TATIANA MENDES OLIVEIRA

CX ME 408

Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, cevada e farelo de soja sem e com a adição de fitase microbiana à dieta

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição Animal

Orientador:

Prof. Dr. Felix Ribeiro de Lima

Pirassununga - SP

2004

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

confeito por
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
10/11/04

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 1435
FMVZ

Oliveira, Tatiana Mendes

Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, cevada e farelo de soja sem e com a adição de fitase microbiana à dieta. / Tatiana Mendes Oliveira. – Pirassununga : T. M. Oliveira, 2004.
89 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2004.

Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal.
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Felix Ribeiro de Lima.

1. Biodisponibilidade. 2. Cevada. 3. Farelo de soja. 4. Frangos.
5. Milho. I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: OLIVEIRA, Tatiana Mendes

Título: Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, cevada e farelo de soja sem e com a adição de fitase microbiana à dieta

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: 10 / 12 / 2004

Banca Examinadora

Prof. Dr. FELIX RIBEIRO DE LIMA Instituição: FMVZ - USP
Assinatura : Julgamento: aprovada

Prof. Dr. JOSÉ FERNANDO MACHADO MENTEN Instituição: ESALQ - USP
Assinatura : Julgamento: aprovada

Prof. Dr. RICARDO DE ALBUQUERQUE Instituição: FMVZ - USP
Assinatura : Ricardo de Albuquerque Julgamento: aprovada

Principalmente à minha filha Laura cuja existência ilumina os meus caminhos e que mesmo sendo uma criança soube entender a minha ausência com grande maturidade,

À minha mãe Maria Helena, pelo amor e apoio incondicional nesta e em todas as outras etapas da minha vida.

Dedico este trabalho, com todo o meu amor e respeito!

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos mais que especiais a minha irmã e meu cunhado pelo incentivo, encorajamento e pelo custeio durante o período em que não tive bolsa, permitindo assim a realização de um grande sonho,

À minha família, obrigada pelo apoio incondicional,

Ao Professor Doutor Félix Ribeiro de Lima pela sua orientação e oportunidade de realização deste trabalho,

À CAPES e a Pró-Reitoria de Pós-graduação da USP, pela concessão da bolsa de estudos,

Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues pelas valiosas aulas e pelos esclarecimentos estatísticos,

Ao amigo e prof. Marco Veiga dos Santos, pelo incentivo e exemplo de profissionalismo,

Aos demais professores do departamento de Nutrição e Produção Animal que contribuíram compartilhando conhecimentos,

A todos os funcionários do VNP e em especial às secretárias Cris e Alessandra que sempre estiveram disponíveis e por sua amizade,

À equipe do laboratório de bromatologia do VNP: Ari, Gilson, Simi e Isabel pelos ensinamentos, pela paciência e dedicação dispensados a mim e ao presente trabalho,

Aos funcionários do aviário Cláudio, China e principalmente ao Evanildo, pela seriedade com que me ajudaram a conduzir o experimento e pela alegre convivência,

Aos amigos de pós-graduação: Alexandre, Alex, Adriana Fuzzeto (Fofa), Adriana Muniz, Bianca, Mayra, Vanessa e Ygor, pelo tempo em que convivemos juntos e dividimos as alegrias, tristezas, dificuldades, glórias e realizações que esta etapa nos proporcionou,

Ao Amaury (Goiano), Isabeli (Gauchinha), Márcia (Foférrima), Roberta (Robs), Sandro (Devas), Fabiano, Jerusa e família, Evandro, que de alguma forma participaram deste momento da minha vida,

À grande amiga Laura (mãe) que nunca deixou de me ajudar, pela participação ativa e direta nos ensinamentos científicos e de vida; fatores fundamentais para o passo gigantesco que tive no meu crescimento pessoal e profissional nesta fase da minha vida; que jamais esquecerei,

À Angélica grande amiga e companheira de baladas, que durante todo o mestrado me ajudou, incentivou e colaborou com sugestões e lições de vida,

À minha querida amiga e irmã de coração Fernanda (Xeila) agradeço por ter estado ao meu lado durante toda esta fase. Com você compartilhei minhas incertezas, dúvidas, angústias, alegrias e vitórias. Momentos estes que nunca serão esquecidos. Obrigada por tudo,

A algumas pessoas especiais, cujos nomes não são citados aqui, gostaria de expressar toda minha gratidão, admiração e respeito. Espero que de alguma maneira, realmente eu possa retribuir ao menos um pouco o que fizeram por mim, que certamente não será esquecido,

A todos os que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho,

“ Tenha fortaleza de ânimo, para resistir a todos os embates e tempestades do caminho. Não se iluda mesmo a estrada do bem está cheia de tropeços e dificuldades... Continue, porém! Não dê ouvidos às pedras colocadas pela inveja, pelo ciúme, pela intriga... Marche de cabeça erguida, confiantemente, e vencerá todos os obstáculos da caminhada. E, se for ferido, lembre-se de que as cicatrizes serão luzes que marcarão a sua vitória.”

Por Carlos Torres Pastorino

RESUMO

OLIVEIRA, T. M. **Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, cevada e farelo de soja sem e com a adição de fitase microbiana à dieta.** [Relative bioavailability of phosphorus in corn, barley and soybean meal with and without phytase in the diet]. 2004. 89 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

Foram utilizados 504 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb, de 1 dia de idade, distribuídos aleatoriamente em 18 tratamentos com 4 repetições pelo período de 21 dias, para determinar a biodisponibilidade relativa do fósforo (BRP) em milho, cevada e farelo de soja sem e com a adição de fitase microbiana à dieta. Foram adicionados dois níveis de fitase (0 ou 750 FTU/kg de ração) e dois níveis de fósforo suplementar (0,05 ou 0,10%) à dieta basal semi-purificada com baixo nível de fósforo total (0,40%) sendo a fonte padrão de fósforo o fosfato bicálcico. Ao término do experimento, foram removidas as tíbias esquerdas e os dedos médios direitos para posterior análise de cinzas ósseas. A BRP para cada fonte orgânica foi calculada pelo método do “slope ratio” através da regressão dos valores de peso de cinzas na tíbia em função dos níveis de fósforo suplementar ingerido (mg/dia). Os valores de BRP para milho, cevada e farelo de soja sem a adição de fitase foram 55,4; 122,4 e 70,4%, respectivamente. Com a adição de fitase estes valores foram para 170,1; 153,6 e 156,40%, respectivamente.

Palavras-chave: Biodisponibilidade. Cevada. Farelo de Soja. Frangos. Milho.

ABSTRACT

OLIVEIRA, T. M. **Relative bioavailability of phosphorus in corn, barley and soybean meal with and without phytase in the diet.** [Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, cevada e farelo de soja sem e com a adição de fitase microbiana à dieta]. 2004. 89 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

Five hundred and four male Cobb chicks were used in a 21 days trial to determine the relative bioavailability of phosphorus (RBP) in corn, barley and soybean meal, with and without addition of microbial phytase (0 or 750 FYT/kg of diet) and two levels of supplementary phosphorus (0.05 ou 0.10%). Supplementary phosphorus and microbial phytase were added to the basal diet, which had been semi-purified and had had low levels of total phosphorus (0.40%), being dicalcium phosphate the pattern source of phosphorus. Animals were randomly assigned into 18 treatments with four repetitions each one. By the end of the experiment, animals' left tibiae and right medium fingers were removed for later ashes analysis. A RBP for each organic phosphorus source was calculated by the slope ratio method, through regression analysis of tibiae ashes weight data in function of ingested levels of supplementary phosphorus (mg/day) data. The values of RBP for corn, barley and soybean meal without phytase were 55.4, 122.4 and 70.4%, respectively. However, the RBP values for corn, barley and soybean meal with phytase were 170.1, 153.6 and 156.40%, respectively.

Key words: Barley. Bioavailability. Corn. Poultry . Soybean meal.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais.....	31
Tabela 2 - Análise de variância.....	35
Tabela 3 - Ganho de peso diário das aves aos 21 dias de idade, g/dia.....	39
Tabela 4 - Consumo de ração das aves aos 21 dias de idade, g/dia.....	42
Tabela 5 - Conversão alimentar das aves aos 21 dias de idade, g/Kg.....	45
Tabela 6 - Peso das cinzas na tíbia das aves aos 21 dias de idade, mg.....	48
Tabela 7 - Porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 21 dias de idade, %.....	51
Tabela 8 - Peso das cinzas no dedo das aves aos 21 dias de idade, mg.....	54
Tabela 9 - Porcentagem de cinzas no dedo das aves aos 21 dias de idade, %.....	56
Tabela 10 - Análise de variância do ganho de peso consumo de ração, conversão alimentar, cinzas na tíbia (mg), cinzas na tíbia (%) cinzas no dedo (mg) e cinzas no dedo (%) das aves aos 21 dias de idade (quadrados médios).....	57
Tabela 11 - Disponibilidade relativa de fósforo com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo (mg) – equações de regressão em função de fósforo suplementar ingerido (mg/dia), coeficientes de determinação e disponibilidade relativa pra as diferentes fontes com adição de 0 e 750 FTU de fitase/kg de ração.....	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE.....	15
2.2	BIODISPONIBILIDADE DO FÓSFORO.....	17
2.3	FONTES DE FÓSFORO.....	20
2.4	ALIMENTOS A SEREM AVALIADOS.....	22
2.5	A ENZIMA FITASE.....	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1	ANIMAIS, INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS.....	29
3.2	FITASE E FONTE DE FÓSFORO.....	30
3.3	DIETAS EXPERIMENTAIS.....	30
3.4	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS.....	32
3.4.1	Desempenho Animal.....	32
3.4.2	Parâmetros Ósseos.....	32
3.5	BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO.....	33
3.6	ANÁLISES LABORATORIAIS.....	33
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4	RESULTADOS.....	36
4.1	ANÁLISES LABORATORIAIS DAS RAÇÕES.....	36
4.2	DESEMPENHO ANIMAL.....	36
4.2.1	Ganho de peso.....	36

4.2.2 Consumo de Ração.....	40
4.2.3 Conversão Alimentar.....	43
4.3 PARÂMETROS ÓSSEOS.....	46
4.3.1 Peso de Cinzas na Tíbia.....	46
4.3.2 Porcentagem de Cinzas na Tíbia.....	49
4.3.3 Peso de Cinzas no Dedo.....	52
4.3.4 Porcentagem de Cinzas no Dedo.....	55
4.4 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES.....	58
4.4.1 Farelo de Soja.....	60
4.4.2 Milho.....	60
4.4.3 Cevada.....	61
5 DISCUSSÃO.....	62
5.1 DESEMPENHO ANIMAL.....	62
5.1.1 Ganho de peso.....	62
5.1.2 Consumo de Ração.....	65
5.1.3 Conversão Alimentar.....	67
5.2 PARÂMETROS ÓSSEOS.....	69
5.2.1 Peso de Cinzas na Tíbia.....	69
5.2.2 Porcentagem de Cinzas na Tíbia.....	71
5.2.3 Peso de Cinzas no Dedo.....	73
5.2.4 Porcentagem de Cinzas no Dedo.....	74
5.3 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES.....	75
5.3.1 Biodisponibilidade Relativa do Fósforo sem adição de fitase.....	76
5.3.2 Biodisponibilidade Relativa do Fósforo com adição de fitase.....	78
6 CONCLUSÕES.....	79

REFERÊNCIAS.....	80
------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira ocupa uma posição de destaque no mercado internacional no que se refere tanto à produção, quanto à exportação de carne de frango, que é decorrente de um contínuo progresso genético, além de avanços tecnológicos cada vez mais intensos em nutrição, manejo, adequação ambiental e sanidade, o que tem permitido aos produtores avícolas obterem melhores resultados, no sentido de conseguir um produto final de alta qualidade e de baixo custo.

