

HEDER JOSÉ D'AVILA LIMA

USO DA ENZIMA FITASE EM RAÇÃO PARA CODORNAS
JAPONESAS EM POSTURA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

HEDER JOSÉ D'AVILA LIMA

USO DA ENZIMA FITASE EM RAÇÃO PARA CODORNAS
JAPONESAS EM POSTURA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de Magister
Scientiae.

APROVADA: 28 de julho de 2008.

Profª. Rita Flávia Miranda Oliveira

Prof. Rogério Pinto

Prof. Juarez Lopes Donzele
(Co-orientador)

Prof. Luiz Fernando Teixeira Albino
(Co-orientador)

Prof. Sergio Luiz de Toledo Barreto
(Orientador)

A Deus, pelo dom da vida.
Aos meus pais, Antônio Neuber de Lima (*in memoriam*) e Maria Ilma de Lima,
pelos exemplos de vida e à minha “Grande Família Lima”.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), particularmente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Sergio Luiz de Toledo Barreto, pela orientação segura, amizade, ensinamentos, atenção, e principalmente por ter me permitido realizar o curso sob sua orientação.

Aos professores Juarez Lopes Donzele e Luiz Fernando Teixeira Albino pela co-orientação, ensinamentos e visão profissional.

À professora Rita Flávia Miranda Oliveira e ao professor Rogério Pinto, pelas valiosas colaborações e sugestões.

À minha família e amigos pela felicidade e confiança que sempre tiveram em mim, especialmente à meus pais, irmãos e sobrinhos que se fizeram presentes, pela atenção e recordações.

Aos estagiários, Alcy, Diane, Matheus, Mellina, Rodrigo Almeida, Rodrigo Moreira e aos companheiros Larissa, Marcos e Roque.

Aos funcionários do setor de Avicultura da UFV, Elísio, Mauro e José Lino, pelo apoio durante a realização dos experimentos.

À empresa AB Vista, pelo fornecimento da enzima Quantum Fitase.

Aos demais professores, colegas e funcionários do Departamento de Zootecnia que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste curso.

Principalmente a Deus, pelo seu olhar cuidadoso e atento em todos os momentos.

BIOGRAFIA

Heder José D'Avila Lima, filho de Antônio Neuber de Lima e Maria Ilma de Lima, nasceu em Diamantina-MG, em 22 de março de 1982.

Ingressou-se, em março de 2002, no curso de Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, graduando-se em 02 de setembro de 2006.

Em março de 2007, iniciou o Curso de Mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa-MG, área de Nutrição de Monogástricos, submetendo-se à defesa de tese em 28 de julho de 2008.

ÍNDICE

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1 - INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 – Funções e Metabolismo do Fósforo.....	2
2.2 – Aspectos Nutricionais do Fitato.....	4
2.3 – Ação da Fitase no Trato Digestivo.....	6
2.4 – Efeito da Suplementação de Fitase na Alimentação de Aves.....	9
CAPÍTULO I.....	11
NÍVEIS DE FITASE NA RAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO E A QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS JAPONESAS	
1 – INTRODUÇÃO.....	11
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3 - RESULTADOS E DISCUSÃO.....	17
4 - CONCLUSÃO.....	28
CAPÍTULO II.....	29
SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE SOBRE O APROVEITAMENTO DOS NUTRIENTES E DE ENERGIA DA RAÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA	
1. INTRODUÇÃO.....	29
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4 - CONCLUSÃO.....	41
5 – CONCLUSÕES GERAIS.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

RESUMO

LIMA, Heder José D'Avila, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2008.
Uso da enzima fitase em ração para codornas japonesas em postura. Orientador:
Sergio Luiz de Toledo Barreto. Co-orientadores: Juarez Lopes Donzele e Luiz
Fernando Teixeira Albino.

Foram realizados dois experimentos para avaliar o efeito da adição da enzima Fitase na ração, sobre o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos (experimento I) e o aproveitamento dos ingredientes da ração (experimento II) para codornas japonesas em postura. No experimento I foram utilizadas 320 codornas fêmeas da sub-espécie japonesa, com 167 dias de idade, peso inicial médio de $182,3 \pm 3,8$ g e taxa de produção de ovos de 89,0%, sendo distribuídas em quatro tratamentos e oito repetições de dez aves por unidade experimental. No experimento II foram utilizadas 200 codornas fêmeas da sub-espécie japonesa com 251 dias de idade, peso médio de $187,2 \pm 6,0$ g e taxa de produção de ovos de 84,8%, distribuídas em quatro tratamentos e cinco repetições de dez aves por unidade experimental. Em ambos os experimentos utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram: T1 – Ração basal – RB - (atendendo às exigências nutricionais das codornas e as recomendações da matriz da enzima fitase); T2 - RB + 200 U de fitase; T3 - RB + 400 U de fitase; T4 - RB + 600 U de fitase. As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja. Os parâmetros de desempenho e de qualidade dos ovos avaliados no experimento I foram: consumo de ração, produção de ovos por ave dia, massa de ovos, eficiência de utilização de fósforo para massa de ovos, conversão alimentar por massa de ovos e por dúzia de ovos, produção de ovos por ave alojada, ovos viáveis por ave dia, viabilidade, variação de peso corporal, consumo de lisina, metionina + cistina e treonina, peso dos ovos, peso de gema, peso de albúmem, peso de casca, porcentagens de gema, albúmem e casca, gravidade específica e percentual de ovos comercializáveis. As análises estatísticas foram feitas utilizando-se os modelos de regressão linear, quadrática e Linear Response Plateau (LRP), conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável. A melhor conversão alimentar ocorreu nos níveis de 437 (CAMO) e de 400 (CADZ) U de fitase, entretanto, considerando a produção diária de ovos por ave e a produção de ovos viáveis por ave

dia, os melhores níveis foram 335 e 368 U de fitase, respectivamente. Para MO o maior nível de suplementação de fitase proporcionou o melhor resultado. Entretanto em relação à eficiência do uso do P, o nível de 463 U de fitase foi o melhor para composição da MO, sendo as demais variáveis de desempenho produtivo e qualidade dos ovos, supridas com este nível, em seus níveis ideais de fitase. Para determinação do aproveitamento dos nutrientes e energia das rações (experimento II) foi utilizado o método de coleta total de excretas. Foram determinados os valores de energia metabolizável aparente e de energia metabolizável aparente corrigida pela retenção de nitrogênio, e os coeficientes de metabolizabilidade da energia metabolizável aparente e da energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio. Foi calculada também a quantidade de fósforo, cálcio e nitrogênio retido por ave dia. De maneira geral houve uma melhora no aproveitamento da energia das rações com a suplementação de fitase. Os níveis de 195 e 186 U de fitase são os mais indicados para proporcionar maior aproveitamento da energia metabolizável aparente e aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio. O nível de 600 U de fitase proporcionou menor excreção de nitrogênio, entretanto, 368 U de fitase foi suficiente para máxima retenção de nitrogênio pelas codornas. O melhor nível no experimento I foi de 463 U de fitase e no experimento II foi de 368 U de fitase.

ABSTRACT

LIMA, Heder José D'Avila, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2008.
Using the enzyme phytase in feed for laying Japanese quails. Adviser: Sergio Luiz de Toledo Barreto. Co-advers: Juarez Lopes Donzele and Luiz Fernando Teixeira Albino.

There were two experiments to evaluate the effect of adding the enzyme phytase in the diet on the performance and eggs quality (experiment I) and the use of the feed ingredients (Experiment II) for laying Japanese quails. In the first experiment were used 320 quail females of Japanese sub-species, with 167 days old, initial weight of $182.3 + 3.8$ g and rate of egg production of 89.0% and is divided into four and eight treatments repetitions of ten birds each. In experiment II were used 200 quail females of Japanese sub-species with 251 days old, average weight of $187.2 + 6.0$ g and rate of egg production of 84.8%, distributed in four treatments and five repetitions of ten birds each. In both experiments using the completely randomized design. The treatments were: T1 - basal diet - RB - (given the nutritional requirements of quails and recommendations of the matrix of the enzyme phytase), T2 - RB + 200 U of phytase; T3 - RB + 400 U of phytase, T4 - RB + 600 U of phytase. The diets were formulated based on corn and soybean meal. The parameters of performance and eggs quality were evaluated in the experiment I: feed intake, egg production per bird day, eggs mass, efficient use of phosphorus for eggs mass, feed conversion per eggs mass and per eggs dozen, egg production per bird housed, viable eggs per bird day, feasibility studies, changes in body weight, lysine, methionine + cystine and threonine intake, egg weight, yolk weight, albumen weight, shell weight, percentage of yolk, albumen and shell, specific gravity and percentage of commercial eggs. Statistical analysis was made using the linear regression models, quadratic and Linear Response Plateau (LRP) as the best fit obtained for each variable. The best feed conversion occurred at levels of 437 (CAMO) and 400 (CADZ) U of phytase, however, considering the daily production of eggs per bird and production of viable eggs per bird day, the highest levels were 335 and 368 U of phytase, respectively. For MO the highest level of supplementation of phytase gave the best result. Meanwhile on the efficiency of the use of P, the level of 463 U of phytase was best

for the composition of MO, while the other variables of performance and quality of eggs, filled with this level, in its ideal level of phytase. To determine the use of nutrients and energy in the diet (experiment II) was used the method of total collection of excreta. Were determined the values of apparent metabolizable energy and energy apparent metabolizable corrected by the retention of nitrogen, and metabolizability coefficient of apparent metabolizable energy and energy apparent metabolizable corrected by nitrogen balance. It was also calculated the amount of phosphorus, calcium and nitrogen detained by bird day. In general there was an improvement in the utilization of energy in the diet with phytase supplementation. Levels of 195 and 186 U of phytase are best designed to provide greater use of broiler apparent and apparent corrected by nitrogen balance. The level of 600 U of phytase the lowest nitrogen excretion, however, 368 U of phytase was enough for maximum retention of nitrogen by quails. The best level in the experiment I was 463 U of phytase and the experiment II was of 368 U of phytase.

1 - INTRODUÇÃO GERAL

As enzimas são moléculas protéicas complexas que catalisam reações químicas, sendo altamente específicas para as reações e para os substratos envolvidos.

As primeiras informações sobre o uso de enzimas em rações avícolas foram a partir da descoberta de que grãos umedecidos, associados à suplementação enzimática, tinham melhor aproveitamento nutricional pelas aves (Fry et al., 1958).

Os ingredientes de origem vegetal usados nas formulações de rações possuem, fatores antinutricionais (fitato, tanino, polissacarídeos não-amiláceos) ou substâncias que não são totalmente digeridas pelas enzimas digestivas. O uso de enzimas exógenas específicas pode permitir o aproveitamento destes compostos, ou de nutrientes associados a eles, com diminuição da excreção de substâncias como nitrogênio e fósforo (P). A lixiviação do P, a partir de excretas de aves e de outros animais domésticos para a água de superfície e para os lençóis freáticos é um grave problema de poluição ambiental que pode ser minimizado com o uso de fitase exógena.

Ainda que tenha sido descoberta no início do século XX, somente a partir da década de 1990 a fitase tornou-se economicamente viável para o uso em produção animal. Isto ocorreu porque a partir deste período pôde-se produzir a enzima a baixos custos utilizando a tecnologia do DNA recombinante e também, devido a preocupação em reduzir a poluição ambiental, principalmente por P e nitrogênio, excretados pelos animais criados em confinamento (Kies et al., 2001). O uso da fitase exógena para monogástricos tem sido muito preconizado devido sua habilidade em hidrolisar o fósforo fítico que é pouco utilizado por estes animais, (Perney et al., 1993).

O mercado global de fitases exógenas é estimado em mais de US\$ 250 milhões e cresce aproximadamente 10,0 a 15,0% ao ano (Cowieson, 2008). As razões da rápida expansão do mercado de fitase incluem a legislação associada à poluição ambiental, a redução do preço das enzimas, a magnitude e a consistência relativamente alta da bioeficácia desta enzima e o aumento dos custos dos ingredientes e da fabricação das rações. Embora inicialmente comercializada como uma ferramenta biotecnológica para melhorar o aproveitamento de P, os efeitos

extra-fosfóricos das fitases estão sendo cada vez mais demonstrados na literatura científica.

As aves não utilizam o P fítico dos alimentos o suficiente para suportar os níveis de crescimento e de produção, necessitando, portanto, de suplementação com P inorgânico. Dessa forma, a criação de codornas, que se destaca pelo rápido crescimento, maturidade sexual precoce, elevada produtividade e persistência na produção de ovos, pode ter melhor aproveitamento dos nutrientes com a suplementação de fitase na dieta. O uso de fitase exógena pode permitir a redução da quantidade de certos ingredientes adicionados às rações, o que além de reduzir o custo de formulação, pode melhorar os resultados zootécnicos e reduzir a excreção de poluentes ao ambiente.

Números divulgados por órgãos especializados indicam crescimento significativo do plantel de codornas nos últimos anos. Ainda, de maneira geral, as codornas ficaram mais pesadas, mais produtivas, com ovos maiores e com maior resistência (Oliveira, 2007), caracterizada pela diminuição de casos de prolapso de oviduto. Estados como São Paulo, Espírito Santo e Minas Gerais, contribuem para a contínua liderança da Região Sudeste, com 60,6% das codornas brasileiras (IBGE, 2006).

Diversas pesquisas sobre o uso de fitase foram desenvolvidas com frangos de corte e galinhas poedeiras. Não se encontra na literatura dados a respeito do uso de fitase na dieta de codornas e, a extrapolação dos resultados obtidos com outras categorias de aves para essa sub-espécie pode não resultar em índices zootécnicos satisfatórios. Portanto, torna-se necessário avaliar o efeito da suplementação dietética de fitase sobre o desempenho, a qualidade dos ovos e o aproveitamento dos nutrientes da ração de codornas.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – FUNÇÕES E METABOLISMO DO FÓSFORO

Entre os macrominerais, o P é considerado o primeiro em custo e o terceiro no âmbito global dos nutrientes ou atributo nutricional das rações, ficando atrás

somente da energia e da proteína no custo da formulação de rações para aves e suínos (Borges, 1997).

Os minerais constituem parte importante do organismo animal, representando de 3,0 a 4,0% do peso vivo das aves (Bertechini, 2006). O P é o segundo mineral mais abundante na composição dos tecidos animais, estando 80,0% do P total presente nos ossos e dentes, e o restante distribuído entre fluídos e outros tecidos (Underwood & Suttle, 1999). Os ossos além de serem componentes estruturais do corpo, servem como reserva de cálcio (Ca) e P, que podem ser mobilizados ocasionalmente, quando o fornecimento desses minerais for inadequado para atender às exigências nutricionais (Maynard et al., 1984).

O P está envolvido nas funções de crescimento e diferenciação celular, é um dos componentes dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), está associado com lipídeos para a formação dos fosfolipídeos, principais componentes das membranas plasmáticas, é considerado um tampão e visa a manutenção do equilíbrio ácido-básico e osmótico (González & Silva, 2003; Andriquetto et al., 1990).

