-27, 2006.
- EAGLE, H. et al. Myoinositol as an essential growth factor for normal and malignant human cells in tissue culture. **Journal Biological Chemistry**, v. 226, p.191–205, 1956.
- EECKHOUT, W.; DE PAEPE. M. Total phosphorus, phytatephosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science Technology**, v 47, p. 19–29, 1994
- FRANCESCHINA, C. S. et al. A utilização de fitase na dieta de poedeiras. **Nutri Time Revista Eletrônica**, v. 13, n. 1, p. 4529-4534, 2016.
- FUKAYAMA, E. H. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.629-635, 2008.
- GARCIA, P.D.S.R. **Qualidade dos ovos e desempenho de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de fósforo e suplementadas com fitase**. Dissertação [Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal]. Pirassununga – SP: Universidade de São Paulo, 2010. 68p.
- GUTIÉRREZ, E. R. Effect of energy level and phytase addition on egg production and quality. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Amman, v. 5, n. 6, p. 1368-1371, 2011
- HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v. 61, n. 10, p. 2022-2039, 1982.
- HARLAND, B. F.; OBERLEAS, D. **Phytic acid complex in feed ingredients**. Pages 69–75 in Phytase in Animal Nutrition and Waste Management. M. B. Coelho and E. T. Kornegay, ed. BASF Ref. Man., BASF Corp., Mount Olive, NJ. 1999.
- HUGHES, A. L. et al. Effect of Quantum phytase on nutrient digestibility and bone ash in White Leghorn laying hens fed corn-soybean meal-based diets. **Poultry Science**, v. 88, p. 1191-1198, 2009.
- JAMROZ, D.; WERTELECKI, T.; ZYLKA, R. The retention of mineral substances, quality and chemical composition of bones of chickens fed diets containing different calcium and phosphorus levels. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, v.10, v.3, 2007. Disponível em <<http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue3/art-04.html>>. Acesso em 08 de fevereiro de 2008.

- JOHNSON, L. F.; TATE, M. E. The structure of myoinositol pentaphosphates. **Annals of the New York Academy Science**. v.165, p. 526–532, 1969.
- KARADAS, F. et al. Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the liver of growing broilers. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 94, n. 4, p. 519-526, 2010.
- KIEFER, C., SANTOS, T. M. B., MOURA, M.S., SILVA, C. M., LUCAS, L. S., ROSA, E. M. Digestibilidade de dietas suplementadas com fitase para suínos sob diferentes ambientes térmicos. **Ciência Rural**, v.42, n. 8, p. 1483-1489, 2012.
- KIM, J.H. et al. Effect of superdosing phytase on productive performance and egg quality in laying hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.30, p.994-998, 2017
- KOCABAGLI, N. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v.25, p. 797–802, 2001.
- KORNEGAY, E. T. Effect of Natuphos phytase on protein and amino acid digestibility and nitrogen retention of poultry. Pages 493–514 in *Phytase in Animal Nutrition and Waste Management*. M.B. Coelho and E.T. Kornegay, ed. BASF Corp., Mount Olive, NJ. 1996.
- LAURENTIZ, A. C. et al. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 207-216, 2007.
- LECZNIESKI, J. L. Considerações práticas do uso de enzimas. V Seminário Internacional de Aves e Suínos – **Ave Sui 2006**. **Anais...** p. 34-46. 2006.
- LEE, S. A. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralisation in broilers. **Animal Nutrition**, v.3, p.247-251, 2017.
- LEESON, S. Programas de alimentación para ponedoras y broilers. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA: AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL. FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA EL DESARROLLO DE LA NUTRICIÓN ANIMAL, 12., 1996, Madri. **Anais...** Madri: FEDNA, p.199-216, 1996.
- LELIS, G. R. et al. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.39, n.8, pp.1768-1773, 2010.
- LIMA, H.J.D.et al. Aproveitamento de nutrientes e de energia da ração de codornas japonesas em postura com uso de fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.7, p. 1517-1522, 2010.

- LIMA, H.J. D. et al. Dietary phytase levels on performance and egg quality of Japanese quails. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.129-134, 2011.
- LIU, N. et al. 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.
- MAENZ, D.D.; CLASSEN, H. L. Phytase activity in the small intestinal brush Border membrane of the chicken. **Poultry Science**, v. 77, p. 557-563, 1998.
- MANOBHAVAN, M. et al. Effect of superdosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya based diets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.100, p. 93-100, 2015.
- MAROUNEK, M. et al. Availability of phytate phosphorus and endogenous phytase activity in the digestive tract of laying hens 20 and 47 weeks old. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, p. 353-359, 2008.
- NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: **CONFERÊNCIA APINCO 2007 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA. 2007**, Santos. Anais... Santos, São Paulo: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola, p. 309-327, 2007.
- National Research Council (NRC), 1994. **Nutrient Requirements of Poultry**, 9th revised ed. National Academy Press, Washington, DC, pp. 42-43.
- NAVES, L. P. et al. Redução de fósforo em dietas para frangos com base em valores de equivalência da fitase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p.71-77, 2014.
- NELSON, T. S. The utilization of phytate phosphorus by poultry– A review. *Poultry Science*, v.46, p.862-871, 1967.
- NEWKIRK, R.W.; CLASEN, H.L. The non-mineral nutritional impact of phytate in canola meal fed to broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, p.115-128, 2001.
- OBA, A.; PINHEIRO, J.W.; SILVA, C.A.; CASTRO-GÓMEZ, R.J.H.; BENITEZ, C.R.; UENO, F.Y.; BORGES, C.A.; ALMEIDA, M. Características produtivas, qualitativas e microbiológicas de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de complexo enzimático. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, p.4179-4186, 2013.
- OLIVEIRA, M. C. et al. Utilização de nutrientes em frangos alimentados com dietas suplementadas com fitase e níveis reduzidos de fósforo não-fítico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.436-441, 2008.