A produção avícola é baseada em sistemas intensivos, caracterizados por uma elevada concentração de animais por área, o que tem preocupado a comunidade científica quanto ao seu impacto negativo sobre o meio ambiente. O problema reside no fato da excessiva fertilização do solo com os dejetos animais, pois o nitrogênio e o fósforo em excesso, podem causar eutroficação, depleção de oxigênio, com crescimento exagerado de algas e morte de peixes, caso atinjam fontes de água (COLE; GREENE, 1998).

Em termos de importância econômica, o fósforo é componente de destaque nas dietas, sendo superado apenas pela energia e proteína, desempenhando funções vitais no metabolismo animal (LIMA et al., 1994).

A maioria das dietas para aves é composta de ingredientes de origem vegetal e a suplementação dietética de fósforo é feita utilizando-se farinha de carne e ossos ou fosfato bicálcico, sendo que a maior parte do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal encontra-se complexado em uma molécula orgânica denominada ácido fítico, forma química em que o fósforo apresenta baixa biodisponibilidade para

as aves e para outros animais. Estes animais não ruminantes sintetizam pequena quantidade da enzima fitase que é capaz de agir sobre o fitato liberando o fósforo fítico, assim o fósforo não disponível, passa pelo sistema digestivo sem sofrer digestão (MUNARO et al., 1996b). Este fósforo não absorvido é excretado através das fezes, fazendo com que haja um aumento da poluição ambiental e desperdício deste nutriente.

Frente a estas questões econômicas e ambientais, o nutricionista deve estar apto a lançar mão de técnicas que possam contornar tais problemas, maximizando a produtividade animal, reduzindo custos e garantindo segurança na eliminação de nutrientes para o ambiente, baseando-se em técnicas que aumentem a biodisponibilidade de nutrientes associados a um correto manejo nutricional.

A adição de enzimas exógenas nas rações tem sido utilizada como uma alternativa para disponibilizar parte deste fósforo que está na forma de fitatos através do aumento da digestibilidade aparente deste mineral contido nos ingredientes vegetais da dieta.

Estudos recentes (YAN et al., 2003) demonstraram que os níveis de fósforo da dieta para frangos de corte podem ser reduzidos pela suplementação de fitase. O uso de fitase dietética, além de liberar o fósforo fítico, pode trazer benefícios adicionais advindos do aumento na energia metabolizável para aves e na digestibilidade ileal aparente de proteína e aminoácidos. Nestas condições, o uso da enzima em dietas de aves favorece uma maior precisão na formulação de rações, com possível redução na suplementação de fósforo, cálcio, aminoácidos e outros minerais na dieta, o que se reflete em menor poluição ambiental e eventual redução no custo total da ração (RAVINDRAN et al., 1999).

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar os teores de cinzas na tíbia e

dedos e o desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, submetidos a 2 dietas basais semipurificadas contendo 0 ou 750 unidades de fitase e com diferentes níveis de fósforo supridos por fosfato bicálcico, farelo de soja, milho ou cevada; calcular a biodisponibilidade relativa de fósforo nos ingredientes acima citados; determinar a eficácia da fitase microbiana na liberação de fósforo através das medidas de parâmetros ósseos para os ingredientes em questão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Para efeito didático a revisão será apresentada em tópicos

2.1 IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

O fósforo é considerado o elemento mais versátil de todos os minerais. É o segundo mais abundante no corpo, depois do cálcio (WALDROUP, 1996).

Do total de fósforo existente no corpo do animal, cerca de 80% encontram-se nos osso, 10% estão associados às proteínas, lipídeos e carboidratos, e os 10% restantes encontram-se distribuídos em vários compostos químicos na célula (MURRAY et al., 1990).

Este possui um papel importante na fisiologia celular e na mineralização dos tecidos ósseos onde compõe os cristais de hidroxiapatita, conferindo rigidez ao esqueleto e sustentação ao corpo. Na fisiologia celular a função importante está no processo de transferência de energia no interior da célula, constituindo a molécula de trifosfato de adenosina (ATP), ele também faz parte de ácidos nucléicos, enzimas, membranas celulares, atuam no equilíbrio osmótico e eletrolítico, crescimento e diferenciação celular, formação dos fosfolípides, transporte de gorduras, formação e síntese de aminoácidos e proteínas, interferindo no controle do apetite e na eficiência alimentar (MACARI; FURLAN; GONZALES, 2002).

Com papéis tão diversificados dentro do organismo animal, as concentrações de cálcio e fósforo plasmáticos, em relação aos tecidos moles e ossos devem estar em equilíbrio, e são controladas por refinados mecanismos endócrinos que atuam nos ossos, rins e intestinos mediados, principalmente pelo paratormônio (PTH), calcitonina e calcitriol ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$), este, o metabólito ativo da vitamina D3 (HAYS; SWENSON, 1988).

A absorção do fósforo ocorre no intestino delgado sob a forma de ortofosfato, os mecanismos envolvidos são poucos conhecidos. No entanto, a absorção parece ocorrer ao longo do intestino delgado, sendo o duodeno o principal local de absorção. As evidências revelam que a absorção de fósforo parece envolver um transporte ativo com gasto de energia, sendo esse processo estimulado pela presença da vitamina D e dependente de sódio (MACARI; FURLAN; GONZALES, 2002). A Taxa de absorção depende de fatores como pH, viscosidade do conteúdo intestinal, nível e disponibilidade do fósforo dietético, presença de vitamina D, relação cálcio: fósforo, presença de outros minerais como ferro, alumínio, magnésio e manganês (HAYS; SWENSON, 1988), forma e grau de pureza das fontes minerais empregadas (McKNIGHT; WATTS, 1966; WALDROUP; AMMERMAN; HARMAS, 1965) e idade das aves (ROLAND, 1992).

Qian, Kornegay e Denbow (1997), citam que altos níveis de colecalciferol (D_3) podem influenciar positivamente a absorção do fósforo e cálcio fítico pela estimulação da hidrólise do fitato enquanto que uma maior relação cálcio: fósforo influencia negativamente, o excesso de cálcio se liga ao ácido fítico formando sais insolúveis tornando assim este menos disponível para a ação da fitase.

O fósforo absorvido circula pelo sangue e é extraído deste para fazer parte da constituição óssea, podendo também ser reabsorvido do osso para o sangue para

manter níveis normais no plasma durante os períodos de escassez na dieta e quando em excesso, o fósforo é eliminado através dos rins (MURRAY et al., 1990).

A privação de fósforo leva ao raquitismo, osteoporose, osteomalácia e osteodistrofia, que são resultados do metabolismo anormal das células ósseas e cartilaginosas, o que por sua vez resulta em ossificação incompleta, irregular ou desmineralização (QIAN et al., 1996), e há também sérias conseqüências em termos de redução da performance, aumentam as condenações, excessiva mortalidade, e redução da qualidade da carcaça (WALDROUP, 1999).

A deficiência de fósforo causa fratura ou defeito nos ossos longos (fêmur, tíbia, metatarso) e isto resultam em desvalorização da carne de frango (VIVEROS et al., 2002).

Muitos estudos demonstram que o fósforo tem efeito pronunciado sobre a absorção intestinal de cálcio e reabsorção óssea (MORRISSEY; WASSERMAN, 1971; RAISZ; NIEMAN, 1969), de forma que baixos níveis dietéticos de fósforo resultam em aumento na reabsorção óssea de cálcio e fósforo (MONGIN; SAUVER, 1979).

2.2 BIODISPONIBILIDADE DO FÓSFORO

A simples concentração de fósforo em um alimento tem pouco significado nutricional, a não ser que sejam acompanhados de informações sobre sua disponibilidade biológica (MABE, 1997), por isso os estudos sobre a disponibilidade de fósforo são importantes para avaliar o grau de aproveitamento deste mineral

pelas aves, e também sob o ponto de vista ambiental (GARZILLO, 1996).

A disponibilidade biológica do fósforo é medida pela condição do elemento mineral em suportar algum processo fisiológico, e é definida como sendo a proporção da quantidade de um elemento ingerido de uma dada fonte ou dieta, o qual é absorvido e utilizado pelo animal para atender seu requerimento líquido (FIGUEIREDO et al., 2001).

A biodisponibilidade expressa em porcentagem, indica o quanto o fósforo é efetivamente destinado à determinada função biológica, comparado a um fosfato padrão, ao qual se atribui 100% de disponibilidade relativa de fósforo (LOPES; PEREIRA, 1986).

A variação na biodisponibilidade do fósforo observada nos vários estudos pode ser devido a diferentes metodologias experimentais, composição da dieta basal, idade, espécie, níveis de vitamina D₃ e seus metabólitos, relação Ca: P, e tamanho de partícula (ANGEL et al., 2002).