O fornecimento de P na dieta pode ser na forma inorgânica como mono, di ou trifosfato, ou na forma orgânica como fitatos, fosfolipídeos ou fosfoproteínas, sendo absorvidos no intestino delgado das aves na forma de ortofosfato (PO_4) por difusão simples seguindo gradiente de concentração ou transporte ativo na dependência de vitamina D e sódio (Pizzolante, 2000). Sua taxa de absorção depende de fatores como pH e viscosidade intestinal, nível de disponibilidade de P dietético, presença de vitamina D, relação Ca e P, presença de minerais como ferro, alumínio, magnésio (Mg) e manganês (Waldroup, 1989), forma e grau de pureza das fontes minerais empregadas (Waldroup et al., 1965), idade das aves, nível de Ca dietético e consumo de lactose e gordura (Pizzolante, 2000).

Dietas com baixo P ocasionam alterações no metabolismo que permitem a secreção de substâncias que promovem a otimização da absorção do P intestinal. A vitamina D é uma das substâncias responsáveis e aumenta a absorção do P no intestino. Além da ação intestinal também proporciona a reabsorção do P nos túbulos renais como forma de adaptação à escassez de P dietético. No entanto, a absorção não depende somente da presença na dieta e sim da disponibilidade do P ingerido (Rosol & Capen, 1997).

Nos alimentos de origem vegetal, utilizados nas rações avícolas, o P encontra-se, em sua maior parte, na forma de fitato isto é, indisponível para as aves.

A biodisponibilidade do P do milho é de 33% e a do farelo de soja 32% (Rostagno et al., 2005). A utilização de enzimas pode alterar as características intestinais e favorecer a absorção dos minerais. Este fato já foi comprovado para enzimas como a fitase, xilanases, galactosidases, entre outras, influenciando a absorção de macro e microminerais (Berstechini, 2006).

2.2 – ASPECTOS NUTRICIONAIS DO FITATO

Na literatura, há três termos: fitato, fitina e ácido fítico, que são usados para descrever o substrato das fitases. O termo mais usado é fitato, que se refere a uma mistura de sais de ácido fítico, um composto de seis resíduos de ácido ortofosfórico que se encontram ligados ao inositol (mio-inositol (1, 2, 3, 4, 5, 6) hexafosfato, IP6), e que contém 28,16% de P. O termo fitina refere-se especificamente ao complexo de IP6 depositado com potássio (K), Mg e Ca presente nas plantas, enquanto que o ácido fítico é a forma livre de IP6 (Nagashiro, 2007).

O fitato representa cerca de 50,0 a 80,0% do P total presente na maioria dos alimentos de origem vegetal (Harland & Morris, 1995). Nas sementes e nos grãos de cereais, o fitato é a principal forma de armazenamento do P, mio-inositol e de íons metálicos (Oh, 2004).

O papel do fitato é se ligar e armazenar fósforo, para ser utilizado pelo embrião da planta em desenvolvimento e, se ligar com cátions bivalentes para serem liberados após a germinação (Remus, 2007). A localização do fitato nas sementes é 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).

Dependendo do pH, os grupamentos fosfatos presentes na molécula de fitato atuam como agente quelante forte de íons metálicos como Ca, Mg, cobalto, manganês, e zinco, impedindo que esses íons essenciais aos animais e presentes na dieta habitual, sejam absorvidos pelos monogástricos (Lei et al., 1993). Devido a essas propriedades e ao fato de que os animais monogástricos possuem baixo nível

de fitase intestinal, o fitato presente nos constituintes da dieta de não-ruminantes, tem sido considerado um fator antinutricional (Cherry & Fidantsef, 2003; Kristensen et al., 2006).

Além do fitato interagir com os minerais essenciais, formando uma grande variedade de sais insolúveis (complexos), ele também reduz a digestibilidade de lipídeos, carboidratos e proteínas, formando complexos que são menos solúveis e mais resistentes à proteólise. As cargas negativas da molécula de ácido fítico reagem com as cargas positivas de alguns aminoácidos, tais como lisina, arginina, histidina, das moléculas de proteínas, incluindo as enzimas envolvidas na digestão de proteínas, diminuindo a disponibilidade dos aminoácidos (Cowieson et al., 2006; Ravindran et al., 1999; Ravindran & Bryden, 1999; Kornegay et al., 1996).

Nos nutrientes dietéticos, o fitato está presente como sal de K ou Mg e é relativamente não reativo (Lott et al., 2000). Contudo, quando a ração é exposta às condições de baixo pH na parte proximal do trato gastrintestinal, o fitato se torna solúvel à medida que os íons H^+ substituem o K e o Mg (Cosgrove, 1966). Embora protonado, o fitato ainda tem carga negativa e pode reagir eletrostaticamente com os resíduos básicos de aminoácidos da proteína dietética. A extensão desta reação depende da concentração e da solubilidade do fitato, da concentração de Ca dietético, do pH do meio, do ponto isoelétrico da proteína e de sua estrutura terciária e quaternária, isto é, do grau de impedimento esteárico entre os aminoácidos reativos e o fitato (Cowieson, 2008).

Tem sido demonstrado ainda que o fitato pode afetar a digestibilidade do amido interagindo com a amilase (Thompson & Yoon, 1984). As enzimas amilase, tripsina, fosfatase ácida, e tirosinase também são inibidas pelo inositol (Harland & Morris, 1995). Nesse sentido, ele influencia negativamente a digestão de nutrientes, diminuindo a energia metabolizável da ração. A diminuição no aproveitamento de nutrientes resulta em diminuição do crescimento, hipoglicemia e danos aos tecidos animais (Laurentiz, 2005).

De modo geral, os teores de P nos vegetais, como milho e farelo de soja, são muito pequenos quando comparados aos ingredientes de origem animal da ração. Entretanto, devido às grandes quantidades incluídas nas formulações, tanto o milho quanto o farelo de soja podem contribuir muito no aporte de P na dieta. A maior objeção a esta contribuição é relativa à forma orgânica (não disponível), deste P. Ainda que as aves possam ter presente no conteúdo intestinal uma pequena

quantidade de fitase endógena, esta é insuficiente para degradar o ácido fítico, fitina ou fitato dos vegetais.

2.3 – AÇÃO DA FITASE NO TRATO DIGESTIVO

A fitase ou mio-inositol hexaquiوسفato fosfohidrolase é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases de histidina ácida, que hidrolisa o fitato para mio-inositol e ácido ortofosfórico, necessário ao processo metabólico na biosíntese celular. Há dois tipos de fitase, a mio-inositol hexaquiوسفato 3-fosfohidrolase, denominada 3-fitase e a mio-inositol hexaquiوسفato 6-fosfohidrolase, denominada 6-fitase ou fitato 6- fosfatase (Vohara & Satyanarayana, 2003).

A maioria das primeiras fitases comercializadas era derivada de diferentes espécies de fungos, como *Aspergillus niger* (conhecido anteriormente como *Aspergillus ficuum*) e *Peniophora lycii* (Remus, 2007). A atividade desta enzima é expressa em FTU ou simplesmente U (unidade de fitase ativa), definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico em um minuto em substrato de sódio fitato a temperatura de 37°C e pH 5,5 (Conte, 2000; Engelen et al., 1994).

Uma série de fitases com propriedades estruturais e catalíticas variadas é encontrada em animais, plantas e microorganismos. Certos ingredientes das rações contêm fitases naturais que podem separar o P do fitato. Assim, é encontrada a fitase em cereais como arroz, trigo, milho, sorgo, triticali, soja, feijão, e outras leguminosas ou sementes oleaginosas (Vohara & Satyanarayana, 2003). Alimentos como cevada, farelo de trigo e arroz são ricos em atividades de fitase, entretanto, milho e farelo de soja, ingredientes mais utilizados na fabricação de rações, contêm pouca ou nenhuma atividade (Selle, 1997). Também foi encontrada fitase no intestino de ratos (Patwardhan, 1937), intestino de suínos, ovinos e bovinos (Spitzer & Phillips, 1972), frangos e humanos (Bitar & Reinhold, 1972) e no sangue de aves, répteis, peixes e tartaruga do mar (Rapoport et al., 1941).

Animais monogástricos, como aves, suínos e o próprio homem, ao consumirem cereais que contêm fosfato na forma de P fítico, não o utilizam por causa da baixa atividade ou ausência de atividade de fitase intestinal (Wodzinski & Ullah, 1996). 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).

Mesmo apresentando diferentes fontes de fitase, estudos têm comprovado que as mais promissoras comercialmente ainda são as microbianas como as provenientes das bactérias *Bacillus sp*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, de leveduras como *Arxula adenivorans* e *Hansenula polymorpha* e fungos como *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* e *Talaromyces thermophilus* (Pandey et al., 2001). Em geral, o substrato mais utilizado para o *A. niger*, *A. terreus* e *E. coli* é o ácido fítico (Wyss et al., 1999). As fitases consideradas de segunda geração são derivadas da bactéria *Escherichia coli* e tem demonstrado uma melhor influência no desempenho, aumento na mineralização óssea e na biodisponibilidade do P para as aves (Remus, 2007).

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

As enzimas exógenas adicionadas às rações de animais visam quatro objetivos distintos: remoção ou hidrólise de fatores antinutricionais, aumento da digestibilidade dos nutrientes existentes, suplementação das enzimas endógenas e hidrólise de polissacarídeos não amiláceos solúveis (Classen, 1996).

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

Com base nas propriedades bioquímicas (pH ideal, mecanismos catalíticos e especificidade da hidrólise) e no alinhamento da seqüência de aminoácidos, as fitases podem ser divididas em fitases ácidas histidinas (HAP) e fitases alcalinas. A maioria das fitases vegetais, bacterianas e fúngicas pertencem à classe HAP. A IUPAC-IUB (The International Union of Pure and Applied Chemistry and the International Union of Biochemistry) classificou todas as fitases ácidas como subfamília de HAP de alto

peso molecular, na qual se inclui as 3-fitases que iniciam a hidrólise da ligação éster na posição 3, e as 6-fitases, que hidrolisam esta ligação na posição 6 (Nagashiro, 2007).

O efeito do fitato e da fitase sobre a biodisponibilidade de P tem sido verificado há vários anos. Entretanto, os chamados efeitos extra-fosfóricos da fitase são menos conhecidos, embora vários autores tenham relatado melhor digestibilidade, de aminoácidos, energia e outros minerais (especialmente Ca) com a adição de fitase em dietas avícolas. Estudos recentes esclareceram os mecanismos pelos quais a fitase influencia a digestibilidade aparente de aminoácidos, energia e minerais e acredita-se que grande parte destas melhorias, especialmente os efeitos sobre a proteína, esteja relacionada à redução dos efeitos do fitato sobre as perdas endógenas de aminoácidos (Cowieson, 2008).

No trato gastrintestinal, o fitato inibe a ação de enzimas proteolíticas, tais como pepsina e tripsina. Complexos fitato-proteína-aminoácido ou fitato-mineral-proteína são de difícil digestão, reduzindo a utilização de proteínas (Ravindran et al., 1995; Kornegay et al., 1996; Ravindran & Bryden, 1997; Keshavarz, 1999). Esses complexos ocorrem naturalmente em ingredientes da ração e podem ser formados na porção inicial do trato gastrintestinal.

A fitase hidrolisa a ligação de fósforo-proteína, remove os efeitos proteolíticos negativos do ácido fítico nas enzimas e aumenta a digestão e absorção de proteínas e aminoácidos (Ravindran & Bryden, 1997).

Os métodos pelos quais o fitato e a fitase alteram fisiologicamente os processos de secreção e absorção ainda não são bem conhecidos, mas acredita-se que estejam relacionados com a natureza reativa do fitato e com a agregação eletrostática da proteína dietética na fase gástrica da digestão (Cowieson, 2008). A fitase tem também se demonstrado eficiente em aumentar o valor de energia metabolizável dos ingredientes (Remus, 2007).

Os mecanismos que descrevem os efeitos da enzima sobre a utilização de energia são desconhecidos. Sabe-se que a melhora na digestibilidade das proteínas é, em parte, responsável pelo aumento da energia disponível. A fitase promove aumento na utilização de energia, independentemente dos efeitos sobre a digestão de aminoácidos. Isto possivelmente ocorre devido os minerais complexarem com o ácido fítico, formando, no trato digestório, juntamente com os lipídeos, reações de saponificação, prejudicando a utilização de lipídeos (Ravindran et al., 2000). A

enzima fitase, neste caso, age liberando o complexo fitato-mineral e impedindo tais reações, o que possibilita melhor utilização da energia derivada dos lipídeos.

É importante realçar que cada 0,1% de P disponível liberado 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 (Leczneski, 2006).

2.4 - EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE NA ALIMENTAÇÃO DE AVES

Os primeiros estudos sobre a suplementação de fitase na ração de aves foram através do resíduo da fermentação de *Aspergillus ficcum* (*Aspergillus niger*). As aves tratadas apresentavam aumento das cinzas ósseas devido ao maior aporte de P, sendo concluído que as mesmas utilizam o P do fitato tão bem quanto o P inorgânico (Nelson et al., 1968).

Existem diversas razões para a difusão e aplicação de enzimas na nutrição animal. Dentre as mais citadas está a melhora no desempenho zootécnico dos animais, a redução de custos, da variação da qualidade dos ingredientes inseridos numa dieta e da contaminação ambiental pela perda de nutrientes, melhor utilização de nutrientes, melhor ganho de peso e conversão alimentar, aumento na flexibilidade e precisão da formulação de ração de mínimo custo e melhora da saúde, especialmente digestiva e do bem estar das aves (Choct, 2006; Broz & Beardsworth, 2002; Waldroup, 1992).

Trabalhos têm demonstrado respostas positivas quanto a digestibilidade de nutrientes, e desempenho de aves alimentadas com rações à base de milho e soja, quando suplementadas por enzimas exógenas (Ravidran et al., 1999).

Galinhas poedeiras alimentadas com rações contendo fitase apresentam redução na excreção de P em relação às alimentadas com dietas sem fitase. Este fato deve-se principalmente à diminuição na quantidade de inclusão do fosfato bicálcico na formulação das dietas, quando valorizada a matriz fítica (Ligeiro et al., 2007; Boling et al., 2000).

O uso de baixos níveis dietéticos de Ca e P e estreita relação Ca / P parecem ser vantajosos (Selle & Ravindran, 2007). Galinhas poedeiras alimentadas com baixos

níveis de cálcio hidrolisam melhor o fitato do que aves consumindo dietas com altos teores deste mineral (Borges, 1997; Roland & Gordon, 1996).

A avaliação do desempenho de galinhas poedeiras comerciais alimentadas com diferentes níveis de zinco disponível e fitase tem mostrado que a inclusão desta enzima melhora a conversão alimentar gradativamente independente do nível de zinco utilizado (Savietto et al., 2007). Outros pesquisadores têm verificado que dentre os principais efeitos causados pela suplementação de enzimas à dieta de galinhas poedeiras, está o aumento da massa de ovos, resultante do aumento na quantidade de albúmen e de gema (Soto-Salanova & Wyatt, 1997).