- ONYANGO, E.M. et al. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, v. 82, n. 11, 1787-1791, 2003.
- ORBAN, J.I.; ADEOLA, O.; STROSHINE, R. Microbial phytase in finisher diets of White Pekin ducks: effect on growth performance, plasma phosphorus concentration, and leg bone characteristics. *Poultry Science*, v. 78, p. 366-377, 1999.
- PIRGOZLIEV, V.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Previous exposure to dietary phytase reduces the endogenous energy losses from precision-fed chickens. *British Poultry Science*, v.50, p.598–605, 2009.
- QIAN, H.; KORNEGAY, E.T.; DENBOW, D.M. Phosphorus equivalence of microbial phytase in turkey diets as influenced by calcium to phosphorus ratios and phosphorus levels. *Poultry Science*, v.75, p. 69–81, 1996.
- RAMA RAO, S.V.; REDDY, R.V.; REDDY, V.R. Enhancement of phytate phosphorus availability in the diets of commercial broilers and layers. *Animal Feed Science and Technology*, v.79, p. 211–222, 1999.
- RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, W. E.; BALOQ, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science*, v.79, p.1024-1032, 2000.
- RAVINDRAN, V. et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. *Poultry Science*, v. 80, p.338–344, 2001.
- RAVINDRAN, V. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poultry Science*, v.7, p. 699–706, 1999.
- RAVINDRAN, V.; COWIESON, A.J.; SELLE, P.H. Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. *Poultry Science*, v.87, p. 677–688, 2008
- RAVINDRAN, V; BRYDEN W.L; KORNEGAY, E. T. Phytates: occurrence, Bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poultry & Avian Biology Reviews. Northwood*, v.6, p.125.143, 1995.
- REMUS, J. A Avicultura e o meio ambiente colhem os benefícios da nova geração de fitases. *Ave World*. n 29, p. 56-62, 2007.
- RIBEIRO, J. S. et al. Suplementação de enzimas amilase, fitase e protease para codornas japonesas em postura. *Boletim de Indústria Animal*, v. 72, n. 2, p. 163-169, 2015.

- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2011. 252p.
- RUTHERFURD, S.M. et al. Effect of a novel phytase on growth performance, AME and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soyabean meal diet for broilers. **Poultry Science**, v. 91, p. 1118–1127, 2012.
- SANDBERG, A. S. Bioavailability of minerals in legumes. **The British Journal of Nutrition**, v.88, p. S281–S285, 2002.
- SANTOS, L.M., et al. Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações suplementadas com fitase para frangos de corte nas fases de crescimento e final. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 40, n. 11, p. 2486-2495, 2011.
- SCHALY, L.M. et al. Efeito de níveis de fósforo não fítico e de fitase sobre o fêmur de frangos de corte. **Biotemas**, v.22, p. 81-85, 2009.
- SELLE, P. H. et al. Phytate and phytase: Consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p.255–278, 2000.
- 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.; PARTRIDGE, G. G. Beneficial effects of xylanase and/or phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**. v.53, p. 303–313, 2009.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; COWIESON, A.J. Enzymes in farm animal nutrition: Xylanases and Cellulases as Feed Additives, p.160-205, 2011.
- 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, L. M. et al. Associação de carbohidrase e fitase em dietas valorizadas para poedeiras semipesadas. **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 34, n. 3, p. 253-258, 2012.
- SOHAIL, S. S.; ROLAND, D. A. Influence of phytase on calcium utilization in commercial layers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 9, p. 81-87, 2000
- TEIXEIRA, E.N.M. et al. Suplementação da fitase em rações com diferentes níveis de fósforo disponível para frangos de corte. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 390-397, 2013.
- TEJEDOR, A.A. et al. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.802-808. 2001.

- VAINTRAUB, I. A. AND V. P. BULMAGA. Effect of phytate on the in vitro activity of digestive proteinases. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p. 859-861, 1991.
- VAZ, A.C.N. et al. Parâmetros ósseos de frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.1831-1835, 2013.
- VELOSO, J.A.F.; MEDEIROS, S.L.S.; COSTA, E.C.A. Mineralização óssea com quatro fontes de fósforo na terminação de suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.4, p. 379-384, 2000.
- VOHARA, A.; SATYANARAYANA, T. Phytases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 29-60, 2003.
- WALK, C.L., BEDFORD, M.R., MCELROY, A. P. Influence of limestone and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 91, p.371–1378, 2012.
- XU, Y.; LIU, X.; PRESTWICH, G. D. Synthesis of phosphatase-resistant analogues of phytic acid (InsP6). **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 48, p. 8311-8314, 2005.
- YU, S. et al. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP) including IP isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of animal science**, v. 90, n. 6, p. 1824-1832, 2012.
- ZHANG, Z. B. et al. Comparison of genetically engineered microbial and plant phytases for young broilers. **Poultry Science**, v.79, p. 709 –717, 2000.