Na década de 50 e 60 os métodos para determinação da biodisponibilidade de fósforo usavam dietas purificadas e semipurificadas com baixa palatabilidade, novos métodos foram sendo utilizados usando-se dietas práticas à base de milho e farelo de soja, com suplementação do mineral em estudo em níveis elevados por um período de tempo curto. Nesses métodos, além das medidas de desempenho, é utilizado o conteúdo do mineral nos tecidos (ROSTAGNO; SILVA, 1998).

De acordo com Pizzolante (2000) as metodologias utilizadas atualmente emprega a utilização de animais recebendo uma ração basal deficiente no mineral em estudo, suplementada com níveis crescentes do mesmo mineral proveniente de uma fonte padrão, que é considerada 100% de disponibilidade. Os outros tratamentos são formados no mínimo por dois ou mais níveis da fonte a ser

estudada. Os dados obtidos são elaborados através de equação de regressão linear simples ou múltipla, e a disponibilidade biológica relativa do mineral nas fontes é calculada pela relação entre os coeficientes de regressão da fonte padrão e da fonte em estudo.

Os fosfatos bicálcicos comerciais geralmente apresentam uma biodisponibilidade para aves em torno de 95 - 98%, isto se ele não apresentar nenhuma contaminação e se sofrer o tratamento adequado, já as farinhas de carne e de osso e de peixe apresentam uma biodisponibilidade de 90% (LEESSON; SUMMERS, 2001).

Diversas metodologias são utilizadas para avaliação da disponibilidade do fósforo nas diversas fontes. Parâmetros biológicos de desempenho dos animais como peso vivo, ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração, parâmetros sanguíneos como fósforo no plasma e fosfatase alcalina além de avaliações físicas como percentual de cinzas na tíbia, peso da tíbia, resistência à quebra e medidas de densidade óssea, podem ser utilizados para prever valores de disponibilidade biológica do fósforo (LIMA, 1994). Outros critérios também, são usados, como o balanço metabólico, o coeficiente de digestibilidade aparente ou verdadeira e a técnica de diluição isotópica com ^{32}P (LOPES, 1998).

Muitos critérios são usados para se estimar a disponibilidade do fósforo em frangos, mas muitos pesquisadores preferem à taxa de crescimento e conteúdo de cinzas nos ossos devido à simplicidade desta técnica (QIAN et al., 1996). O uso de cinzas no dedo ao invés de cinzas na tíbia segundo Potter (1988), tem sido proposto e tem demonstrado ser um método criterioso no estudo da disponibilidade de fósforo (YOSHIDA, 1986) e ainda mais sensível que o ganho de peso.

Garzillo (1996) considera que os resultados de parâmetros ósseos e de

desempenho variam em função da fonte de fósforo oferecida, sendo que os resultados de desempenho não são necessariamente acompanhados pelos melhores resultados para parâmetros ósseos, particularmente no caso de fosfatos com alto teor de flúor.

Apesar das diversas metodologias utilizadas, um procedimento é comum entre todas elas. Geralmente os autores procuram expressar a disponibilidade relativa do fósforo em uma fonte comparando-a a um fosfato padrão quimicamente puro ou bem definido, usando simultaneamente diversos critérios de mensuração, tais como desempenho, parâmetros sanguíneos e características de resposta óssea (LIMA, 1994).

É de interesse econômico o conhecimento destas variações, pois permite formular rações com mais segurança para os animais e para o meio ambiente (FERNANDES, 1996).

2.3 FONTES DE FÓSFORO

As fontes de suplementação de fósforo estão entre os ingredientes que mais oneram o custo final da dieta. A escolha desta fonte deve levar em conta o custo por unidade do elemento, a forma química em que o elemento está presente, granulometria, biodisponibilidade, solubilidade e teor de impurezas (VIANA, 1985).

Economicamente, o fósforo é o terceiro ingrediente mais caro das dietas de não ruminantes, ficando atrás da energia e proteína. Ambientalmente, grande quantidade do fósforo consumida é excretada nas fezes e urina porque são

indisponíveis (BOLING et al., 2000).

A baixa disponibilidade de fósforo, nos ingredientes vegetais é baixa para frangos porque as aves possuem pouca quantidade de enzima fitase endógena e esta situação leva a três tipos de problemas: a necessidade de adicionar fósforo inorgânico para suplementação, eliminação de grandes quantidades de fósforo para o meio ambiente e além de limitar também a disponibilidade de outros importantes nutrientes, como proteína, cálcio, cobre e zinco (CEYLAN;SCHEIDELER; STILBORN, 2003).

Segundo Waldroup (1999) nos alimentos de origem vegetal o fósforo é encontrado de duas formas distintas: ligado ao ácido fítico (fósforo fítico) e de outras formas (fósforo não fítico). Este fósforo fítico é indisponível e pouco aproveitado por humanos e animais monogástricos.

O uso de fontes fosfatadas não convencionais, como os fosfatos de rocha bruta, diminui o custo de suplementação, porém a presença de elementos contaminantes, como o elevado teor de flúor (McDOWELL, 1992), além da presença de metais pesados e elementos radioativos que podem ocasionar variações na biodisponibilidade de fósforo entre os fosfatos (LIMA, 1994; LOPES; PEREIRA, 1986) condenam o seu uso.

A maior parte do fósforo contido nos ingredientes de origem vegetal é encontrada combinado com o inositol formando a molécula do ácido fítico ou hexa-fosfato de inositol (IP6), e os sais de ácido fítico são descritos como fitatos (ANGEL et al., 2002). É um componente que ocorre em abundância em todos os grãos (cereais, leguminosas e oleaginosas), como forma de estocagem de fósforo (MAGA, 1982).

Segundo Borges (1997) o fósforo fítico, que é a designação dada ao fósforo

que faz parte da molécula de ácido fítico, representa de 45 a 80 % do fósforo total presente na planta.

De acordo com Lima (1994) os produtos comerciais designados fosfatos bicálcicos não constituem uma entidade química definida contendo, na verdade, proporções variadas de fosfatos monocálcicos e bicálcicos dependendo do tipo de processamento industrial empregado na sua produção.

Outro aspecto a ser enfatizado é que as fontes inorgânicas para a suplementação do fósforo nas rações dos animais não são recursos renováveis, portanto, são necessárias alternativas para o melhor aproveitamento do fósforo presente em fontes vegetais, maximizando sua utilização e disponibilidade nas rações (BORRMANN, 1999).

2.4 ALIMENTOS A SEREM AVALIADOS

Apesar da constante busca de alimentos alternativos, observa-se que o milho é ainda a fonte energética tradicional nas formulações (RODRIGUES et al., 2001).

Milho e farelo de soja são ingredientes comuns na alimentação de frangos. Devido à baixa disponibilidade de fósforo nas dietas a base destes ingredientes fósforo inorgânico é adicionado à dieta causando um custo adicional. Além deste custo deve-se levar em consideração que 75% do fósforo presente nesta dieta será excretado para o meio ambiente causando problemas ambientais (SANDS et al, 2003).

A variação nas respostas para a suplementação de fitase entre os

ingredientes pode ser justificada pelos locais onde o fitato está depositado na planta. No milho 90% do fitato esta no gérmen, na soja este esta associado com as proteínas estruturais (BEDFORD, 2000).

A grande quantidade de fósforo fítico no milho e no farelo de soja conduz a uma limitada disponibilidade de fósforo, cálcio, e microminerais para frangos em dietas a base de milho e farelo de soja (QIAN; KORNEGAY; DENBOW, 1997).

O uso de cevada na alimentação de frangos é limitado pela presença dos β - glucanos, este composto reduz o valor nutritivo da cevada pelo aumento da viscosidade da digesta causando redução da disponibilidade e absorção dos nutrientes. Por isto as dietas a base de cevada são comumente suplementadas com β - glucanase para reduzir estes efeitos antinutricionais (PERTTILA et al., 2001).

Segundo Viveros et al. (2000), o trigo ,o arroz,o triticale e a cevada apresentam altos níveis de fitase.

Cerca de 70% do fósforo presente na cevada não é utilizado pelos monogástricos porque esta ligado ao fitato (VEUM, et al., 2002). No caso do milho estima-se que 78% do fósforo estejamos ligados ao fitato (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1994).

Os valores de fósforo total, fítico e de atividade de fitase são: na cevada 0,31%, 0,19% e 1016 U kg^{-1} ; no milho 0,23 %, 0,18 % e 70 U kg^{-1} , (VIVEIROS et al., 2000), e no farelo de soja 0,66 %, 0,47% e 30 U kg^{-1} (RAVINDRAN et al., 1999), respectivamente.

A quantidade de fitato é muito variável entre as espécies vegetais, afetando diretamente a biodisponibilidade do fósforo. Assim, segundo Borges (1997) a biodisponibilidade do fósforo no milho é de 33%, e do farelo de soja 42%.

Leske e Coon (1999), registraram que sem a adição de fitase, as amostras de

milho, farelo de soja e cevada apresentaram taxa de hidrólise de fósforo fítico de 30,8, 34,9 e 32,2%, respectivamente. Com a adição de 600 FTU/kg de ração estes valores aumentaram para 59,0, 72,4 e 71,3%, respectivamente.

A adição de enzima fitase em dietas à base de milho e farelo de soja aumenta os coeficientes de digestibilidade da proteína, do cálcio, do fósforo e da energia bruta, indicando que maiores complexos de nutrientes - fitato foram hidrolisados. Este efeito sobre a digestibilidade da proteína e dos minerais, deve ser levado em consideração visando reduzir os custos na formulação das dietas (TEJEDOR et al., 2001).

Sem a adição de fitase a biodisponibilidade relativa do farelo de soja é 38% e com a adição de fitase esta biodisponibilidade passa para 206% em aumento de 442% (LIMA et al., 2002).

Segundo Selle (1997), alimentos como trigo, 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, contém pouca ou nenhuma atividade.

Sebastian et al. (1996) determinou que a retenção de fósforo total na terceira semana de vida de frangos machos alimentados com dieta à base de milho e farelo de soja foi de 51%, e esta retenção de fósforo foi aumentada para 63,5% com a adição de fitase.

Munaro et al. (1996a), estudaram os efeitos da adição de 250, 500, 750, 1000 ou 1250 FTU/kg de ração em uma dieta contendo 15% de farelo de soja. Considerando os parâmetros de desempenho, ósseos e plasmáticos, bem como a excreção fecal de fósforo, os melhores resultados foram obtidos com a inclusão dos mais altos níveis de fitase estudados (1000 e 1250 FTU/kg de ração) até a 5ª semana de idade.