A adição de fitase microbiana em rações à base de milho e farelo de soja, com baixo nível de P, tem proporcionado valores de energia metabolizável aparente superior aos encontrados em ração com nível normal de P e sem suplementação enzimática (Lan et al., 2002).

Tem sido observado que a fitase propicia maior incremento na energia metabolizável verdadeira corrigida pelo balanço de N (EMVn) do milho em relação à amilase, protease e xilanase na alimentação de galos, havendo melhora de 95 Kcal/Kg na EMVn com a adição da fitase (Dourado et al., 2007). Neste mesmo sentido, a inclusão de fitase em dietas com redução nos níveis nutricionais para galinhas poedeiras, tem possibilitado aumento no coeficiente de metabolizabilidade da energia metabolizável aparente e aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (Albino et al., 2008).

CAPÍTULO 1

NÍVEIS DE FITASE NA RAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO E A QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS JAPONESAS

1 – INTRODUÇÃO

O uso de fitase está consolidado na produção de frangos de corte e galinhas poedeiras, considerando sua função em aumentar a biodisponibilidade de fósforo (P) fítico presente nas dietas e, conseqüentemente, em economizar as fontes de P e reduzir a poluição ambiental (Broz & Ward, 2007; Bertechini, 2006).

A molécula de fitato possui em sua estrutura grupos ortofosfatos altamente ionizáveis, os quais influenciam a disponibilidade de cátions como o cálcio, zinco, cobre, magnésio e ferro no trato gastrintestinal, o que resulta na formação de complexos insolúveis, tornando o fitato um fator antinutricional para animais monogástricos (Sohail & Roland, 1999). Os grupos ortofosfatos podem também unir-se às enzimas digestivas e proteínas dietéticas, reduzindo a digestibilidade de carboidratos e aminoácidos (Sebastian et al., 1996).

Com base no fato de que o fitato é um ânion reativo que pode formar ampla variedade de sais insolúveis diversas pesquisas foram realizadas e mostraram sua eficácia para melhorar a disponibilidade de minerais, proteínas e energia. O desempenho dos animais depende, em grande parte, da disponibilidade dos nutrientes contidos nas rações e do grau em que estes nutrientes podem ser absorvidos e utilizados posteriormente (Nagashiro, 2007).

A suplementação de enzimas na ração pode melhorar a atividade das enzimas endógenas sobre os ingredientes desta ração, melhorando o aproveitamento dos nutrientes e o desempenho das aves. Rações com níveis reduzidos de minerais, proteína ou aminoácidos e energia, suplementadas com fitase, podem proporcionar o mesmo desempenho para aves que uma ração com níveis nutricionais adequados (Zanella et al., 1999).

Os nutricionistas têm se empenhado em buscar soluções para atender as exigências nutricionais das codornas que, devido ao rápido crescimento e elevada produtividade, passaram a exigir alimentos de melhor qualidade, como também

aditivos que façam com que estas aves aproveitem melhor o valor nutricional dos alimentos.

Em razão das crescentes pressões ambientais e econômicas a avicultura brasileira está passando por mudanças no âmbito estrutural e tecnológico. A busca por tecnologias que tornem as aves mais produtivas e a atividade menos impactante ao meio ambiente tem levado produtores a optarem pela adição de enzimas exógenas nas rações das aves

Assim, visou-se com a presente pesquisa, avaliar o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de codornas japonesas alimentadas com rações contendo diferentes níveis de fitase.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de 02 de setembro a 25 de novembro de 2007, com duração de 84 dias.

Foram utilizadas 320 codornas fêmeas da sub-espécie japonesa (*Coturnix coturnix japonica*), com 167 dias de idade, peso de $182,3 \pm 3,8$ g e taxa de produção de ovos de 89,0%.

As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e oito repetições, com dez aves por unidade experimental. Os tratamentos utilizados foram:

- T1 – Ração basal (RB);
- T2 – RB + 200 U de fitase;
- T3 - RB + 400 U de fitase;
- T4 - RB + 600 U de fitase.

As aves foram alojadas em gaiolas (unidade experimental) de arame galvanizado dispostas em baterias, sendo cada bateria composta por cinco gaiolas, com as dimensões de 96 x 37 x 16 cm (largura x profundidade x altura), tendo uma gaiola por andar, dividida cada uma em três compartimentos. Em cada unidade experimental, foram alojadas 10 aves fornecendo área de $118,4\text{cm}^2$ /ave. Sob o piso das gaiolas colocou-se uma bandeja para o recolhimento das excretas. As gaiolas foram equipadas com comedouros em chapa metálica galvanizada e bebedouros do

tipo calha em poli cloreto de vinila (PVC), ambos colocados percorrendo toda a extensão da gaiola, sendo o comedouro posicionado na parte frontal e o bebedouro na parte posterior. Cada comedouro foi equipado com duas divisórias em madeira, coincidindo com a largura de cada unidade experimental.

As baterias foram instaladas em sala, cujo ambiente foi monitorado duas vezes ao dia (8:00 e 16:00h), por termômetros de máxima e mínima e de bulbo seco e bulbo úmido.

Como programa de iluminação foi adotado um fotoperíodo artificial de 17 horas.

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, conforme as exigências nutricionais das aves preconizadas no NRC (1994), exceto para as exigências de lisina e de metionina + cistina, de treonina e a de triptofano digestíveis, em que foram utilizadas as determinadas por Pinto et al. (2003), Umigi et al. (2008) e Pinheiro et al. (2008), respectivamente; a de cálcio, determinada por Pereira (2004), a de P disponível determinada por Costa (2006) e a de energia metabolizável determinada por Moura (2007), mantendo a mesma relação entre energia metabolizável e nutrientes. A partir das exigências nutricionais foi formulada a ração basal com reduções de 0,36% de proteína bruta; 0,115% de cálcio; 45 kcal de energia metabolizável; 0,01% de lisina; 0,015% de aminoácidos sulfurados, 0,03% de treonina e adotando-se um nível de 0,13% de P disponível, correspondente a 43% da exigência deste mineral. Os níveis de redução foram baseados na matriz nutricional da fitase para galinhas poedeiras. A composição química e os valores nutricionais dos ingredientes utilizados para a formulação das rações foram os recomendados por Rostagno et al. (2005).

As rações foram fornecidas à vontade, sendo o arraçoamento feito duas vezes ao dia, às 8:00 e às 16:00 horas, e a água foi fornecida à vontade durante todo o período experimental.

Tabela 1 - Composição percentual e calculada das rações experimentais, na base da matéria natural

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Milho moído	61,270	61,270	61,270	61,270
Farelo de soja (45,0%)	30,000	30,000	30,000	30,000
Calcário	7,410	7,410	7,410	7,410
Fosfato bicálcico	0,150	0,150	0,150	0,150
Sal comum	0,320	0,320	0,320	0,320
Mistura mineral ¹	0,050	0,050	0,050	0,050
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
DL-Metionina (98,2%)	0,270	0,270	0,270	0,270
L-Lisina HCl (78,8%)	0,220	0,220	0,220	0,220
Antioxidante ³	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto de colina (60,0%)	0,100	0,100	0,100	0,100
Amido	0,100	0,092	0,084	0,076
Fitase	0,000	0,008	0,016	0,024
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição Calculada				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2755	2755	2755	2755
Proteína bruta (%)	18,95	18,95	18,95	18,95
Lisina digestível (%)	1,070	1,070	1,070	1,070
Metionina+Cistina digestível (%)	0,854	0,854	0,854	0,854
Triptofano digestível (%)	0,226	0,226	0,226	0,226
Treonina digestível (%)	0,563	0,563	0,563	0,563
Cálcio (%)	2,980	2,980	2,980	2,980
Fósforo disponível (%)	0,130	0,130	0,130	0,130
Sódio (%)	0,145	0,145	0,145	0,145
Fibra bruta (%)	2,690	2,690	2,690	2,690

¹ Composição/kg de produto: Manganês: 160g, Ferro: 100g, Zinco: 100g, Cobre: 20g, Cobalto: 2g, Iodo: 2g, excipiente q.s.p.: 1000 g.

² Composição/kg de produto: Vit. A:12.000.000 U.I., Vit D₃:3.600.000 U.I., Vit. E: 3.500 U.I., Vit B₁:2.500 mg, Vit B₂: 8.000 mg, Vit B₆:5.000 mg, Ácido pantotênico: 12.000 mg, Biotina: 200 mg, Vit. K: 3.000 mg, Ácido fólico: 1.500mg, Ácido nicotínico: 40.000 mg, Vit. B₁₂: 20.000mg, Selênio: 150 mg, Veículo q.s.p.: 1.000g.

³ Butil-hidróxi-tolueno.

Durante a realização do experimento, foram observados e avaliados os seguintes parâmetros:

Consumo de ração

A cada 21 dias foi avaliada a quantidade de ração consumida em função do número de aves de cada tratamento e do período de 21 dias, expresso em gramas de ração consumida por ave / dia. No caso de morte de aves durante o período

experimental, procedeu-se a correção do consumo de ração, obtendo o consumo médio verdadeiro para a unidade experimental em questão.

Consumo de aminoácidos

Foi obtido o consumo de lisina, de metionina + cistina e de treonina, multiplicando-se os valores de consumo de ração pela proporção do aminoácido digestível na composição calculada das dietas, sendo o valor expresso em miligramas de cada aminoácido por ave-dia.

Produção de ovos

Os ovos foram coletados diariamente às 8:00 horas. A produção média de ovos no período foi obtida computando-se diariamente o número de ovos produzidos, incluindo os quebrados, os trincados e os anormais, e foi expressa em porcentagem sobre a média de aves do período (ovo/ave/dia) e, sobre a média de aves alojadas no início do experimento (ovo/ave/alojada). Também foi calculado o número médio de ovos comercializáveis (expresso em porcentagem) durante o período experimental, que foi obtido descontando-se os quebrados, os trincados e os anormais do total de ovos. Ainda, considerando o percentual de ovos comercializáveis ou viáveis foi calculada a produção de ovos viáveis por ave / dia.

Peso médio dos ovos

Todos os ovos íntegros produzidos durante o 19^o, 20^o, 21^o, 40^o, 41^o, 42^o, 61^o, 62^o, 63^o, 82^o, 83^o e 84^o dias experimentais, em cada repetição, foram pesados e o peso total obtido foi dividido pelo número de ovos utilizados na pesagem.

Massa de ovos

O peso médio dos ovos foi multiplicado pelo número total de ovos produzidos no período experimental, obtendo-se assim a massa total de ovos. Esta massa total foi dividida pelo número total de aves por dia do período, sendo expressa em gramas de ovo por ave por dia (g ovo/ ave/ dia).

Eficiência de utilização de fósforo para massa de ovos

Foi obtido o consumo de fósforo (mg / ave / dia) e, posteriormente, os valores encontrados foram expressos em razão da massa de ovos de cada tratamento.

Conversão alimentar

Foram avaliadas as conversões alimentares por dúzia de ovos, expressa pelo consumo total de ração em quilogramas dividido pela dúzia de ovos produzidos (kg/dz), e por massa de ovos, que foi obtida pelo consumo de ração em quilogramas dividido pela massa de ovos produzida em quilogramas (kg/kg).

Variação de peso corporal

Todas as aves foram pesadas ao início e ao término do experimento, para determinação da variação de peso dos animais.

Viabilidade das aves

O total de aves mortas foi anotado diariamente e o número acumulado de aves mortas foi subtraído do número total de aves vivas, sendo os valores obtidos, convertidos em percentagem no final do experimento.

Gravidade específica dos ovos

No 16^o, 17^o, 18^o, 37^o, 38^o, 39^o, 58^o, 59^o, 60^o, 79^o, 80^o e 81^o dias do período experimental, foi avaliada a gravidade específica de todos os ovos íntegros coletados. Os ovos foram imersos em soluções de NaCl com densidade variando de 1,055 a 1,100 g/cm³, com intervalos de 0,005 g/cm³ entre elas. A densidade das soluções foi medida com o auxílio de um densímetro modelo INCOTERM – OM - 5565.

Componentes do ovo

Para avaliação dos componentes dos ovos foram analisados os pesos da gema, do albúmen e da casca em relação ao peso do ovo, durante o 19^o, 20^o, 21^o, 40^o, 41^o, 42^o, 61^o, 62^o, 63^o, 82^o, 83^o e 84^o dias experimentais, para obtenção das porcentagens dos componentes dos ovos.

Para isso, em cada dia, foram utilizados aleatoriamente quatro ovos de cada unidade experimental. Eles foram pesados individualmente em balança com precisão de 0,001 g. A gema de cada ovo foi pesada e registrada, e a respectiva casca, foi lavada e seca ao ar, para obtenção do peso da casca. O peso do albúmen foi obtido subtraindo-se, do peso do ovo, o peso da gema e o da casca.

Análises estatísticas

Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade utilizando-se o Programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 2007). Posteriormente, os efeitos dos níveis de fitase foram estimados por meio de análise das variáveis pelos modelos de regressão linear, quadrática e Linear Response Plateau, conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável e considerando o comportamento biológico das aves.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas máxima, mínima e de bulbo seco e a umidade relativa do ar verificadas diariamente durante o experimento são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de temperatura e umidade relativa do ar registradas no interior da instalação experimental.

Horário	Temperatura (°C)			UR (%)
	Máxima	Mínima	Bulbo seco	
08:00	-	-	22,1 ± 2,0	85,5 ± 10,0
16:00	27,5 ± 1,9	19,3 ± 2,1	25,5 ± 1,8	76,8 ± 8,2

Na fase adulta, a faixa de conforto térmico ou zona termoneutra das codornas está compreendida entre 18 e 22°C e, a umidade relativa do ar, está entre 65 e 70% (Oliveira, 2004). Dessa forma, conforme os valores registrados para o termômetro de bulbo seco, observa-se que em parte do período experimental, as codornas ficaram em ligeiras condições de estresse por calor.

Os resultados obtidos para consumo de ração (CR), consumo de P (CP) produção de ovos por ave dia (POAD), massa de ovos (MO), eficiência de utilização de P para MO (EUPMO), conversão alimentar por massa de ovos (CAMO), conversão alimentar por dúzia de ovos (CADZ), consumos de lisina (CLIS), de metionina + cistina (CM+C) e treonina (CTRE) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Consumo de ração (CR), produção de ovos por ave dia (POAD), massa de ovos (MO), conversão alimentar por massa de ovos (CAMO), conversão alimentar por dúzia de ovos (CADZ) Consumo de lisina (CLIS), de metionina + cistina (CM+C) e treonina (CTRE) de codornas japonesas em função dos níveis de fitase na ração.

Parâmetros	Níveis de fitase (U)				CV (%)
	0	200	400	600	
CR ^{ns} (g/ave/dia)	26,62	26,44	26,49	26,95	2,23
CP ^{ns} (mg/ave/dia)	34,61	34,37	34,44	35,03	2,32
POAD ¹ (%)	85,15	88,35	90,57	90,47	3,92
MO ² (g/ave/dia)	10,24	10,86	10,97	11,22	4,40
EUPMO ³ (mg/g)	3,38	3,17	3,14	3,12	3,89
CAMO ¹ (kg/kg)	2,591	2,437	2,408	2,416	3,80
CADZ ⁴ (kg/dz)	0,372	0,360	0,349	0,358	4,19
CLIS ^{ns} (mg/ave/dia)	284,86	282,91	283,44	288,33	2,91
CM+C ^{ns} (mg/ave/dia)	226,29	224,74	225,17	229,05	2,91
CTRE ^{ns} (mg/ave/dia)	149,89	148,86	149,14	151,71	2,91

¹LRP (P<0,01)

² Efeito linear (P<0,01)

³ Efeito Quadrático (P<0,05)

⁴LRP (P<0,05)

^{ns}Efeito não significativo (P>0,05)

Não se constatou efeito (P>0,05) da suplementação de fitase sobre o CR das aves. Este resultado foi similar aos obtidos por Boling et al. (2000), Vieira et al. (2001), Liebert et al. (2005) e Ferreira et al. (2008) que também não verificaram variação significativa no CR de galinhas poedeiras em função da suplementação de fitase. Por outro lado, diverge do encontrado por Savietto et al. (2007) que constataram efeito da suplementação de fitase sobre o consumo de ração de galinhas poedeiras. Também não foi verificado efeito (P>0,05) dos níveis de fitase sobre o CP das aves, o que se deve ao fato das rações serem isofosfóricas e o CR não ter variado em função dos níveis da enzima.

Embora a POAD tenha variado de forma linear, o modelo Linear Response Plateau – LRP, foi o que melhor se ajustou aos dados, estimando em 335 U de fitase, o nível a partir do qual ocorreu um platô, de acordo com a equação $\hat{Y} = 85,1520 + 0,016X$; $R^2 = 0,99$; $\hat{Y} = 90,5205$ (Figura 1). Em contraste com este estudo, Bess et al.

(2006) não observaram variação na produção de ovos de matrizes de frango de corte devido a suplementação de fitase.

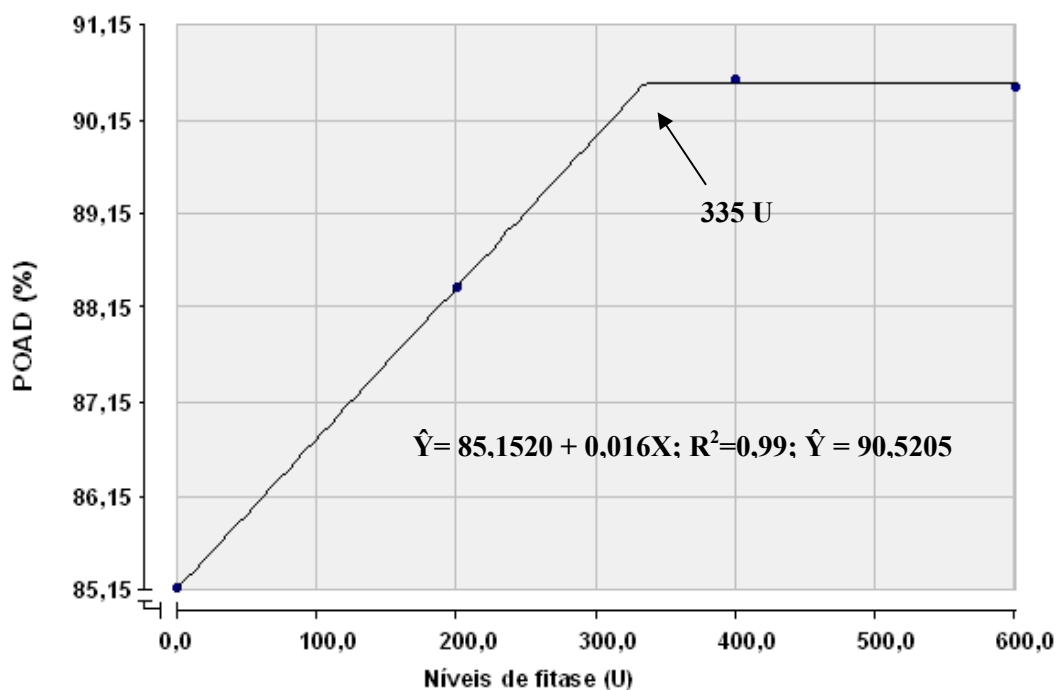


Figura 1: Produção de ovos por ave dia em função dos níveis de fitase na ração.

Foi observado aumento ($P < 0,01$) linear na MO, a medida que se elevou a concentração de fitase nas rações, de acordo com a equação $\hat{Y} = 10,3626 + 0,00153460X$; $R^2 = 0,89$ (Figura 2). Efeito semelhante da suplementação de fitase na MO, foi relatado do por Soto-Salanova & Wyatt (1997), em galinhas poedeiras. De acordo com estes autores a melhora na MO estaria relacionada ao aumento nas quantidades de albúmen e gema nos ovos. Pelos resultados obtidos, pode-se deduzir que a MO seria a variável mais sensível ao nível de P da ração.

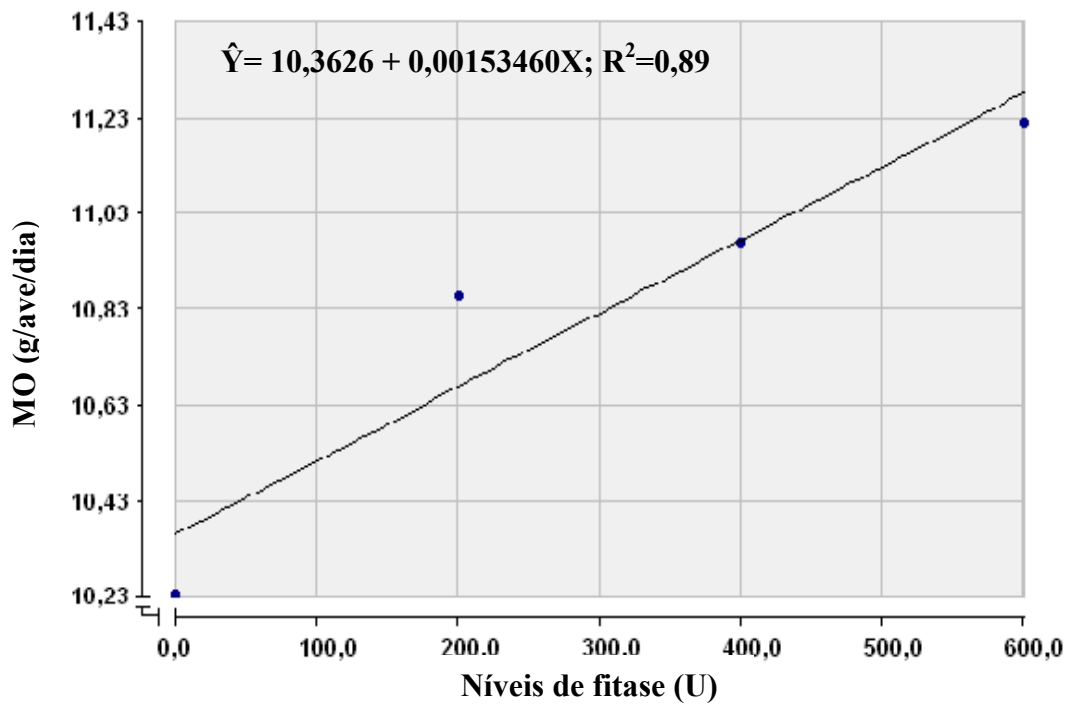


Figura2: Massa de ovos em função dos níveis de fitase na ração.

Houve efeito ($P < 0,05$) na EUPMO em função dos níveis de fitase nas rações, sendo esta variável melhorada de forma quadrática até o nível de 463 U de fitase, de acordo com a equação $\hat{Y} = 3,37943 - 1,16787 \times 10^{-3}X + 1,26127 \times 10^{-6}X^2$; $R^2 = 0,97$ (Figura 3). Como não houve efeito ($P > 0,05$) do CP em função dos níveis de fitase, observa-se que a fitase possibilitou a disponibilização do P dos ingredientes vegetais das rações, melhorando a eficiência do uso deste mineral na MO.

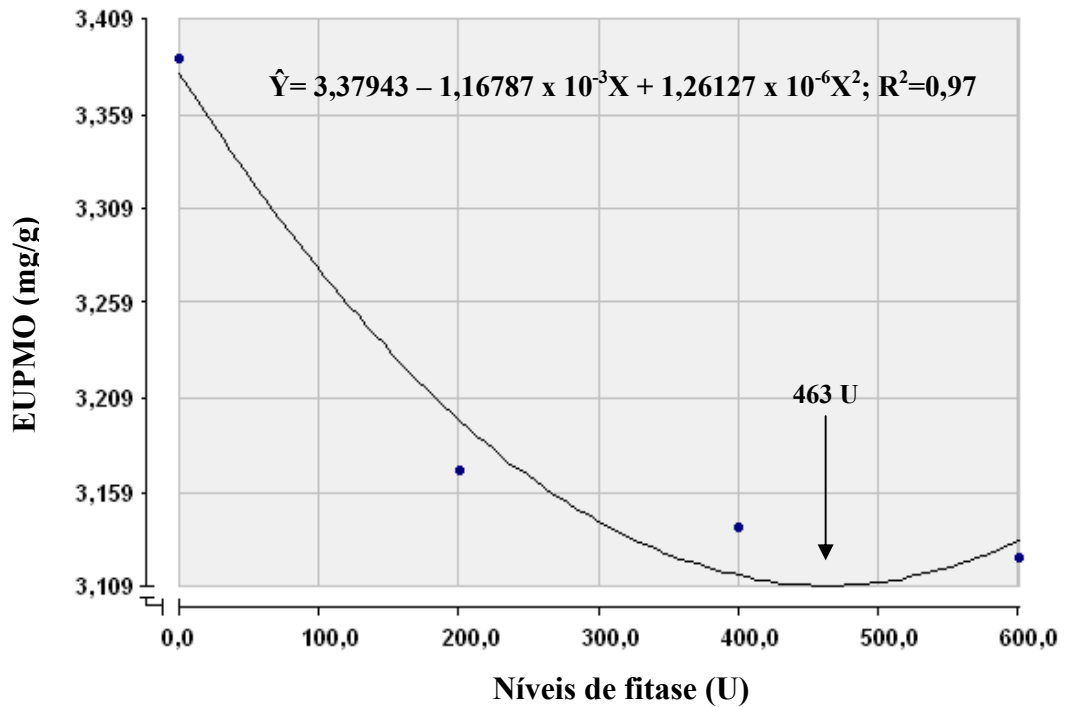


Figura 3: Eficiência de utilização de fósforo para massa de ovos em função dos níveis de fitase na ração.

A CAMO foi influenciada ($P < 0,05$) pelos níveis de fitase, tendo melhorado de forma quadrática até o nível estimado de 437 U de fitase, de acordo com a equação $\hat{Y} = 2,58669 - 8,80722 \times 10^{-4}X + 1,00664 \times 10^{-6}X^2$; $R^2 = 0,98$ (Figura: 4). Efeito positivo da fitase sobre a CAMO também foi observado por Costa et al. (2004), Savietto et al. (2007) e Silva et al. (2007) em galinhas poedeiras. De forma contrária Noebauer (2006) não verificou efeito da suplementação de fitase sobre a CAMO em galinhas de postura.

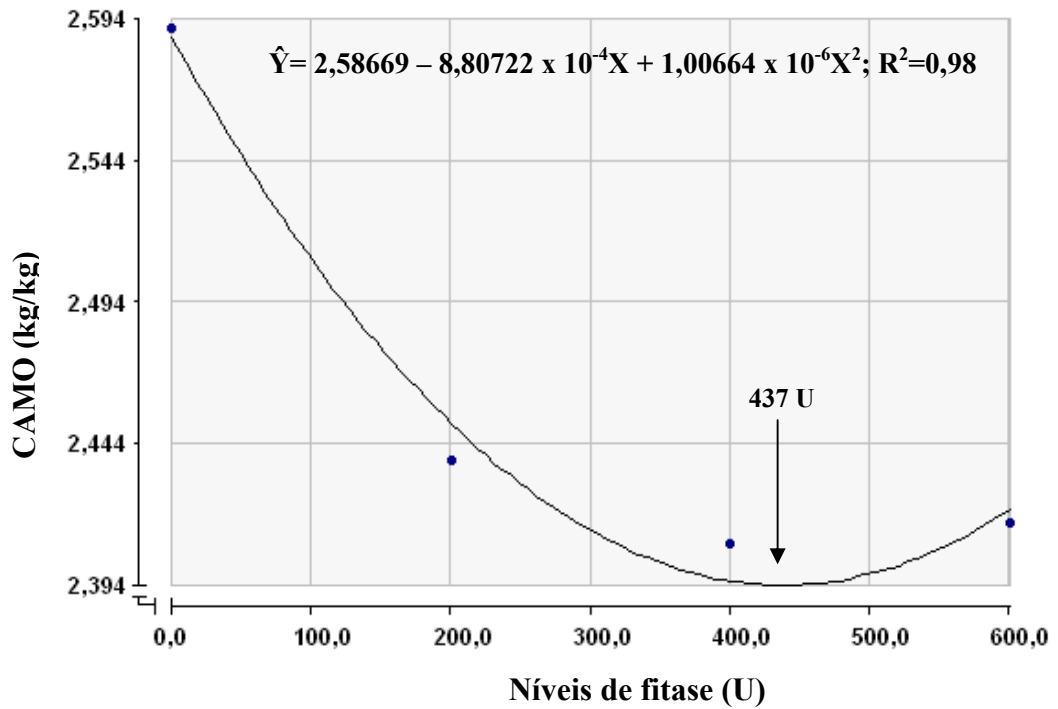


Figura 4: Conversão alimentar por massa de ovos em função dos níveis de fitase na ração.

Houve efeito ($P < 0,05$) dos níveis de fitase sobre a CADZ, que variou de forma quadrática, tendo melhorado até o nível estimado de 400 U de fitase, de acordo com a equação $\hat{Y} = 0,373508 - 1,05748 \times 10^{-3}X + 1,32335 \times 10^{-7}X^2$; $R^2 = 0,95$ (Figura 5). Como as rações foram isofosfóricas e o consumo de ração não variou entre os tratamentos, esse resultado seria um indicativo de que ocorreu melhora na eficiência de utilização do fósforo da ração para produção de ovos.