2.5 A ENZIMA FITASE

O fósforo é amplamente distribuído na natureza, sendo encontrado em todos os alimentos de origem vegetal e animal. Segundo o National Research Council (1994) menos de um terço do fósforo contido nos alimentos de origem vegetal é biodisponível para os animais monogástricos, pois os dois terços restantes encontram-se na forma fítica (ácido fítico) que é pouco disponível para os animais (VIVEROS et al., 2000), a menos que seja liberado da molécula de inositol pela fitase microbiana intestinal, ou exógena adicionada ao alimento (SANDBERG; LARSEN, 1993).

A hidrólise em termo libera o fósforo que estava ligado ao fitato, entretanto os animais monogástricos produzem pouca enzima fitase, assim sendo utilizam pouco o fósforo fítico (GORDON; ROLAND, 1997).

A molécula de ácido fítico contém, aproximadamente 28,2 % de fósforo e sua propriedade antinutricional está além do não aproveitamento do fósforo. Este ácido é um potente agente quelatante de nutrientes de modo que a solubilidade e a digestibilidade são drasticamente reduzidas pela formação de complexos insolúveis Tejedor et al. (2001).

Segundo Lan et al. (2002) não apenas o fósforo pode estar ligado ao fitato, como outros minerais de importância nutricional. O fitato pode se ligar também com a proteína formando complexos não digestíveis de aminoácidos e de amido, reduzindo sua biodisponibilidade. A redução da biodisponibilidade de aminoácidos na presença de fitatos resulta da presença de complexos proteína-fitato naturais do alimento, assim como da formação no intestino de novos complexos de fitato com

aminoácidos livres e com enzimas proteolíticas do trato digestivo dos animais. Na sua forma natural, o ácido fítico inibe várias enzimas digestivas, como a pepsina, a α -amilase e tripsina. Essa interação negativa pode também ser parcialmente responsável pelos efeitos do fitato na utilização da proteína.

A fitase é encontrada distribuída na natureza (sementes, plantas, fungos, bactérias, leveduras e microorganismos do rúmen), e quando incubada com fitato de sódio (substrato sintético), hidrolisa o fósforo do fitato presente nos grãos de cereais liberando fósforo inorgânico (PIZZOLANTE, 2000).

A fitase tem sido estudada intensivamente nos últimos cinco anos devido ao interesse de utilizá-la como enzima para reduzir o fitato presente nos alimentos de consumo animal Viveros et al. (2000). O efeito da fitase na redução das perdas endógenas tornou-se um fator de grande relevância a ser considerado na alimentação de frangos (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2003).

A fitase dietética pode hidrolisar o fósforo inorgânico do esqueleto carbônico da molécula de fitato. Nelson et al. (1968), mostraram que a fitase de *Aspergillus ficuum* hidrolisou 97% do fósforo fítico contido no farelo de soja.

Os resultados de Yi et al. (1996), demonstraram que em dietas semipurificadas à base de farelo de soja, o valor médio de fitase equivalente a 1g de fósforo foi de 1.146 unidades quando estimado a partir de valores de ganho de peso e porcentagem de cinzas dos dedos.

Kornegay, Zang e Denbow (1998), avaliaram a adição de fitase à dieta com baixa proteína ou aminoácidos na performance, digestibilidade ileal de aminoácidos e medidas de carcaça em frangos em terminação e mostraram que dietas com baixos níveis de proteínas ou aminoácidos (85 a 95% das recomendações do National Research Council) reduziram a performance, o rendimento de peito e a

digestibilidade ileal de aminoácidos, e que esses efeitos negativos podem ser prevenidos pela adição de 300 a 450 unidades de fitase por quilo de dieta.

Ao adicionarem fitase à dieta Tejedor et al. (2000), observaram melhora na digestibilidade da proteína e energia bruta, cálcio e fósforo bem como um efeito positivo no ganho de peso e conversão alimentar de frangos de corte.

Ravindran et al. (1999) ao estudarem a influência da fitase na digestibilidade ileal aparente de aminoácidos em milho, sorgo, aveia, farelo de soja, farelo de canola, farelo de algodão e farelo de girassol obtiveram um aumento da digestibilidade de proteína e aminoácidos em todos os ingredientes testados. Quando eles analisaram os aminoácidos individualmente, observaram que o aumento da digestibilidade foi relativamente maior para treonina e valina.

Estudos realizados por Keshavarz (2003), demonstraram que frangos na fase de crescimento (0 a 18 semanas) quando submetidos à dieta com níveis de fósforo não fítico de 0,15 – 0,10 – 0,08 % com fitase apresentaram desempenho semelhante aos frangos alimentados com dietas com níveis adequados de fósforo durante o mesmo período.

Shirley e Edwards (2003), estudaram os efeitos de níveis crescentes de suplementação de fitase na performance, nas cinzas ósseas, e na utilização do fósforo fítico por frangos de corte, e concluíram que níveis de suplementação acima dos padronizados pela indústria são necessários para liberar todo fósforo fítico presente dietas a base de milho e farelo de soja, apresentando assim uma biodisponibilidade de 95% para frangos jovens.

Testando níveis crescentes de fitase em dieta contendo farelo de soja desengordurado e com baixo nível de fósforo disponível, Figueiredo et al. (2000), observaram que a fitase até 1250 unidades/kg aumentou a porcentagem de fósforo

nas cinzas e reduziu a excreção de fósforo nas fezes. Segundo aqueles autores, os efeitos positivos da fitase na eficiência de utilização de proteína são resultados da hidrólise do ácido fítico pela enzima com liberação de aminoácido ou proteína ligados a fitatos, e ponderam que, uma ou mais das seguintes considerações podem ser importantes neste contexto: 1) presença de complexos fitato-proteína naturais nos alimentos de origem vegetal; 2) formação de complexos fitato-proteína no ambiente intestinal; 3) formação de complexos fitato-aminoácidos livres em rações misturadas; 4) inibição ou redução da atividade de enzimas endógenas intestinais pela formação de complexos fitato-proteína enzimática.

A fitase tem mostrado resultados promissores, pois além de aumentar a disponibilidade de fósforo dos alimentos de origem vegetal para o animal, otimizando sua performance, pode reduzir o impacto ambiental causado pela eliminação de fósforo através dos dejetos avícolas para o meio ambiente (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2003).

Hatten, Ingram e Pittman (2001), reportaram o aumento das cinzas ósseas e do ganho de peso em frangos que receberam dietas com suplementação de fitase.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados no ensaio bem como os métodos realizados serão descritos nos tópicos a seguir.

3.1 ANIMAIS, INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS

Foram utilizados 504 pintos de corte de 1 dia de idade, machos, da linhagem comercial Cobb, distribuídos aleatoriamente aos 18 tratamentos experimentais com quatro repetições. O experimento foi realizado nas dependências do aviário experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, no Campus de Pirassununga.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas em 72 gaiolas de aço inoxidável (1,0 m x 0,4 m) dispostas em 3 baterias de 6 andares, equipadas com aquecimento elétrico e, cada uma, provida de um comedouro (0,7 m de comprimento) e de dois bebedouro nipple, ambos reguláveis e dispostos nas laterais das baterias.

Nos primeiros cinco dias de vida as aves receberam ração comercial inicial para frangos de corte em comedouro tipo bandeja, e a água foi fornecida em bebedouro tipo copo de pressão, colocados no interior da gaiola.

O fornecimento das dietas experimentais foi a partir do 5º dia de vida das aves, estas foram pesadas e tiveram o consumo e o ganho de peso controlado a

partir deste dia até o final do período experimental.

3.2 FITASE E FONTE DE FÓSFORO

A fonte de fitase utilizada no experimento foi o Ronozyme P (Roche Vitaminas) que contém 2500 unidades (FYT) por grama de produto.

O fosfato padrão, quimicamente puro, será o fosfato bicálcico dibásico ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) produzido pela empresa Quimbarra.

3.3 DIETAS EXPERIMENTAIS

Foram confeccionadas duas dietas basais semipurificadas, à base de amido e farelo de soja, contendo 0 ou 750 unidades de fitase por kg da dieta para frangos de corte de 5 a 21 dias de idade (Tabela 1). Em substituição ao amido, foram adicionadas quantidades adequadas de fosfato bicálcico, farelo de soja, milho e cevada, de modo a fornecer 0,05 ou 0,10% de fósforo suplementar, que somadas às duas dietas não suplementadas com P somarão 18 rações experimentais. As dietas foram fornecidas na forma farelada por 16 dias. As dietas experimentais, assim como a água, foram fornecidas ad-libitum, diariamente. A relação cálcio:fósforo foi mantido em 2:1.

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais¹

INGREDIENTES	1 e 10	2 e 11	3 e 12	4 e 13	5 e 14	6 e 15	7 e 16	8 e 17	9 e 18
Amido-Milho	41,84	41,24	40,59	22,71	3,40	25,64	9,30	31,78	21,62
Milho 8,5%				17,68	35,53				
Cevada 14%						13,75	27,64		
Flo Soja 45%								7,62	15,31
Óleo soja	0,82	1,08	1,35	2,08	3,36	3,09	5,37	3,16	5,52
Flo Soja	48,60	48,60	48,60	48,60	48,60	48,60	48,60	48,60	48,60
Sal	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Calcário-38%	1,44	1,53	1,61	1,69	1,94	1,69	1,94	1,64	1,85
Fosf.Bic. 18/24%	0,47	0,74	1,02	0,47	0,47	1,47	0,47	0,47	0,47
Colina-Cl-60%	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
DL-Metionina-99%	0,20	0,20	0,20	0,14	0,07	0,13	0,05	0,10	0,00
Px. Min.Aves ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Px.vit. frangos ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
ANALISE CALCULADA									
Prot.Bruta (%)	22,00	22,00	22,00	23,40	24,90	23,90	25,80	25,40	28,80
Ext.Etéreo (%)	0,39	0,40	0,40	0,52	0,65	0,80	1,20	0,43	0,46
Fibra Bruta (%)	3,40	3,40	3,40	3,88	4,35	3,76	4,11	3,89	4,38
Cálcio (%)	0,80	0,90	1,00	0,90	1,00	0,90	1,00	0,90	1,00
Fósforo Total (%)	0,40	0,45	0,50	0,45	0,50	0,45	0,50	0,45	0,50
Fósforo não fitico (%)	0,22	0,27	0,31	0,22	0,23	0,22	0,23	0,22	0,23
EM-AVES (Kcal/kg)	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900
Metionina	0,69	0,69	0,69	0,66	0,62	0,65	0,61	0,64	0,59
Lisina	1,35	1,35	1,35	1,38	1,43	1,41	1,48	1,55	1,76
Metionina+Cistína	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02

¹Suplementação com fitase: 0 FYT (dietas 1 a 9) e 750 FYT (dietas 10 a 18).

² Suplemento vitamínico, fornece por kg de dieta : vitamina A, 10000 UI; vitamina D3, 2000 UI; vitamina E, 25 mg; vitamina K3, 3 mg; tiamina, 2 mg; riboflavina, 6 mg; piridoxina, 4 mg; vitamina B12, 15 mcg; ácido nicotínico, 30 mg; ácido pantotênico, 12 mg; biotina, 0,10 mg; ácido fólico, 1 mg; colina, 260 mg; ferro, 50 mg; cobre, 10 mg; zinco, 50 mg; manganês, 80 mg; selênio, 0,3 mg; iodo, 1 mg; cobalto, 1 mg; metionina, 1862 mg; niasina, 40 mg; nicarbazina, 40 mg; olaquinox, 50 mg; virginamicina, 10 mg; antioxidante, 100 mg;

3.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS

O desempenho animal e os parâmetros ósseos foram avaliados conforme o descrito abaixo.

3.4.1 Desempenho Animal

No 5º, 7º, 14º, e 21º dias de idade foram anotados o peso corporal e o consumo de ração por unidade experimental constituída de 7 aves, a mortalidade foi registrada diariamente. Os valores de ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade foram obtidos semanalmente e para o período total de 21 dias de idade.

3.4.2 Parâmetros Ósseos

Ao final do período experimental, foram sacrificadas, por deslocamento cervical, 3 aves por gaiola para remoção da tíbia esquerda. A perna direita foi retirada e congelada a -20°C para posterior remoção do dedo médio. As tíbias esquerdas foram descarnadas no momento do abate retirando-se todos os tecidos moles sem causar lesões ao osso e cartilagem. Estas foram embaladas e

congeladas a -20°C para posterior análise de cinzas ósseas.

3.5 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO

A estimativa da disponibilidade biológica relativa do fósforo, proveniente dos ingredientes que foram testados na ração, foi calculado pela técnica do "slope ratio" (AMMERMAN; BAKER; LEWIS, 1995) no qual a inclinação da curva de regressão de cada ingrediente testado, em função de níveis de fósforo suplementar, foi dividida pela inclinação da linha de regressão do fosfato padrão, para o qual se estabelece valor de 100%.

Os parâmetros utilizados para estimativa da biodisponibilidade de fósforo nos ingredientes foram ganho de peso, peso de cinzas na tíbia e peso de cinzas do dedo médio direito aos 21 dias de idade.

3.6 ANÁLISES LABORATORIAIS

As dietas experimentais foram analisadas de acordo com os métodos estabelecidos pela Association of Official Analytical Chemists (1990), para determinação de níveis de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo, matéria mineral, cálcio e fósforo.

O fosfato bicálcico utilizado foi submetido à determinação de cálcio, fósforo e

flúor, além de análises de solubilidade de fósforo em ácido cítrico a 2% e umidade.

Para a determinação do teor de cinzas no dedo, foi feita a separação do dedo médio, por corte sem prejuízos para a cartilagem entre o segundo e o terceiro tarço na porção distal (FRITZ et al., 1969), retirando-se a unha. A amostra constituída por três dedos provenientes de uma mesma unidade experimental, foi seca em estufa à 105°C, durante 12 horas, após o que foram calcinadas para obtenção das cinzas em muflas a 600°C por 8 horas.

Os ossos da tíbia foram secos em estufa à 105°C por 48 horas e então foram submetidos à extração de gordura por tratamento sucessivo com éter etílico por 8 horas, em seguida, secos em estufa por 12 horas à 105°C, pesados e calcinados em forno mufla por 12 horas à 600°C, para determinação de cinzas (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1990).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados de acordo com um delineamento tipo blocos ao acaso com emprego de rotinas do General Linear Model do software estatístico Statistical Analysis System (1998), considerando as médias por gaiola como unidade experimental.

A análise de variância dos valores obtidos para os parâmetros de desempenho e ósseos obedeceu a um modelo fatorial 4 x 2 x 2 com quatro fontes de fósforo, dois níveis suplementares de fósforo e dois níveis de fitase (Tabela 2) e teste de Duncan para o contraste entre médias (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM,

1998). Os dados relativos ao uso da dieta basal (sem e com fitase, tratamentos 1 e 10) foram utilizados unicamente para obtenção das equações de regressão empregadas no cálculo de disponibilidade relativa de fósforo, sendo, portanto, excluídos da análise de variância.

Os dados de mortalidade foram analisados com uso do teste Qui-quadrado (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1998).

Os resultados de desempenho e cinzas na tibia e dedos foram submetidos à análise de regressão em função dos níveis suplementares de fósforo na dieta (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1998) para o cálculo da biodisponibilidade relativa de fósforo.

Tabela 2 - Análise de variância

Fonte de variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	15
Fonte de P (FP)	3
Nível de P (NP)	1
Fitase (FT)	1
FP * NP	3
FP * FT	3
NP * FT	1
FP * NP * FT	3
Resíduo	48
Total	63

4 RESULTADOS

Com o objetivo de esmiuçar-se os resultados obtidos os mesmos foram dispostos em tópicos.

4.1 ANÁLISES LABORATORIAIS DAS RAÇÕES

De acordo com a análise laboratorial realizada, as rações experimentais apresentaram-se de acordo com o esperado para os níveis nutricionais formulados para cada tratamento experimental.

4.2 DESEMPENHO ANIMAL

Os resultados de desempenho animal foram divididos em ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

4.2.1 Ganho de peso

Os valores de ganho de peso, expressos em g/dia, no período de 5 a 21 dias

de idade das aves, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase, são apresentados na tabela 3, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 3. A média geral referente ao ganho de peso foi de 31,25 g/dia e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de ganho de peso de 26,12 ou 28,02 g/dia, respectivamente.

A análise de variância (Tabela 10) revelou que o ganho de peso das aves alimentadas com diferentes fontes de fósforo foi diferente ($P<0,01$), independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase. Aos 21 dias de idade (Tabela 3), os melhores resultados ($P<0,05$) foram obtidos com as aves que foram alimentadas com cevada (32,46 g/dia), milho (31,56 g/dia) ou farelo de soja (31,42 g/dia), e o resultado mais baixo foi obtido com o fosfato bicálcico (29,55 g/dia). Os valores de ganho de peso encontrados com o uso de farelo de soja, cevada ou milho apresentados anteriormente não diferiram entre si pelo teste de Duncan, porém esses diferiram do valor encontrado no tratamento fosfato bicálcico.

Observou-se efeito de níveis de fósforo ($P<0,01$) para ganho de peso (Tabela 10), independentemente de fonte de fósforo e de adição de fitase. O ganho de peso médio diário das aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) foi de 27,07 g/dia. Ao se utilizar o nível de 0,05% de fósforo suplementar este ganho foi de 30,25 g/dia, enquanto que para o incremento de 0,10% de fósforo suplementar foi de 32,25 g/dia.

Considerando-se o efeito da adição de fitase independentemente dos níveis de fósforo suplementar e de fontes de fósforo, não foi observada diferença ($P<0,05$) no ganho de peso.

A análise de variância revelou interação ($P<0,01$) entre fontes de fósforo e níveis de fósforo suplementar, para o ganho de peso, indicando que o efeito de

níveis de fósforo suplementar foi diferente para as distintas fontes de fósforo avaliadas. Desta forma, em relação às aves que receberam 0,40% de fósforo total, a diferença no ganho de peso diário das aves com a suplementação de 0,05% de fósforo foi de 8,79% para o fosfato bicálcico (27,07 vs 29,45 g/dia), 14,87% para o milho (27,07 vs 31,10 g/dia), 13,74% para a cevada (27,07 vs 30,79 g/dia) e 9,55% para o farelo de soja (27,07 vs 29,66 g/dia). Para o incremento de 0,05% para 0,10% de fósforo suplementar na dieta, a diferença no ganho de peso foi de 0,70% (29,45 vs 29,66 g/dia) para o fosfato bicálcico, 2,94% (31,10 vs 32,02 g/dia) para o milho, 10,88% (30,79 vs 34,14 g/dia) para a cevada e 11,90% (29,66 vs 33,19 g/dia) para o farelo de soja.

Não houve efeito de interação entre fontes de fósforo e adição de fitase para o ganho de peso. Entretanto, na ausência de fitase os valores de ganho de peso encontrados com o uso de fosfato bicálcico (29,39 g/dia) e milho (30,44 g/dia) não diferiram ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Duncan, porém estes diferiram do valor encontrado com o uso de cevada (32,69 g/dia). O valor de ganho de peso apresentado para o uso de farelo de soja (31,04 g/dia) não diferiu dos valores observados com uso das demais fontes avaliadas. Com o uso de fitase, os valores mais elevados de ganho de peso das aves ($P < 0,05$) foram obtidos com o uso de milho (32,68 g/dia), de cevada (32,24 g/dia) ou de farelo de soja (31,81 g/dia) e o valor mais baixo, obtido com uso de fosfato bicálcico (29,71 g/dia).

Não houve efeito de interação entre níveis de fósforo suplementar e adição de fitase, para o ganho de peso. Desta forma, houve melhora ($P < 0,05$) no ganho de peso quando o nível de fósforo suplementar foi incrementado de 0,05% para 0,10%, tanto sem adição de fitase (29,92 vs 31,86 g/dia), quanto na sua presença (30,58 vs 32,64 g/dia).