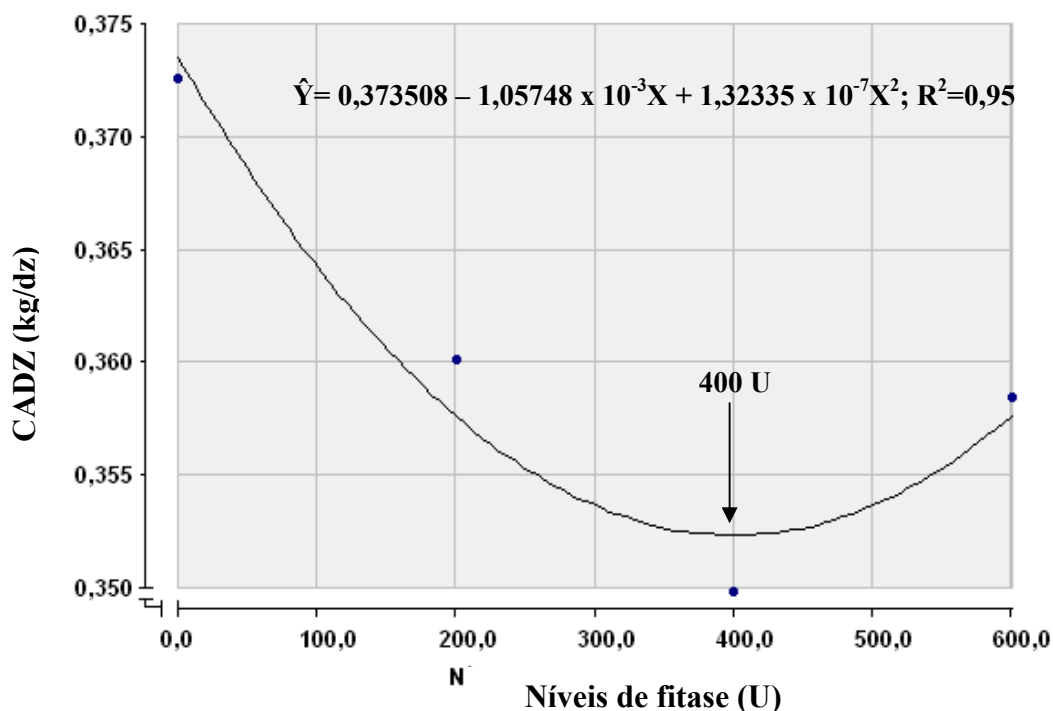


Figura 5: Conversão alimentar por dúzia de ovos em função dos níveis de fitase na ração.

O CLIS, CM+C e CTRE, não diferiram ($P > 0,05$) em função dos níveis de enzima na ração. Optou-se pela avaliação do consumo destes aminoácidos, pelo fato da matriz fítica sugerir redução nos índices de inclusão destes três aminoácidos na ração. Assim, os tratamentos tiveram a redução de 0,01% de lisina, 0,015% de metionina + cistina e 0,03% de treonina. Embora não tivesse ocorrido significância dos dados, verificou-se maior consumo dos aminoácidos para aves que receberam ração contendo o maior nível de suplementação de fitase, sendo os valores absolutos superiores de consumo de aminoácidos, relacionados ao maior consumo de ração.

Os resultados de produção de ovos por ave alojada (OAA), ovos viáveis por ave dia (OVAD), viabilidade das aves (VIAB) e variação de peso corporal (VPC) são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Ovos por ave alojada (OAA), ovos viáveis por ave dia (OVAD), viabilidade (VIAB) e variação de peso corporal (VPC) de codornas japonesas em função dos níveis de fitase na ração.

Parâmetros	Níveis de fitase (U)				CV (%)
	0	200	400	600	
OAA ^{ns} (%)	82,96	88,35	88,07	87,38	6,66
OVAD ¹ (%)	82,84	85,29	89,28	88,60	4,80
VIAB ^{ns} (%)	92,50	100,0	96,25	95,00	8,21
VPC ² (g)	4,47	4,92	5,51	2,99	-

¹LRP (P<0,05)

²Foi feita análise descritiva desse parâmetro, pois os dados não seguiram distribuição normal.

^{ns}Efeito não significativo (P>0,05)

As dietas formuladas proporcionaram, com o aumento no nível de fitase, acréscimo (P<0,05) na produção de OVAD das aves até o nível de 368 U, conforme o modelo LRP, de acordo com a equação $\hat{Y} = 82,3452 + 0,015X$; $R^2 = 0,99$; $\hat{Y} = 87,7138$ (Figura 6).

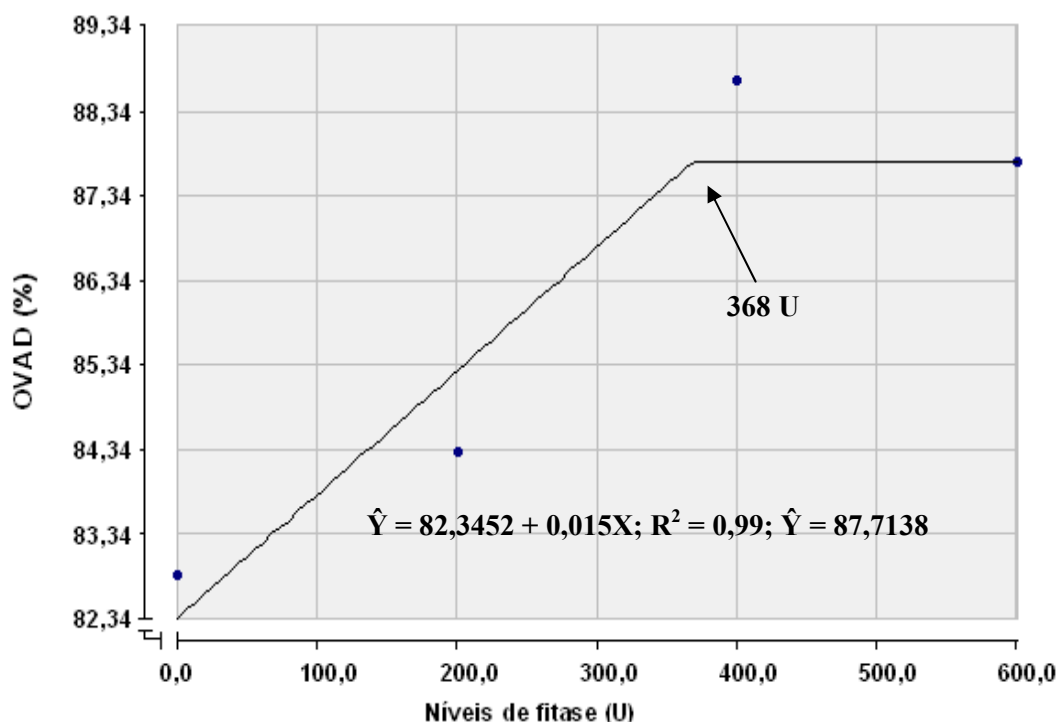


Figura 6: Produção de ovos viáveis por ave dia em função do níveis de fitase na ração

Não houve diferença ($P>0,05$) na porcentagem de OAA, VIAB e na VPC em função dos níveis de fitase na ração.

Os valores observados para qualidade dos ovos de codornas japonesas em relação aos níveis de fitase nas rações estão na Tabela 5.

Tabela 5: Peso dos ovos (PO), peso de gema (PG), peso de albúmem (PA), peso de casca (PC), porcentagem de gema (G), porcentagem de albúmem (A), porcentagem de casca (C), gravidade específica (GE) e percentual de ovos comercializáveis (OC%) de codornas japonesas em função dos níveis de fitase na ração.

Parâmetros	Níveis de fitase (U)				CV (%)
	0	200	400	600	
PO ^{ns} (g)	12,02	12,29	12,12	12,41	2,32
PG ¹ (g)	3,75	3,90	3,84	3,93	3,49
PA ^{ns} (g)	7,57	7,88	7,71	7,84	2,85
PC ^{ns} (g)	0,98	1,03	1,01	1,03	3,54
G ^{ns} (%)	30,50	30,47	30,58	30,70	2,11
A ^{ns} (%)	61,50	61,48	61,38	61,27	1,10
C ^{ns} (%)	8,00	8,05	8,04	8,03	2,33
GE ^{ns} (g/cm ³)	1,071	1,071	1,072	1,072	0,12
OC ^{ns} (%)	97,22	97,10	98,59	97,92	1,49

¹LRP ($P<0,05$)

^{ns}Efeito não significativo ($P>0,05$)

PG foi influenciado ($P<0,05$) pelos níveis de fitase das rações e, ainda que tenha ocorrido variação de forma linear, o modelo LRP, foi o que melhor se ajustou aos dados, sendo que à medida que se aumentaram os níveis da enzima, houve acréscimo no PG, até o nível de 180 U de fitase em conformidade com a equação $\hat{Y} = 3,7530 + 0,001X$; $R^2 = 0,99$; $\hat{Y} = 3,8855$ (Figura 7). Este aumento no peso de gema pode ser devido à maior disponibilização de energia metabolizável dos ingredientes das rações pela ação da fitase. Selle & Ravindran (2007) e Remus (2007) comentaram que a fitase tem se demonstrado eficiente em aumentar o valor de energia metabolizável dos alimentos. Segundo Cavalheiro et al. (1983), a menor porção de P utilizada pelas poedeiras durante o processo de formação do ovo é usada

na formação da clara e a maior porção é direcionada para a gema sob a forma de fosfolípidos e fosfoproteínas, o que também pode explicar o resultado encontrado para PG, devido a uma maior disponibilidade de P das rações proporcionada pela fitase.

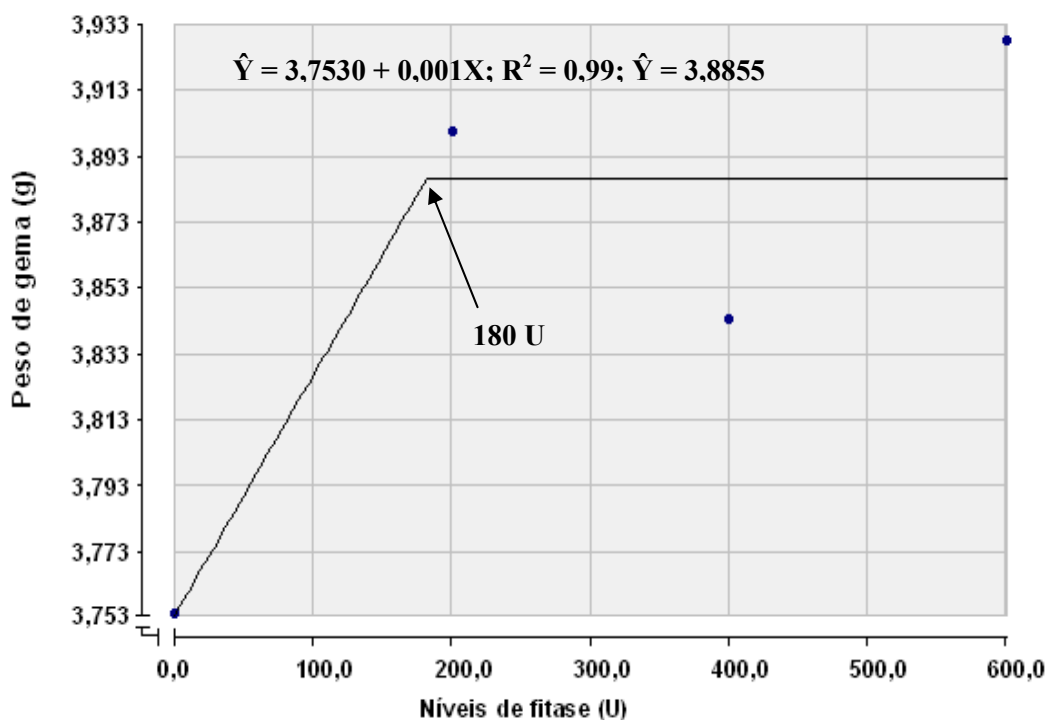


Figura 7: Peso de gema dos ovos de codornas japonesas em função dos níveis de fitase na ração.

As demais variáveis de qualidade dos ovos (peso dos ovos, peso de albúmem, peso de casca, gravidade específica, percentual de gema, de albúmem e de casca e ovos comercializáveis), não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos níveis de fitase na ração. Também, Ligeiro et al. (2007), observaram que o uso de fitase em rações de galinhas poedeiras, à exceção do PO, não afetou significativamente os demais parâmetros de qualidade dos ovos.

O resultado obtido para PO, concorda com o encontrado por Jalal & Scheideler (2001) e Punna & Roland (2001), que também não encontraram diferenças sobre o este parâmetro, com o uso de fitase na ração de galinhas poedeiras.

Bess et al. (2006), trabalhando com matrizes de frango corte, também não verificaram efeito da fitase sobre a gravidade específica. Diferentemente do obtido neste trabalho, Noebauer (2006), verificou que a gravidade específica dos ovos foi significativamente aumentada com a inclusão de fitase na dieta de galinhas poedeiras. Peter (1992) relatou que galinhas poedeiras alimentadas com ração contendo baixo nível de fósforo disponível e com suplementação de fitase apresentaram, peso de ovos significativamente mais elevados que aquelas que consumiram a mesma ração sem fitase.

Entre os parâmetros que não foram influenciados pelos níveis de fitase na dieta, pode-se observar melhora em valores absolutos, dos tratamentos contendo fitase, em relação à não utilização desta na ração. Valores inferiores para as características dos ovos foram observados com a redução nutricional da dieta sem suplementação da enzima.

Os resultados nos permitem inferir que é possível reduzir o valor nutricional da ração de codornas japonesas em postura, concomitantemente à suplementação de fitase. A utilização desta enzima na ração propiciou melhora nos índices de produção, o que indica ação da fitase na liberação de nutrientes associados aos íons fosfato presentes nos ingredientes de origem vegetal da ração. As análises indicam melhor conversão alimentar, nos níveis de 437 (CAMO) e de 400 (CADZ) U de fitase, entretanto, considerando a produção diária de ovos por ave e a produção de ovos viáveis por ave dia, os melhores níveis foram 335 e 368 U de fitase, respectivamente. Para MO o maior nível de suplementação de fitase proporcionou o melhor resultado. Entretanto em relação à eficiência do uso do P, o nível de 463 U de fitase foi o melhor para composição da MO, sendo as demais variáveis de desempenho produtivo e qualidade dos ovos, supridas com este nível, em seus níveis ideais de fitase.

4 - CONCLUSÃO

A suplementação de fitase na ração melhora o desempenho e a qualidade dos ovos de codornas japonesas, sendo o nível de 463 U de fitase o melhor nível por atender à melhor eficiência de utilização de P para massa de ovos.

CAPÍTULO 2

SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE SOBRE O APROVEITAMENTO DOS NUTRIENTES E DE ENERGIA DA RAÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA

1 – INTRODUÇÃO

O fósforo (P) fítico ocorre naturalmente em complexos orgânicos de plantas (Sebastian et al., 1997). Sua função fisiológica na semente do vegetal é servir de estoque de P e outros minerais, além da energia, que são liberados pela ação da fitase endógena da planta à medida que ocorre a germinação (Borges, 1997).