Tabela 3 - Ganho de peso diário das aves aos 21 dias de idade, g/dia ^{(1) (2)}

Fonte de P	Fitase, FTU/kg												Geral	
	0						750							
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão		
	0,05	0,10			0,05	0,10			0,05	0,10				
Fosfato	29,18	29,61	29,39 b	2,46		29,72	29,70	29,71 b	0,90		29,55 b	1,80		
Milho	29,99	30,88	30,44 b	1,39		32,20	33,15	32,68 a	1,19		31,56 a	1,70		
Cevada	31,73	33,65	32,69 a	1,75		29,85	34,63	32,24 a	2,98		32,46 a	2,37		
Farelo de Soja	28,77	33,30	31,04 ab	2,81		30,54	33,08	31,81 a	1,75		31,42 a	2,30		
Níveis														
Médias	29,92 b	31,86 a				30,58 b	32,64 a							
Desvio Padrão	1,64	2,68				1,36	2,29							
Fitase														
Médias		30,89					31,61				31,25			
Desvio Padrão		2,40					2,13				2,28			

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de Ganho de peso médio diário de 26,12 ou 28,02 g/dia, respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

4.2.2 Consumo de Ração

Os valores referentes aos consumos médios diários de ração, expressos em g/dia, no período de 5 a 21 dias de idade das aves, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase, são apresentados na tabela 4, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 4. A média geral referente ao consumo diário foi de 43,08 g/dia e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de consumo de ração de 39,51 ou 42,01 g/dia, respectivamente.

Considerando o efeito de fontes de fósforo ($P<0,05$) no consumo de ração (Tabela 10), independentemente de níveis de fósforo suplementar e adição de fitase, o mais elevado valor ($P<0,05$) foi obtido com o uso da cevada (44,23 g/dia), e o mais baixo com o uso de farelo de soja (42,22 g/dia), sendo que tais valores não diferiram do consumo encontrado com o uso de fosfato bicálcico (42,94 g/dia) ou milho (42,92 g/dia).

Observou-se efeito de níveis de fósforo ($P<0,05$) no consumo de ração (Tabela 10), independentemente de fonte de fósforo e adição de fitase. O consumo médio diário das aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) foi de 40,76 g/dia. Ao se utilizar o nível de 0,05% de fósforo suplementar, este consumo foi de 42,28 g/dia, enquanto que para o incremento de 0,10 % de fósforo suplementar foi de 43,88 g/dia.

De acordo com a análise de variância houve efeito de interação ($P<0,05$) entre fontes de fósforo e níveis de fósforo suplementar, para o consumo médio

diário, indicando que o efeito de níveis de fósforo suplementar foi diferente para as distintas fontes avaliadas. Desta forma, em relação às aves que recebem 0,40% de fósforo total, a diferença no consumo médio diário com a suplementação de 0,05% de fósforo foi de 6,18% para o fosfato bicálcico (40,76 vs 43,28 g/dia), 4,06% para o milho (40,76 vs 42,42 g/dia), 3,75% para a cevada (40,76 vs 42,29 g/dia) e 0,87% para o farelo de soja (40,76 vs 41,12 g/dia). Para o incremento de 0,05% para 0,10% de fósforo suplementar na dieta, a diferença no consumo de ração foi de -1,57% para o fosfato bicálcico (43,28 vs 42,60 g/dia), 2,35% para o milho (42,42 vs 43,42 g/dia), 9,16% para a cevada (42,29 vs 46,16 g/dia) e 5,36% para o farelo de soja (41,12 vs 43,32 g/dia).

Houve efeito de interação ($P < 0,05$) entre fontes de fósforo e adição de fitase, para o consumo médio diário, indicando que o efeito da adição de fitase foi diferente para as distintas fontes avaliadas. Na ausência de fitase (Tabela 4), os valores de consumo de ração encontrados com o uso de milho (41,62g/dia) ou farelo de soja (41,94 g/dia) não diferiram entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$), porém estes diferiram do valor observado com o uso da cevada (44,96 g/dia). O valor de consumo de ração apresentado para o uso do fosfato bicálcico (43,21 g/dia) não diferiu ($P < 0,05$) dos valores observados com o uso das demais fontes avaliadas.

Não houve interação entre níveis de fósforo suplementar e adição de fitase para o consumo de ração. Desta forma, com a adição de fitase (750 FTU/kg de ração) à dieta houve melhora no consumo de ração ($P < 0,05$) quando o nível de fósforo suplementar foi incrementado de 0,05% para 0,10% (42,28 vs 44,20 g/dia).

Tabela 4 - Consumo de ração das aves aos 21 dias de idade, g/dia ^{(1) (2)}

Fonte de P	Fitase, FTU/kg									
	0					750				
	P suplementar, %		Desvio		P suplementar, %	Desvio		Desvio		Geral
	0,05	0,10	Médias	Padrão		0,05	0,10	Médias	Padrão	
Fosfato	43,12	43,30	43,21 ab	2,64	43,44	41,90	42,67	1,52	42,94 ab	2,10
Milho	41,71	41,43	41,57 b	0,68	43,12	45,40	44,26	2,06	42,92 ab	2,03
Cevada	43,84	46,02	44,93 a	1,88	40,74	46,31	43,52	3,56	44,23 a	2,85
Farelo de Soja	40,40	43,48	41,94 b	2,96	41,83	43,17	42,50	1,45	42,22 b	2,27
Níveis										
Médias	42,27	43,56			42,28 b	44,20 a				
Desvio Padrão	2,18	2,70			1,94	2,31				
Fitase										
Médias		42,91			43,24					43,08
Desvio Padrão		2,50			2,31					2,40

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de Consumo diário médio de ração de 39,51 ou 42,01 g/dia, respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

4.2.3 Conversão Alimentar

Os valores de conversão alimentar, expressos em g de ração/kg de peso vivo, no período de 5 a 21 dias de idade das aves, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase, são apresentados na tabela 5, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 5. A média geral referente à conversão alimentar foi de 1381 g/kg e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de 1513 ou 1500 g/kg, respectivamente.

A análise de variância (Tabela 10) revelou que a conversão alimentar das aves alimentadas com diferentes fontes de fósforo foi diferente ($P<0,01$) independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase. Os valores mais baixos de conversão alimentar das aves foram observados para o uso de farelo de soja (1346 g/kg), milho (1361g/kg) ou cevada (1363 g/kg), sendo o valor mais elevado ($P<0,05$) com o uso do fosfato bicálcico (1455 g/kg).

Observou-se efeito de níveis de fósforo ($P<0,05$) na conversão alimentar das aves (Tabela 10), independentemente de fonte, ou adição de fitase. A conversão alimentar das aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) foi de 1506 g/kg, ao se utilizar o nível de 0,05% de fósforo suplementar a conversão foi de 1399 g/kg, enquanto que para o incremento de 0,10% de fósforo suplementar foi de 1364 g/kg.

Considerando o efeito da adição de fitase independente dos níveis de fósforo suplementar e fontes de fósforo, foi observado redução ($P<0,05$) de 1,65% nos valores de conversão alimentar das aves (1393 vs 1370 g/kg) com a adição de fitase

à dieta.

Não foi observado efeito de interação entre fontes de fósforo e adição de fitase para conversão alimentar. Desta forma, com ou sem adição de fitase, os valores mais elevados de conversão alimentar foram observados com o uso de fosfato bicálcico (1437 e 1473 g/kg) e os valores mais baixos foram encontrados com o uso de milho (1355 e 1368 g/kg), cevada (1352 e 1375 g/kg) ou farelo de soja (1338 e 1354g/kg).

A análise de variância não revelou interação entre níveis de fósforo suplementar e adição de fitase para conversão alimentar. Entretanto, sem adição de fitase, houve uma redução ($P<0,05$) na conversão alimentar das aves quando o nível de fósforo suplementar foi incrementado de 0,05% (1414 g/kg) para 0,10% (1371 g/kg).

Tabela 5 - Conversão alimentar das aves aos 21 dias de idade, g/Kg ^{(1) (2)}

Fonte de P	Fitase, FTU/kg												
	0						750						
	P suplementar, % 0,05		P suplementar, % 0,10		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, % 0,05		P suplementar, % 0,10		Médias	Desvio Padrão	
Fosfato	1478	1468	1473	a	52	1462	1412	1437	a	46	1455	a	51
Milho	1393	1342	1368	b	52	1339	1371	1355	b	46	1361	b	48
Cevada	1382	1369	1375	b	32	1365	1338	1352	b	43	1363	b	39
Farelo de Soja	1403	1306	1354	b	60	1370	1305	1338	b	48	1346	b	53
Níveis													
Médias	1414	a	1371	b		1384	1356						
Desvio Padrão	54	74				66	49						
Fitase													
Médias		1393	a				1370	b			1381		
Desvio Padrão		67					59				64		

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de Consumo diário médio de ração de 1513 ou 1500 g/dia, respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

4.3 PARÂMETROS ÓSSEOS

Os parâmetros ósseos estudados foram divididos em peso de cinzas na tíbia, porcentagem de cinzas na tíbia, peso de cinzas no dedo e porcentagem de cinzas no dedo.

4.3.1 Peso de Cinzas na Tíbia

Os valores de peso de cinzas na tíbia, expressos em mg, aos 21 dias de idade das aves, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase, são apresentados na tabela 6, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 6. A média geral referente ao peso de cinzas na tíbia foi de 1663 mg e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de ganho de peso de 1210 ou 1546 mg, respectivamente.

O peso de cinzas na tíbia das aves alimentadas com as fontes estudadas, de acordo com a análise de variância (Tabela 10), apresentou diferença ($P<0,05$) independentemente de níveis de fósforo e adição de fitase. Aos 21 dias de idade (Tabela 6), o valor de peso de cinzas na tíbia foi mais elevado ($P<0,05$) com o uso de cevada (1733 mg), e os valores mais baixos foram obtidos com o uso de fosfato bicálcico (1646 mg), milho (1645 mg) ou farelo de soja (1630 mg).

Observou-se efeito de níveis de fósforo ($P<0,01$) no peso de cinzas na tíbia (Tabela 10), independentemente de fonte de fósforo e adição de fitase. O peso de cinzas na tíbia das aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) foi de 1378 mg, ao se utilizar o nível de 0,05% de fósforo suplementar este ganho foi de 1604 mg, enquanto que para o incremento de 0,10% de fósforo suplementar foi de 1723 mg.

Houve efeito de adição de fitase ($P<0,01$) no peso de cinzas na tíbia (Tabela 10), independentemente de fonte, ou níveis de fósforo. Com a adição de fitase, houve incremento ($P<0,05$), de 14,64% nos valores de peso de cinzas na tíbia (1550 vs 1777 mg).

Houve efeito de interação ($P<0,01$) entre as fontes de fósforo e adição de fitase, para o peso de cinzas na tíbia das aves, indicando que o efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas. Na ausência de fitase, o mais elevado valor de peso de cinzas na tíbia ($P<0,05$) foi encontrado com o uso de cevada (1706 mg) e o valor observado com o uso de farelo de soja (1482 mg) não diferiu dos valores observados com o fosfato bicálcico (1575 mg) ou milho (1436 mg), sendo que estes diferiram ($P<0,05$) entre si pelo teste de Duncan. Com o uso de fitase, o peso de cinzas na tíbia foi maior ($P<0,05$) com o uso de milho (1855 mg) em relação às aves suplementadas com fosfato bicálcico (1718 mg), sendo que estes valores não diferiram, pelo teste de Duncan, daqueles observados com o uso da cevada (1759 mg) ou do farelo de soja (1777 mg).

Não houve efeito de interação entre nível de fósforo suplementar e adição de fitase para o peso de cinzas na tíbia das aves. Entretanto, com adição de fitase, observou-se melhora ($P<0,05$) no peso de cinzas na tíbia quando o nível de fósforo suplementar foi incrementado de 0,05% (1691 mg) para 0,10% (1863 mg).

Tabela 6 - Peso das cinzas na tíbia das aves aos 21 dias de idade, mg ^{(1) (2)}

Fonte de P	Fitase, FTU/kg												Geral	
	0						750							
	P suplementar, % 0,05		Desvio Padrão		P suplementar, % 0,05		Desvio Padrão		Médias		Desvio Padrão		Médias	Desvio Padrão
Fosfato	1510	1639	1575 b	121	1672	1764	1718 b	104	1646 b	132				
Milho	1423	1448	1436 c	66	1770	1940	1855 a	110	1645 b	234				
Cevada	1676	1735	1706 a	112	1650	1869	1759 ab	191	1733 a	153				
Farelo de Soja	1453	1512	1482 bc	99	1673	1881	1777 ab	157	1630 b	198				
Níveis														
Médias	1516	1583			1691 b	1863 a								
Desvio Padrão	139	142			105	132								
Fitase														
Médias		1550 b			1777 a				1663					
Desvio Padrão		142			147				184					

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de cinzas na tíbia de 1210 ou 1546 mg respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

4.3.2 Porcentagem de Cinzas na Tíbia

Os valores de porcentagem de cinzas na tíbia, aos 21 dias de idade das aves, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase, são apresentados na tabela 7, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 7. A média geral referente à porcentagem de cinzas na tíbia foi de 32,10% e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração apresentaram valores de ganho de peso de 27,52 ou 30,68 %, respectivamente.

A porcentagem de cinzas na tíbia das aves alimentadas com as fontes estudadas, de acordo com a análise de variância (Tabela 10), apresentou diferença ($P<0,01$) independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase. Aos 21 dias de idade (Tabela 7), os valores mais elevados ($P<0,05$) de porcentagem de cinzas na tíbia foram encontrados para as aves alimentadas com fosfato bicálcico (33,81%) ou cevada (32,78%) e os valores mais baixos ($P<0,05$) foram observados com o uso de milho (30,88 %) ou de farelo de soja (30,94 %).

Observou-se efeito de níveis de fósforo ($P<0,05$) na porcentagem de cinzas na tíbia (Tabela 10), independentemente de fonte de fósforo e adição de fitase. A porcentagem média de cinzas na tíbia das aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) foi de 29,00%, ao se utilizar o nível de 0,05% de fósforo suplementar este valor foi de 31,65%, enquanto que para o incremento de 0,10% de fósforo suplementar foi de 32,56%.

Houve efeito de adição de fitase ($P<0,01$) na porcentagem de cinzas na tíbia (Tabela 10), independentemente de fonte de fósforo e níveis de fósforo. Com a

adição de fitase, houve um incremento ($P<0,05$) de 10,90% nos valores de porcentagem de cinzas na tíbia (30,52% vs 33,69%).

A análise de variância revelou interação ($P<0,01$) entre fontes de fósforo e adição de fitase, para porcentagem de cinzas na tíbia, indicando que o efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas. Na ausência de fitase, os valores mais elevados ($P<0,05$) de porcentagem de cinzas na tíbia foram encontrados para as aves que alimentadas com fosfato bicálcico (32,69%) ou cevada (32,37%), e os valores mais baixos foram obtidos com o uso de farelo de soja (29,20%) ou de milho (27,83%). Com o uso de fitase, os valores de porcentagem de cinzas na tíbia das aves foram mais elevados ($P<0,05$) com o uso de fosfato bicálcico (34,94%) ou milho (34,00%) e os valores mais baixos foram observados com o uso do farelo de soja (32,68%) ou da cevada (33,19%), sendo que estes não diferiram ($P<0,05$) dos valores encontrados com o uso de milho.

Desta forma, o incremento no valor de porcentagem de cinzas na tíbia obtido com a adição de fitase, foi de 6,88% para o fosfato bicálcico (32,69 vs 34,94%), 22,17% para o milho (27,83 vs 34,00%), 2,53% para a cevada (32,37 vs 33,19%) e 11,92% para o farelo de soja (29,20 vs 32,68%).

Tabela 7 - Porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 21 dias de idade, % ^{(1) (2)}

Fonte de P	Fitase, FTU/kg												Geral	
	0						750							
	P suplementar, % 0,05		P suplementar, % 0,10		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, % 0,05		P suplementar, % 0,10		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
Fosfato	30,39	34,98	32,69	a	2,99	34,72	35,16	34,94	a	1,24	33,81	a	2,50	
Milho	27,82	27,84	27,83	b	1,29	34,11	33,77	34,00	ab	1,38	30,88	b	3,41	
Cevada	32,40	32,35	32,37	a	1,46	32,10	34,28	33,19	b	1,72	32,78	a	1,60	
Farelo de Soja	29,13	29,27	29,20	b	1,90	32,54	32,82	32,68	b	0,60	30,94	b	2,26	
Níveis														
Médias	29,93	31,11				33,37	34,00							
Desvio Padrão	2,15	3,38				1,51	1,48							
Fitase														
Médias		30,52	b				33,69	a			32,10			
Desvio Padrão		2,85					1,51				2,77			

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores médios de Porcentagem de cinzas na tíbia de 27,52 ou 30,68 %, respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

4.3.3 Peso de Cinzas no Dedo

Os valores de peso de cinzas no dedo, expressos em mg, aos 21 dias de idade das aves de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase, são apresentados na tabela 8, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 8. A média geral referente ao peso de cinzas no dedo foi de 104 mg e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração apresentaram valores de peso de cinzas no dedo de 60 ou 91 mg, respectivamente.

A análise de variância (Tabela 10) demonstrou efeito de adição de fitase ($P<0,01$) no peso de cinzas no dedo, independentemente de fonte de fósforo e níveis de fósforo suplementar. Com a adição de fitase, houve incremento ($P<0,05$) de 16,67% nos valores do peso de cinzas no dedo (96 vs 112 mg).

Houve efeito de interação ($P<0,01$) entre as fontes de fósforo e adição de fitase, para o peso de cinzas no dedo das aves, indicando que o efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas. Com a adição de fitase, o peso de cinzas no dedo das aves foi mais baixo ($P<0,05$) com a utilização de cevada (93 mg) e os mais elevados ($P<0,05$) valores de peso das cinzas no dedo foram obtidos com o uso de milho (128 mg), fosfato bicálcico (116 mg) ou farelo de soja (114 mg).

Desta forma com a adição de fitase houve incremento no peso de cinzas no dedo das aves de 7,41% para o fosfato bicálcico (108 vs 116 mg), 47,13% para o milho (87 vs 128 mg) e 34,12% para o farelo de soja (85 vs 114 mg), com exceção do uso da cevada que causou uma redução de 9,71% (103 vs 93 mg) no peso de

cinzas no dedo das aves.

Tabela 8 - Peso das cinzas no dedo das aves aos 21 dias de idade, mg ⁽¹⁾ ⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg												Geral	
	0				750									
	P suplementar, % 0,05	P suplementar, % 0,10	Médias	Desvio Padrão	P suplementar, % 0,05	P suplementar, % 0,10	Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão		
Fosfato	101	114	108	10	116	116	116 a	12	112	11				
Milho	82	92	87	18	130	125	128 a	5	107	25				
Cevada	100	107	103	17	94	92	93 b	30	98	24				
Farelo de Soja	78	92	85	31	107	120	114 a	17	99	28				
Níveis														
Médias	90	101			112	113								
Desvio Padrão	20	23			18	25								
Fitase														
Médias		96 b			112 a				104					
Desvio Padrão		22			22				23					

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de cinzas no dedo de 60 ou 91 mg, respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

4.3.4 Porcentagem de Cinzas no Dedo

Os valores de porcentagem de cinzas no dedo, aos 21 dias de idade das aves de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase são apresentados na tabela 9, e aqueles referentes às aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da tabela 9. A média geral referente à porcentagem de cinzas no dedo foi de 9,02 % e as aves que receberam as dietas basais ($P=0,40\%$) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de porcentagem de cinzas no dedo de 5,98 ou 8,42 %, respectivamente.

A análise de variância demonstrou efeito de adição de fitase ($P<0,05$) na porcentagem de cinzas no dedo (Tabela 10), independentemente de fonte de fósforo e níveis de fósforo suplementar. Com a adição de fitase, houve incremento ($P<0,05$) de 11,24% nos valores de porcentagem de cinzas no dedo (8,54 vs 9,50%).

Não houve efeito de interação entre as fontes de fósforo e adição de fitase para porcentagem de cinzas no dedo. Entretanto, na ausência de fitase, o valor de porcentagem de cinzas no dedo mais elevado ($P<0,05$) foi obtido com o uso de fosfato bicálcico (9,77%) e o valor mais baixo com o uso de farelo de soja (7,63 %), sendo que tais valores não diferiram dos valores encontrados com o uso de cevada (8,78%) ou milho (7,98%).