Na dieta de aves o fitato é um antinutriente cujos efeitos vão além da influência sobre a solubilidade de P, tendo capacidade de afetar a dinâmica de secreção e absorção no trato gastrintestinal (Ravindran et al., 1999).

A ingestão de ácido fítico pode influenciar negativamente a excreção de aminoácidos, energia e minerais em frangos de corte (Cowieson, 2008). O ácido fítico pode formar uma ampla variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes, tais como cálcio (Ca), zinco, cobre, cobalto, manganês, ferro e magnésio, influenciando negativamente a digestão de nutrientes, diminuindo a energia metabolizável da ração (Keshavarz, 1999).

A fitase foi inicialmente comercializada para melhorar a retenção de P da dieta. Contudo, o seu efeito extra-fosfórico está sendo cada vez mais demonstrado na literatura científica. Os resultados obtidos com o uso de fitase geraram uma série de técnicas práticas na alimentação de aves, como o uso de equivalências de P e Ca e a utilização de matrizes enzimáticas com valorização da energia metabolizável, da proteína bruta e de aminoácidos (Nagashiro, 2007).

Assim, a utilização de enzimas como a fitase, na formulação de rações para codornas japonesas, também poderia proporcionar respostas positivas na digestibilidade ou eficiência de utilização dos alimentos.

Objetivou-se no presente experimento avaliar o efeito da suplementação de fitase sobre o aproveitamento dos nutrientes e de energia da dieta de codornas japonesas em postura.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de 25 de novembro a 04 de dezembro de 2007.

Foram utilizadas 200 codornas fêmeas da sub-espécie japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) com 251 dias de idade, peso de $187,2 \pm 6,0$ g e taxa de produção de ovos de 84,8%.

As aves foram distribuídas num delineamento inteiramente ao acaso com quatro tratamentos e cinco repetições de dez aves por unidade experimental. Os tratamentos utilizados foram:

T1 - Ração basal (RB)

T2 - RB + 200 U de fitase;

T3 - RB + 400 U de fitase;

T4 - RB + 600 U de fitase.

As aves foram alojadas em gaiolas (unidade experimental) de arame galvanizado dispostas em baterias, sendo cada bateria composta por cinco gaiolas, com as dimensões de 96 x 37 x 16 cm (largura x profundidade x altura), tendo uma gaiola por andar e três divisórias (unidade experimental) por gaiola. Em cada unidade experimental, com 1.184 cm², foram alojadas 10 aves fornecendo área de 118,4cm² /ave. Sob o piso das gaiolas colocou-se uma bandeja de chapa metálica galvanizada, encapada com plástico preto, para o recolhimento das excretas. As gaiolas foram equipadas com comedouros e bebedouros do tipo calha, ambos colocados percorrendo toda a extensão da gaiola, sendo o comedouro posicionado na parte frontal e o bebedouro na parte posterior. Cada comedouro foi equipado com duas divisórias em madeira, coincidindo com a largura de cada unidade experimental.

As baterias foram instaladas em sala, cujo ambiente foi monitorado duas vezes ao dia (8 e 16h), por termômetros de máxima e mínima e de bulbo seco e bulbo úmido.

Como programa de iluminação foi adotado um fotoperíodo artificial de 17 horas.

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, conforme as exigências nutricionais das aves preconizadas no NRC (1994), exceto para as exigências de lisina e de metionina + cistina, de treonina e a de triptofano digestíveis, em que foram utilizadas as determinadas por Pinto et al. (2003), Umigi et al. (2008) e Pinheiro et al. (2008), respectivamente; a de cálcio, determinada por Pereira (2004), a de P disponível determinada por Costa (2006) e a de energia metabolizável determinada por Moura (2007), mantendo a mesma relação entre energia metabolizável e nutrientes. A partir das exigências nutricionais foi formulada a ração basal com reduções de 0,36% de proteína bruta; 0,115% de cálcio; 45 kcal de energia metabolizável; 0,01% de lisina; 0,015% de aminoácidos sulfurados, 0,03% de treonina e adotando-se um nível de 0,13% de P disponível, correspondente a 43% da exigência deste mineral. Os níveis de redução foram baseados na matriz nutricional da fitase para galinhas poedeiras. A composição química e os valores nutricionais dos ingredientes utilizados para a formulação das rações foram os recomendados por Rostagno et al. (2005).

As rações foram fornecidas à vontade, sendo o arraçamento feito duas vezes ao dia, às 8:00 e às 16:00 horas, e a água foi fornecida à vontade durante todo o período experimental.

Tabela 1 - Composição percentual e calculada das rações experimentais, na base da matéria natural

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Milho moído	61,270	61,270	61,270	61,270
Farelo de soja (45,0%)	30,000	30,000	30,000	30,000
Calcário	7,410	7,410	7,410	7,410
Fosfato bicálcico	0,150	0,150	0,150	0,150
Sal comum	0,320	0,320	0,320	0,320
Mistura mineral ¹	0,050	0,050	0,050	0,050
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
DL-Metionina (98,2%)	0,270	0,270	0,270	0,270
L-Lisina HCl (78,8%)	0,220	0,220	0,220	0,220
Antioxidante ³	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto de colina (60,0%)	0,100	0,100	0,100	0,100
Amido	0,100	0,092	0,084	0,076
Fitase	0,000	0,008	0,016	0,024
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição Calculada				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2755	2755	2755	2755
Proteína bruta (%)	18,95	18,95	18,95	18,95
Lisina digestível (%)	1,070	1,070	1,070	1,070
Metionina+Cistina digestível (%)	0,854	0,854	0,854	0,854
Triptofano digestível (%)	0,226	0,226	0,226	0,226
Treonina digestível (%)	0,563	0,563	0,563	0,563
Cálcio (%)	2,980	2,980	2,980	2,980
Fósforo disponível (%)	0,130	0,130	0,130	0,130
Sódio (%)	0,145	0,145	0,145	0,145
Fibra bruta (%)	2,690	2,690	2,690	2,690

¹ Composição/kg de produto: Manganês: 160g, Ferro: 100g, Zinco: 100g, Cobre: 20g, Cobalto: 2g, Iodo: 2g, excipiente q.s.p.: 1000 g.

² Composição/kg de produto: Vit. A:12.000.000 U.I., Vit D₃:3.600.000 U.I., Vit. E: 3.500 U.I., Vit B₁:2.500 mg, Vit B₂: 8.000 mg, Vit B₆:5.000 mg, Ácido pantotênico: 12.000 mg, Biotina: 200 mg, Vit. K: 3.000 mg, Ácido fólico: 1.500mg, Ácido nicotínico: 40.000 mg, Vit. B₁₂: 20.000mg, Selênio: 150 mg, Veículo q.s.p.: 1.000g.

³ Butil-hidróxi-tolueno.

O período experimental foi de 10 dias, sendo cinco dias para adaptação dos animais às baterias e cinco dias para coleta de excretas.

No período de 255 a 260 dias de idade das codornas, foi feita a coleta total de excreta para posteriormente determinar os valores de energia metabolizável das rações.

As coletas de excretas foram feitas duas vezes ao dia com intervalos de 12 horas entre cada coleta. Para evitar contaminações e perda de amostra experimental as bandejas foram revestidas com plástico, colocadas sob o piso de cada unidade experimental.

As excretas coletadas foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificadas, pesadas e armazenadas em freezer até o final do período de coleta.

As excretas coletadas foram acondicionadas em bandejas plásticas devidamente identificadas, pesadas e, posteriormente homogeneizadas e retiradas alíquotas, que foram colocadas em estufa de circulação de ar a temperatura de 60°C por 72 horas para a pré-secagem. Posteriormente foram realizadas as análises de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, fósforo e cálcio. Todas as análises foram realizadas em duplicatas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV, segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Ao término do experimento, foi determinada a quantidade de ração consumida por unidade experimental, durante os cinco dias de coleta.

Uma vez obtidos os resultados de análises laboratoriais das rações e excretas, foram calculados os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pela retenção de nitrogênio (EMAn), utilizando-se as equações propostas por Matterson et al. (1965). Calculo-se ainda, o coeficiente de metabolizabilidade da energia metabolizável aparente (CMEMA) e coeficiente de metabolizabilidade da energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (CMEMAn), sendo estes coeficientes calculados pela razão da EMA e EMAn pela energia bruta, com os valores expressos em porcentagem. Foi calculada também a quantidade de fósforo, cálcio e nitrogênio retido por ave dia.

Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade utilizando-se o Programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 2007). Posteriormente, os efeitos dos níveis de fitase foram estimados por meio de análise das variáveis pelos modelos de regressão linear, quadrática e Linear Response Plateau, conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável e considerando o comportamento biológico das aves.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas máxima, mínima e de bulbo seco e a umidade relativa do ar verificadas diariamente durante o experimento são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de temperatura e umidade relativa do ar registradas no interior da instalação experimental.

Horário	Temperatura (°C)			UR (%)
	Máxima	Mínima	Bulbo seco	
08:00	-	-	22,4 ± 1,4	86,8 ± 4,2
16:00	27,5 ± 0,9	20,2 ± 0,8	25,7 ± 1,3	81,7 ± 5,0

Na fase adulta, a faixa de conforto térmico ou zona termoneutra das codornas está compreendida entre 18 e 22°C e, a umidade relativa do ar, está entre 65 e 70% (Oliveira, 2004). Dessa forma, conforme os valores registrados para o termômetro de bulbo seco, observa-se que em parte do período experimental, as codornas ficaram em ligeiras condições de estresse por calor.

Os resultados obtidos para matéria seca ingerida (MSI), matéria seca excretada (MSE), energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida pela retenção de nitrogênio (EMAn) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Matéria seca ingerida (MSI), matéria seca excretada (MSE), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço nitrogênio (EMAn), determinados com codornas japonesas em postura, de acordo com níveis de fitase na dieta.

Parâmetros	Tratamentos				CV (%)
	T1	T2	T3	T4	
MSI ^{ns} (g/ave/dia)	23,0	21,0	22,0	22,0	6,26
MSE ^{ns} (g/ave/dia)	6,3	5,9	6,1	6,0	7,38
EMA ¹ (kcal/kg MS)	3065	3252	3227	3260	6,30
EMAn ¹ (kcal/kg MS)	2971	3101	3076	3090	5,22

¹LRP (P<0,05)

^{ns}Efeito não significativo (P>0,05)

Os níveis de fitase na ração não influenciaram ($P>0,05$) a ingestão (MSI) e excreção de matéria seca (MSE) pelas codornas. Este resultado está coerente com o obtido no experimento de desempenho produtivo (Capítulo I), onde os níveis de fitase não influenciaram a ingestão voluntária de ração pelas codornas.

Houve efeito ($P<0,05$) dos níveis de fitase sobre os valores de EMA (Figura 8) e EMAn (Figura 9) das rações, que aumentaram até os níveis respectivos de 195 e 186 U de fitase, a partir dos quais os dados permaneceram num platô, estimado pelo modelo Linear Response Plateau – LRP, conforme demonstrado nas equações: EMA – $\hat{Y} = 3065,675 + 1,615X$; $R^2 = 0,99$; $\hat{Y} = 3243,9043$ e EMAn – $\hat{Y} = 2971,1321 + 1,303X$; $R^2 = 0,99$; $\hat{Y} = 3083,8984$. Este resultado concorda com Remus (2007). Segundo este autor, a fitase tem se demonstrado eficiente em aumentar o valor de energia metabolizável dos ingredientes das rações.

Dourado et al. (2007) verificaram com a utilização de fitase e outras enzimas em galos, que a fitase foi a que proporcionou o maior incremento na energia metabolizável verdadeira corrigida pelo balanço de N (EMVn) do milho. Foi observada uma melhora de 95 kcal/kg na EMVn com a adição de fitase.

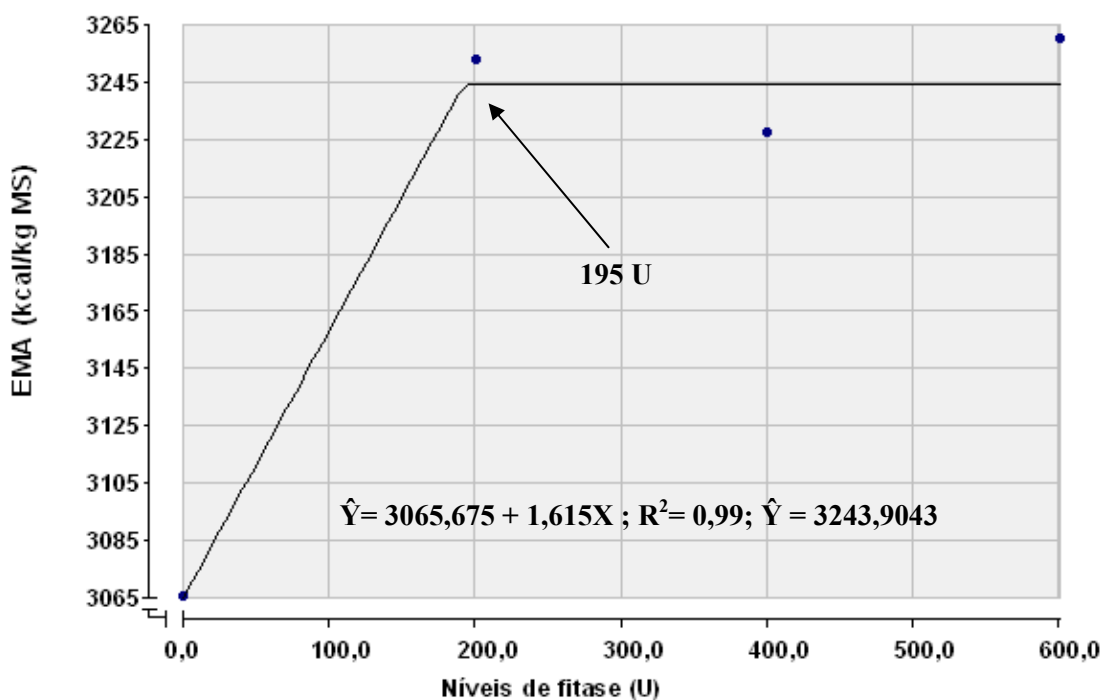


Figura 8: Energia metabolizável aparente em função dos níveis de fitase na ração.

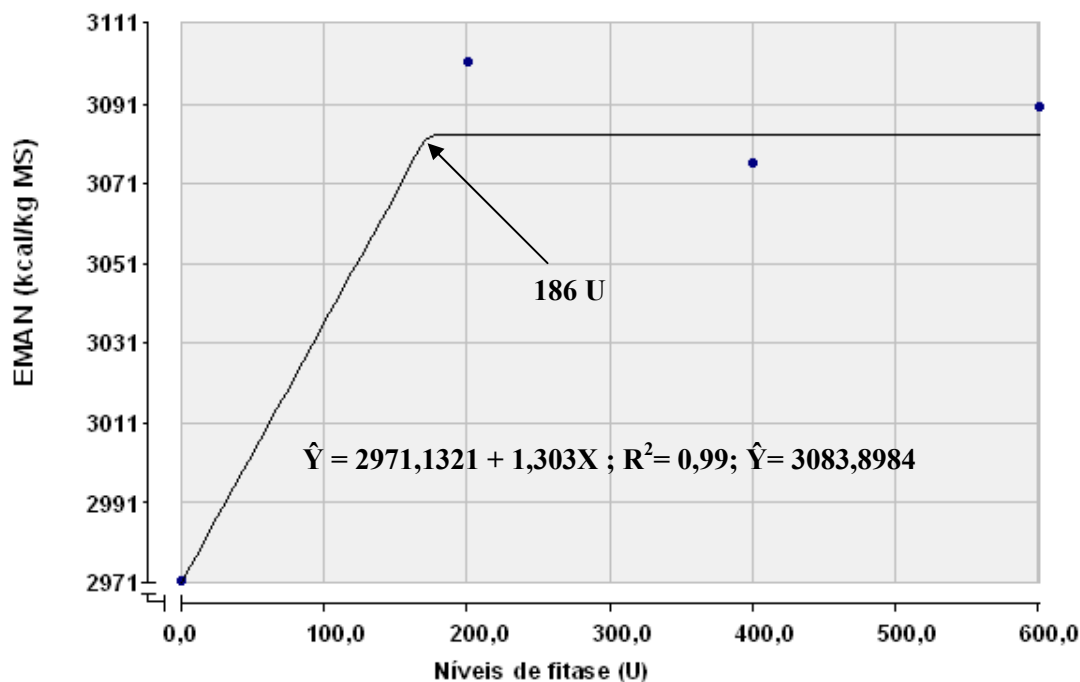


Figura 9: Energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio em função dos níveis de fitase na ração.

Os mecanismos que descrevem os efeitos da enzima sobre a utilização de energia são desconhecidos. No entanto, sabe-se que a melhora na digestibilidade das proteínas é, em parte, responsável pelo aumento da energia disponível. A fitase promove aumento na utilização de energia, independentemente dos efeitos sobre a digestão de aminoácidos. Isto possivelmente ocorre devido os minerais complexados com o ácido fítico formarem, no trato digestório, juntamente com os lipídeos, reações de saponificação, prejudicando a utilização de lipídeos (Ravindran et al., 2000). A enzima fitase age liberando o complexo fitato-mineral e impedindo tais reações, o que possibilita melhor utilização da energia derivada dos lipídeos.

Na Tabela 4 são apresentados os valores encontrados para o coeficiente de metabolizabilidade da energia metabolizável aparente (CMEMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (CMEMAN), nitrogênio retido (NRET), nitrogênio excretado (NEXC) e cálcio retido (CARET).

Tabela 4– Coeficiente de metabolizabilidade da energia metabolizável aparente (CMEMA), energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (CMEMAn), nitrogênio retido (NRET), nitrogênio excretado (NEXC) e cálcio retido (CARET) determinados com codornas japonesas em postura de acordo com níveis de fitase na ração.

Parâmetros	Níveis de fitase (U)				CV (%)
	0	200	400	600	
CMEMA ^{ns} (%)	81,86	86,80	86,19	87,06	3,80
CMEMAn ^{ns} (%)	79,35	82,83	82,15	82,53	3,57
NRET ¹ g/ave/dia)	0,215	0,236	0,256	0,253	9,62
NEXC ² g/ave/dia)	0,554	0,496	0,496	0,490	8,31
CARET ^{ns} (g/ave/dia)	0,328	0,324	0,346	0,324	8,82

¹ LRP (P<0,01)

² Efeito linear (P<0,05)

^{ns}Efeito não significativo (P>0,05)

Não foi observado efeito (P>0,05) para CMEMA e CMEMAn, CARET, contudo, em termos absolutos pode-se observar melhora nestes coeficientes com o aumento nos níveis de suplementação de fitase. Albino et al. (2008) observaram que a adição de fitase proporcionou aumento no CMEMA e CMEMAn, sendo análogo aos valores obtidos para as galinhas poedeiras alimentadas com ração sem redução da inclusão de P.

Foi constatado efeito (P<0,01) sobre o NRET até o nível de 368 U de fitase, estimado pelo LRP, em conformidade com a equação $\hat{Y} = 0,2152 + 0,0001X$; $R^2=0,99$; $\hat{Y} = 0,2530$ (Figura 10). Para o NEXC (Figura 11) houve redução linear (P<0,05) segundo a equação $\hat{Y}= 0,538107 - 0,0000954206 (R^2= 0,68)$. Este resultado está de acordo com o encontrado por Lora et al. (2008) que constataram aumento na retenção e diminuição na excreção de nitrogênio com a utilização de fitase nas rações de frango de corte. Entretanto, Ligeiro et al. (2007) observaram ausência de efeito dos níveis de fitase para a excreção e retenção de N em galinhas poedeiras.

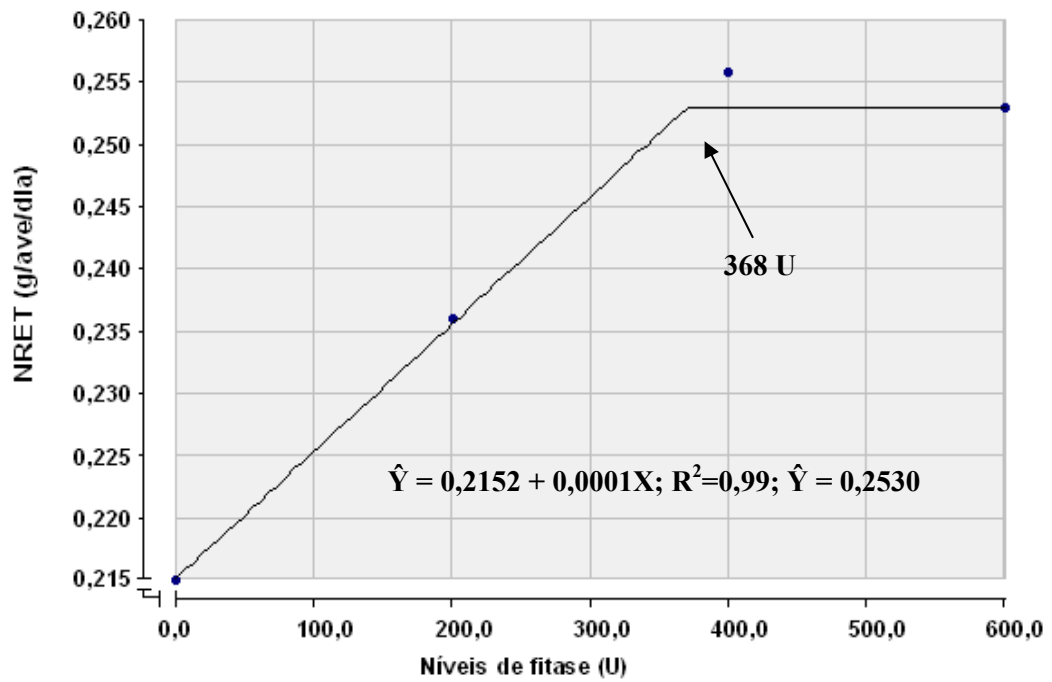


Figura 10: Nitrogênio retido em função dos níveis de fitase na ração.

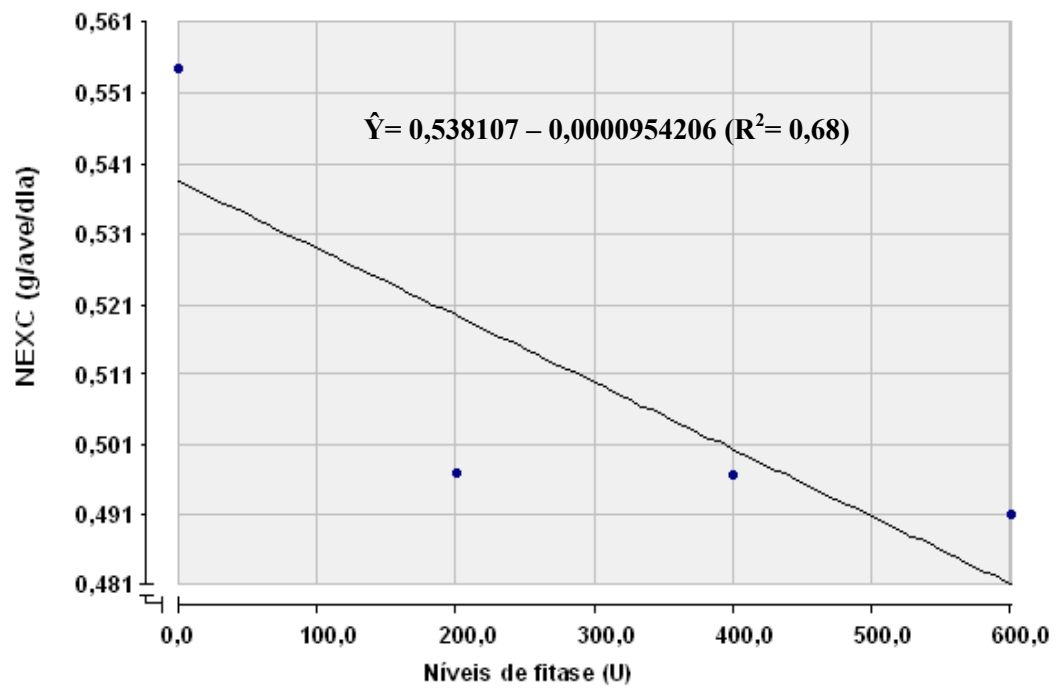


Figura 11: Nitrogênio excretado em função dos níveis de fitase na ração.

Estudos recentes esclareceram os mecanismos pelos quais a fitase influencia a digestibilidade aparente de aminoácidos, energia e minerais e acredita-se que grande parte destas melhorias, especialmente os efeitos sobre a proteína, esteja relacionada à redução dos efeitos do fitato sobre as perdas endógenas de aminoácidos (Cowieson, 2008).

O fitato pode comprometer a absorção intestinal de aminoácidos dietéticos e endógenos por interferir com sistemas de transporte dependentes de sódio (Na) (Glyn, 1993). Pesquisas de Selle et al. (2007) e Ravindran et al. (2008) sustentam a proposta de que o fitato impede a absorção intestinal de aminoácidos, o que pode estar relacionado à depleção de Na.

As cargas negativas da molécula de ácido fítico reagem com as cargas positivas de alguns aminoácidos, tais como lisina, arginina, histidina, das moléculas de proteínas, incluindo as enzimas envolvidas na digestão de proteínas, diminuindo a disponibilidade dos aminoácidos (Cowieson et al., 2006; Ravindran et al., 1999; Kornegay et al., 1996; Ravindran & Bryden, 1999).

Os valores observados para P ingerido (PING), P excretado (PEXC), P retido (PRET) e percentual de PRET (PRET%) são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – P ingerido (PING), P excretado (PEXC), P retido (PRET) e percentual de PRET (PRET%) determinados com codornas japonesas em postura, de acordo com níveis de fitase na ração.

Parâmetros	Níveis de fitase (U)				CV (%)
	0	200	400	600	
PING ^{ns} (mg/ave/dia)	87,46	83,19	85,89	85,12	5,66
PEXC ^{ns} (mg/ave/dia)	55,42	55,75	56,11	53,16	8,35
PRET ^{ns} (mg/ave/dia)	32,04	28,44	29,78	31,96	7,37
PRET ^{ns} % (%)	36,83	37,37	35,25	37,22	6,37

^{ns}Efeito não significativo (P>0,05)

Não foi verificado efeito (P>0,05) dos níveis de fitase para PING, PEXC, PRET e PRET%. Entretanto, pesquisadores têm observado redução na excreção de P com o uso de fitase nas rações (Casartelli et al., 2005; Yu et al., 2004), contudo, esta

redução se deve principalmente à diminuição do uso de P inorgânico na dieta. Diferentemente do observado na presente pesquisa, Fukayama et al. (2008) constataram que a suplementação de fitase melhorou a digestibilidade do P e promoveu aumento linear no aproveitamento de P em rações de frango de corte.

O excesso de Ca de alta solubilidade intestinal resulta em redução de absorção de P, devido a formação de fosfatos insolúveis no intestino delgado. Sempre irá existir um nível ideal de Ca para que se tenha máxima absorção de P. Por isso é que são encontrados valores discrepantes de taxa de absorção ou mesmo biodisponibilidade de fontes de P na literatura, devido aos fatores relacionados ao Ca, principalmente no que se refere ao nível e solubilidade (Bertechini, 2006).

Alguns trabalhos indicam que níveis elevados de cálcio na ração reduzem a absorção de Ca, P, Zn e Mn, mesmo com a adição de fitase na dieta e com o baixo teor de P; assim, além da redução da suplementação de P inorgânico nas rações, há também necessidade de reduzir a suplementação de Ca (Fukayama et al., 2008).

A relação Ca:P é importante na dieta de galinhas poedeiras e de codornas. Como a fitase também disponibiliza o Ca da dieta, elevados níveis de Ca poderiam comprometer a ação da fitase.

Entre os efeitos da fitase sobre o aproveitamento dos nutrientes e da energia da ração, foi demonstrado que os níveis de 195 e 186 U de fitase são os mais indicados para maiores valores de EMA e EMAn. O nível de 600 U de fitase é o que proporciona menor excreção de nitrogênio, entretanto, 368 U de fitase é suficiente para máxima retenção de nitrogênio pelas codornas.

4 - CONCLUSÃO

A suplementação de fitase melhora o aproveitamento da energia e a retenção de nitrogênio da ração de codornas japonesas em postura, com conseqüente redução do teor de nitrogênio das excretas. O nível de 368 U de fitase é indicado devido à máxima retenção de nitrogênio das rações.

5 - CONCLUSÕES GERAIS

A suplementação de fitase na ração melhora o desempenho, a qualidade dos ovos, o aproveitamento da energia e a retenção de nitrogênio da ração de codornas japonesas em postura, com conseqüente redução do teor de nitrogênio das excretas. O nível de 368 U de fitase é indicado devido à máxima retenção de nitrogênio das rações. A relação Ca:P é importante na dieta de codornas, assim, elevados níveis de Ca poderiam comprometer a ação da enzima sobre o P associado ao fitato nos ingredientes das rações. Em relação à eficiência de uso do P, o nível de 463 U de fitase foi o melhor para composição da MO, sendo as demais variáveis de qualidade dos ovos e desempenho produtivo, supridas com este nível, em seus níveis ideais de fitase.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBINO, L.F.T.; VIANA, M.T.S.; ROSTAGNO, H.S. et al. Efeito da suplementação da enzima fitase sobre o metabolismo de poedeiras. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 10, pag. 152, 2008.
- ANDRIGUETTO J. M. **Nutrição Animal**. 4.ed. São Paulo: Nobel, 1990. 396 p.
- ASSUENA, V.; JUNQUEIRA, O.M.; DUARTE, K.F. et al. Viabilidade econômica do uso de fitase em rações para frangos de corte e avaliação dos teores de fósforo e nitrogênio na excreta. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 10, pag. 78, 2008.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 301p.
- BESS, F.; ROSA, A. P.; KRABBE, E. L. Efeito da adição de fitase sobre a percentagem de postura e densidade de ovos em matrizes de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 8, pag. 106, 2006.
- BITAR, K.; REINHOLD, J.G. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf and human. **Biochemistry and biophysiology**, acta.v. 268, p. 442-452, 1972.
- BOLING, S. D. DOUGLAS, M. W. JOHNSON, M. L. et al. The Effects of Dietary Available Phosphorus Levels and Phytase on Performance of Young and Older Laying Hens **Poultry Science** ; v.79 : p.535-538. 2000.
- BORGES, F.M.O. Utilização de enzimas em dietas avícolas, **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**, n.20, p. 5-30, 1997.
- BORRMANN, M. S. Efeitos da adição de fitase com diferentes níveis de fósforo disponível em dietas de poedeiras de segundo ciclo. **Ciências Agrotécnicas. Lavras**. v. 25, n. 1, p.181-187. 2001.
- BROZ, J.; BEARDSWORTH, P. Recent trends and future developments in the use of feed enzymes in poultry nutrition. En Poultry Feedstuff: supply, composition, and nutritive value. In: McNAB, J.; BOORMAN, N. **Poultry Science Symposium Series**. v. 26. CABI Publishing. 2002. p. 345-361.
- CAVALHEIRO, A.C.L.; TRINDADE, D.S.; OLIVEIRA, S.C. et al. Níveis de fósforo em rações para poedeiras. **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas “Francisco Osório”**, v.10, p.7-16, 1983.
- CHERRY, J. R.; FIDANTSEF, A.L.; Directed evolution of industrial enzymes: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p.438–443, 2003.
- CHOCT, M.; Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World’s Poultry Science Journal**. v. 62, p. 5-15. 2006.
- CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technology**. v.62, p. 21-27. 1996.
- CONTE, J.A. **Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte, suplementadas com fitase e xilanase**. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2000. 164p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2000.

- COSGROVE, D.J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. **Pure and Applied Chemistry**, v.16, p.209-224, 1966.
- COSTA, C. H. R. BARRETO, S. L.T. MOURA, W.C.O. et al. Níveis de fósforo e cálcio em dietas para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.2037-2046, 2007.
- COSTA, F.G.P; JACOME, I.M.T; DA SILVA, J.H.V. Níveis de fosforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira** v.5, p.73-81, 2004.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**. v.85, n.5,p.878-85, 2006.
- COWIESON, A.J.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Uso de fitase e suas implicações na digestão e absorção de nutrientes. In: CONFERÊNCIA APINCO 2008 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2008, Santos. **Anais...** Santos, São Paulo: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2008. p.279-290.
- DOURADO, L.R.B.; SAKOMURA, N.K.; NASCIMENTO, D.C.M. Efeito de enzimas exógenas na disponibilidade da energia metabolizável verdadeira do milho e do farelo de soja. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 9, pag. 126, 2007.
- ENGELN, A.J; HEEFT, F.C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v.77, p.760-764, May/June 1994.
- FERREIRA, L.G.; GERALDO, A.; MOREIRA, J.N. et al. Avaliação da suplementação de fitase em rações para poedeiras semipesadas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 10, pag. 155, 2008.
- FRY, R. M.; ALLRED, J. B.; JENSEN, L. S. E MCGENNIS, J. Influence of enzyme supplementation and water treatment on the nutritional value of different grains of poultry. **Poultry Science**, v.37, p.372-376, 1958.
- FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO, L.R.B. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.629-635, 2008.
- GLYNN, I.M. All hands to the sodium pump. *Journal Physiology*. v.462, p.1-30. 1993.
- GONZÁLEZ, F.H.D. e SILVA, S.C.. **Introdução à bioquímica clínica animal**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2003.
- HARLAND B.F. MORRIS E.R. Phytate: A good or a bad food component? **Nutrition Research**. v.15, p. 733-754, 1995.
- HUISMAN, M.M.H. Antinutritional factors in poultry feeds and their management. In: preliminary proceedings of the 8TH EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION. **Anais...** p. 35-52. 1991.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Agropecuária Municipal (PPM). Disponível em: < www.ibge.gov.br > Acessado em 23 de fevereiro de 2008.

- JALAL, M. A; SCHEIDELER S.E. Effect of Supplementation of Two Different Sources of Phytase on Egg Production Parameters in Laying Hens and Nutrient Digestibility. **Poultry Science**, v.80, p.1463-1471, 2001.
- KESHAVARZ, K. por que “Es necesario emplear la fitasa em la dieta de lãs ponedoras? **Industria Avícola**, v.46, p.13-14, 1999.
- KONERGAY, E.T.; DENBOW, D.M.; YI, Z.; RAVIDRAN, V. Response of broilers to graded levels of microbial Phytase added to maize-soybean-meal based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. **British journal of Nutrition**, v. 75, p. 839-852, 1996.
- KRISTENSEN MB.; HELS O.; MORBERG CM. et al. ; Total zinc absorption in young women, but not fractional zinc absorption, differs between vegetarian and meat-based diets with equal phytic acid content. **British journal of Nutrition** v.95, p.963-7, 2006.
- LAN, G.Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. et al. Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v.81, p.1522-1532, 2002.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M. ; FILARDI, R.S. et al. Efeito da adiçãõ da enzima fitase em rações para frangos de corte com reduçãõ dos nívéis de fósforo nas diferentes fases de criaçãõ. **Ciência Animal Brasileira**. v.8, p.207-216, 2007.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; CASARTELLI, E.M. et al. Efeito da fitase em dietas com diferentes nívéis de fósforo sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 7, pag. 89, 2005.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; MARQUES, R.H. et al. Composiçãõ do fígado e da tibia de frangos de corte alimentados com dietas contendo fitase e nívéis reduzidos de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 7, pag. 92, 2005.
- LECZNIESKI, J.L. Considerações práticas do uso de enzimas. V Seminário Internacional de Aves e Suínos – AveSui 2006. **Anais...** p. 34-46. 2006.
- LEI, X.G.; KU P.K.; MILLER, E.R. et al. Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs. **Journal Nutrition**. v.123,p.1117-1123,1993.
- LIEBERT, F.; HTOO, J.K.; SÜNDER, A. Performance and nutrient utilization of laying hens fed low-phosphorus corn-soybean and wheat soybean diets supplemented with microbial phytase. **Poultry Science**, v.84, p.1576-1583, 2005.
- LIGEIRO, E.C.; JUNQUEIRA, O.M.; CASARTELLI, E.M. Avaliaçãõ da matriz fítica sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo sorgo. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 9, pag. 46, 2007.
- LORA, A. G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Efeito da fitase sobre a excreçãõ e a retençãõ de fósforo e de nitrogênio em frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 10, pag. 46, 2008.
- LOTT, J.N.A.; OCKENDEN,I.; RABOY, et al. Phytic acid and phosphorus in crop seed and fruits: a global estimate. **Seed Science Research**. v. 10, p.11-33. 2000.

- 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.
- MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, M.W. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station, 1965. 11 p. (Research Report, 7)
- MAYNARD, L. A.; LOOSLY, J.K.; HINTZ, H.F. **Nutrição Animal**. 3 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 736 p.
- MOURA, G.S. ; BARRETO, S.L.T.; SILVA, L. P. Redução da densidade energética mantendo constante a relação energia metabolizável: Nutrientes em dietas para codorna japonesa. III Simpósio internacional II Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais...** Lavras. p. 167. 2007.
- NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2007 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2007, Santos. **Anais...** Santos, São Paulo: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007. p.309-327.
- NAHASHON, S. N. NAKAUE, H S. MIROSH, L.W. Phytase activity, phosphorus and calcium retention, and performance of single comb White Leghorn layers fed diets containing two levels of available phosphorus and supplemented with direct-fed microbials. **Poultry Science**, v.73, p.1552-1562. 1994.
- NATIONAL RESERCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry**. Washington: National Academy of Sciences, 9^a ed. 1994. 155 p.
- NELSON, T.S; SHIEH, T.R; WODZINSKI, R.J. et al. The Availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with mold Phytase. **Poultry Science**, v.47, p.1842-1848, 1968.
- NOEBAUER, M.R. **Efeitos das diferentes relações cálcio:fósforo disponível e fitase sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos e tecido ósseo de poedeiras de ovos de casca marrom**. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria. 2006. 50 p.
- OH B.C., CHOI, W.C., PARK, S., et al. ; T.K. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.63, p.362–372, 2004.
- OLIVEIRA, B. L. Importância do manejo na produção de ovos de codornas. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA, 2004. Lavras, **Anais...** Lavras, Minas Gerais: Núcleo de Estudos em Ciência e Tecnologia Avícolas, 2004. p.91-96.
- OLIVEIRA, B. L. Manejo em granjas automatizadas de codornas de postura comercial. In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA, 2007. Lavras, **Anais...** Lavras, Minas Gerais: Núcleo de Estudos em Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007. p.11-16.
- PANDEY, A.; SZAKACS, G.; SOCCOL, C.R. et al. Production purification and properties of microbial phytases. **Bioresource technology**, v.77, p.203–214. 2001.
- PATWARDHAN, V.N. The occurrence of phytin splitting enzyme in the intestine of albino rats. **Biochemistry Journal**, v. 31, p. 560-564, 1937.

- PEREIRA, C.A. **Exigência nutricional de cálcio para codornas japonesas durante o pico de postura.** Viçosa, MG, UFV. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004. 60p.
- PERNEY, K. M.; CANTOR, A.H.; STRAW, M. L. et al. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. **Poultry Science**, v.72, p.2106-2114,1993.
- PETER, W. Investigations on the use of phytate in the feeding of laying hens. In: WORDL'S POULTRY CONGRESS, 19, 1992. Amsterdam. **Proceedings ...** Amsterdam: BASF, p.672, 1992.
- PINHEIRO, S.R.F.; BARRETO, S.L.T.; ALBINO, L.F.T. et al. Efeito dos níveis de triptofano digestível em dietas para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1012-1016, 2008.
- PINTO, R. **Exigências nutricionais de metionina + cistina e lisina para codornas japonesas na fase de recria e postura.** Viçosa, MG: UFV. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 90p.
- PINTO, R.; DONZELE, J.L.; FERREIRA, A.S. et al. Exigência de metionina mais cistina para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1166-1173, 2003.
- PIZZOLANTE, C.C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte.** 2000. 117f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.
- PUNNA, S. ROLAND, D.A. Influence of Supplemental Microbial Phytase on First Cycle Laying Hens Fed Phosphorus-Deficient Diets From Day One of Age. **Poultry Science** 78:1407-1411, 2001.
- RAPOPORT, S.; LEVA, E.; GUEST, G. M. Phytase in plasma and erythrocytes of vertebrates. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 139, p. 621-632, 1941.
- RAVINDRAN V; BRYDEN WL. Amino acid availability in poultry—in vitro and in vivo measurements **Aust. J. Agric. Res.** v.50, p.889-908,1999.
- RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; et al.; Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**, 78. p. 699-706, 1999.
- RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H. ; BRYDEN, W.L. Response of broilers to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on nutrient digestibility and retention. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 41, n. 2, p. 193-200, May 2000.
- RAVINDRAN, V; BRYDEN W.L; AND 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. **AveWorld**. n 29. p 56-62. 2007.
- ROLAND D.A; GORDON R. Metabolism and role of phosphorus, calcium and vitamin D3 in layer nutrition, **Poultry Science Department**, Album University, Alabama. 1996.

- ROSOL; CAPEN. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: Kaneko J.J. (Ed.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5.ed.. New York: Academic Press, 1997.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos : Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 2.ed. VIÇOSA: UFV, Departamento de Zootecnia, 2005.
- SAEG - **Sistema de análises estatísticas e genéticas**. UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. Versão 8.0. Viçosa, MG: 2007. 59p. (Manual do usuário).
- SAVIETTO, D.; ARAÚJO, L. F.; JUNQUEIRA, O. M. Desempenho produtivo de poedeiras comerciais alimentadas com diferentes níveis de fósforo disponível e fitase. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 9, pag. 39, 2007.
- SCHOULTEN, N. A . et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com ração contendo farelo de arroz e enzimas. **Ciência agrotec.**, v. 27, n.6, p. 1380-1387. 2003.
- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; et al. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial Phytase. **Poultry Science**, v. 76, p. 1760-1769, 1997.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science Technology**. v. 135, p. 1-41. 2007.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, IMP. Univ. 2002. 235p.
- SILVA, J.H.V.; ARAÚJO, J.A.; GOULART, C.C.; et al. Interações do fósforo disponível e da fitase sobre o desempenho, fósforo plasmático e parâmetros ósseos em poedeiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v., p., 2007.
- SOTO-SALANOVA, M.F; WYATT, C.L. Uso de enzimas para alcanzar el maximo potencial de las materias primas para dietas de avicultura. **Midwest Poultry Federation Convention**, Minneapolis, Abril, 1997.
- SPITZER, R. S.; PHILLIPS, P. H. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosas of rat, chicken, calf and man. **Biochemistry and Biophysiology**, v.268, p. 442-452, 1972.
- THOMPSON LU; YOON JH. Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid **Journal of Food Science**. v. 49, p.1228, 1984.
- UMIGI, R.T.; BARRETO, S.L.T.; MESQUITA FILHO, R.M. et al. Exigência de treonina digestível para codorna japonesa em postura. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 45, 2008, Lavras. **Anais...** Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2008] (CD-ROM).
- UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3 ed. Wallingford: Cabi, 1999. p. 105-148.
- VAN DER KLIS J.D; VERSTEEGH H.A.J; SIMON P.C.M. Effectiveness of Antiphons phytase im improving the bioavailability of phosphorus in corn-soya bean meal diets: In LAYERS, BASF TECHNICAL SYMPOSIUM PHOSPHORUS AND CALCIUM MANAGEMENT. **Anais...** Atlanta, 1996.

- VIEIRA, R. S. A . et al. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais de segundo ciclo alimentadas com rações contendo fitase. **Ciência Agrotecnologia**, v. 25, n.6, p.1413-1422, 2001.
- VOHARA, A.; SATYANARAYANA, T. Pitases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 29-60, 2003.
- WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v.42, p.263-302, 1996.
- WU, G.; LIU, Z.; BRYANT, M.M. et al. Comparison of Natuphos and Phyzyme as Phytase Sources for Commercial Layers Fed Corn-Soy Diet. **Poultry Science**, v.85, p.64-79, 2006.
- WYSS, M.; BRUGGER, R.; KROENBERGER, A.; et al. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. **Applied and Environmental microbiology**, v.65, p. 367-373, 1999.
- YU, B.; CHUNG, T.K. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broilers fed corn-soybean meal diets. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, p. 178-182, 2004.
- ZANELLA, I.; SAKAMURA N.K.; SILVERSIDES, F.G. et al. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, v.78, p.561-568, 1999.