Tabela 9 - Porcentagem de cinzas no dedo das aves aos 21 dias de idade, % ^{(1) (2)}

Fonte de P	Fitase, FTU/kg.										Geral	
	0					750						
	P suplementar, % 0,05	P suplementar, % 0,10	Médias	Desvio Padrão		P suplementar, % 0,05	P suplementar, % 0,10	Médias	Desvio Padrão		Médias	Desvio Padrão
Fosfato	9,08	10,45	9,77	a	0,88	10,30	10,01	10,16	0,58		9,96	0,75
Milho	7,69	8,28	7,98	ab	1,61	9,18	10,13	9,66	1,76		8,82	1,84
Cevada	8,94	8,63	8,78	ab	1,36	9,42	7,96	8,69	2,80		8,74	2,12
Farelo de Soja	7,46	7,79	7,63	b	2,65	9,27	9,71	9,49	1,23		8,56	2,22
Níveis												
Médias	8,29	8,79				9,54	9,45					
Desvio Padrão	1,76	2,00				1,72	1,89					
Fitase												
Médias		8,54	b				9,50	a			9,02	
Desvio Padrão		1,86					1,78				1,87	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de porcentagem de cinzas no dedo de 5,98 ou 8,42 % respectivamente.

⁽²⁾ Médias com letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

Tabela 10 - Análise de variância do ganho de peso consumo de ração, conversão alimentar, cinzas na tíbia (mg), cinzas na tíbia (%) cinzas no dedo (mg) e cinzas no dedo (%) das aves aos 21 dias de idade (quadrados médios)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Ganho de peso, g/dia.	Consumo de ração, g/dia.	Conversão alimentar, g/Kg.	Cinzas na tíbia, mg.	Cinzas na tíbia, %.	Cinzas no dedo, mg.	Cinzas no dedo, %.
Tratamentos	15	13,74 **	12,17 **	11277 **	103594 **	24,86 **	921 *	3,78
Fonte de P (FP)	3	23,90 **	11,22 *	39315 **	34899 *	33,13 **	674	6,51
Nível de P (NP)	1	64,12 **	40,04 *	19916 *	230160 **	13,21 *	606	0,65
Fitase (FT)	1	8,32	1,68	8033 *	829466 **	160,40 **	4406 **	14,72 *
FP * NP	3	11,39 **	14,83 *	4078	1536	5,66	112	2,18
FP * FT	3	5,12	12,57 *	423	104889 **	20,17 **	1994 **	3,66
NP * FT	1	0,05	1,55	923	43681	1,15	366	1,37
FP * NP * FT	3	4,11	7,47	2947	8877	7,07 *	34	0,95
Resíduo	48	2,52	3,72	1814	11887	2,27	416	3,41
Total	63							

** efeito significativo (P<0,01)

* efeito significativo (P<0,05)

4.4 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES

A tabela 11 apresenta as equações de regressão, coeficientes de determinação e valores calculados para biodisponibilidade relativa de fósforo (BRP) para cada uma das fontes avaliadas. Os valores são apresentados separadamente para cada um dos níveis de adição de fitase, 0 ou 750 FTU/kg de ração, e foram calculados a partir dos dados de ganho de peso, peso de cinzas na tíbia e peso de cinzas nos dedos médios das aves. Assim, baseado nos valores médios dos coeficientes de determinação para cada uma das três variáveis, o peso de cinzas na tíbia das aves foi escolhido como parâmetro indicador para o cálculo de BRP.

Os valores de BRP estão apresentados na tabela 11, e foram calculados por regressão dos valores de cinzas na tíbia (mg) em função dos níveis de fósforo suplementar ingerido. Para cálculo de todas as equações de regressão, utilizou-se como “intercept” comum o resultado obtido com o emprego da dieta basal (tratamento 1), contendo 0 % de fósforo suplementar e 0 FTU/kg de ração. Para obtenção dos valores de BRP, a inclinação da curva de regressão de cada ingrediente testado (sem ou com adição de fitase) foi dividida pela inclinação da linha de regressão da fonte de fósforo padrão, sem adição de fitase.

Considerando o delineamento experimental estabelecido, e o arranjo de tratamentos empregado, foi possível calcular estimativas da quantidade de fósforo liberada, para a função biológica específica (mineralização óssea), pelo uso da fitase para cada ingrediente estudado (g de fósforo biodisponível/kg de ingrediente).

Tabela 11 - Disponibilidade relativa de fósforo com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tibia (mg) e cinzas no dedo (mg) – equações de regressão em função de fósforo suplementar ingerido (mg/dia), coeficientes de determinação e disponibilidade relativa para as diferentes fontes com adição de 0 ou 750FTU de fitase/kg de ração

Fontes P	Fitase, FTU/kg			
	0		750	
	Y = a + bx	Coeficiente de Determinação	Y = a + bx	Coeficiente de Determinação
		Disponibilidade relativa		Disponibilidade relativa
Ganho de peso, g/dia.				
Fosfato	26,56+34,92x	26,59	26,72+35,85x	56,61
Milho	26,62+47,62x	66,07	26,97+70,32x	75,69
Cevada	26,73+75,32x	79,85	25,94+85,10x	86,87
Farelo de Soja	25,80+71,85x	83,09	26,43+69,90x	86,62
		100,0		102,6
		136,4		201,4
		215,7		243,7
		205,7		199,3
Cinzas na tibia, mg.				
Fosfato	1239+4288x	72,58	1272+5538x	74,76
Milho	1241+2375x	52,45	1275+7295x	85,40
Cevada	1278+5248x	68,13	1247+6585x	77,38
Farelo de Soja	1241+3018x	56,85	1253+6708x	83,20
		100,0		129,1
		55,4		170,1
		122,4		153,6
		70,4		156,4
Cinzas no dedo, mg.				
Fosfato	64,54+545x	77,46	69,17+560x	59,26
Milho	61,96+322x	35,43	72,25+655x	61,95
Cevada	65,21+472x	54,39	65,92+320x	12,58
Farelo de Soja	60,46+328x	15,55	65,46+602x	67,36
		100,0		103,2
		59,4		120,7
		87,1		59,0
		60,4		111,1

4.4.1 Farelo de Soja

Sem a adição de fitase à dieta das aves, a BRP para o farelo de soja foi calculada em 70,4%, sendo a equação de regressão $y=1241+3018x$ ($r^2=56,85$). O que resulta, para 0,57% de fósforo total, em um valor equivalente a 0,40% de fósforo biodisponível. Com a adição de 750 UFT/kg de ração, o valor de BRP para o farelo de soja foi calculado em 156,4%, sendo a equação de regressão $y=1253+6708x$ ($r^2=83,20$). O que resulta, para 0,57 % de fósforo total, em um valor equivalente a 0,89% de fósforo biodisponível.

4.4.2 Milho

Sem a adição de fitase à dieta das aves, a BRP para o milho foi calculada em 55,4%, sendo a equação de regressão $y=1241+2375x$ ($r^2=52,45$). O que resulta, para 0,22% de fósforo total, em um valor equivalente a 0,12% de fósforo biodisponível. Com a adição de 750 UFT/kg de ração, o valor de BRP para o milho foi calculado em 170,1%, sendo a equação de regressão $y=1275+7295x$ ($r^2=85,40$). O que resulta, para 0,22% de fósforo total, em um valor equivalente a 0,37% de fósforo biodisponível.

4.4.3 Cevada

Sem a adição de fitase à dieta das aves, a BRP para a cevada foi calculada em 122,4%, sendo a equação de regressão $y=1278+5248x$ ($r^2=68,13$). O que resulta, para 0,42% de fósforo total, em um valor equivalente a 0,51% de fósforo biodisponível. Com a adição de 750 UFT/kg de ração, o valor de BRP para a cevada foi calculado em 153,6%, sendo a equação de regressão $y=1247+6585x$ ($r^2=77,38$). O que resulta, para 0,42% de fósforo total, em um valor equivalente a 0,64% de fósforo biodisponível.

5 DISCUSSÃO

A discussão foi organizada nos tópicos a seguir.

5.1 DESEMPENHO ANIMAL

Para fim de melhor compreensão o desempenho animal foi desmembrado nos seguintes subtópicos.

5.1.1 Ganho de peso

Os resultados apresentados na tabela 3 indicam que houve efeito das diferentes fontes de fósforo estudadas, independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase para o ganho de peso. Os valores de ganho de peso obtidos com o uso de milho, cevada ou farelo de soja não diferiram entre si, e foram superiores ao valor obtido com uso do fosfato bicálcico. Utilizando 0,05 ou 0,10% de fósforo suplementar, foi observado um aumento no ganho de peso das aves, independente de níveis de fitase e fontes de fósforo. Não foi observada diferença entre os valores de ganho de peso com ou sem adição de fitase.

Os resultados do presente trabalho, diferem dos de Nahas e Lefrançois

(2001), que não identificaram diferença no ganho de peso das aves de 1 a 21 dias de idade, utilizando diferentes níveis de inclusão de farelo de soja e cevada, nas dietas de frangos de corte.

Os resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Meister (2001) que descreveu ganhos de peso com a utilização de milho (23,13 g/dia) superiores aos observados com o fosfato bicálcico (20,67 g/dia).

Ainda em concordância com os resultados deste trabalho, Salmeron (2001), observou efeito de fontes de fósforo para dieta basal, milho e sorgo, independentemente dos níveis de fósforo, e ainda, observou efeito de nível de fósforo, independentemente das fontes de fósforo, para o ganho de peso.

Keshavarz (2003), utilizou diferentes níveis de fósforo disponível (0,15; 0,25; 0,34%) nas dietas de frangas durante o período de crescimento, e demonstrou que houve um impacto negativo no ganho de peso quando o fósforo disponível foi reduzido de 0,34% para 0,15%, o mesmo não ocorreu para o nível de 0,25% quando comparado com a dieta controle (0,34%).

Assim como no presente estudo, Lima et al. (2002), demonstraram um aumento no ganho de peso de 5,01% e 6,58% quando utilizados os níveis de 0,45% e 0,50% de P total, comparados ao nível de 0,40% de fósforo total. Com a adição de fitase (750 FTU/kg de ração), o aumento no ganho de peso foi de 11,66% para o nível de 0,45% de P total e de 18% para o nível de 0,50% de P total, em relação ao nível de 0,40% de fósforo total.

Viveros et al. (2002), utilizaram diferentes níveis de fósforo nas dietas de frangos de corte (0,71; 0,61; 0,49% de P total) durante o período de 1 a 21 dias de idade das aves e demonstraram que houve uma diminuição de 15,1% e de 13,6% no valor de ganho de peso quando utilizado os níveis de 0,49% e 0,61% de P total,

comparado aos níveis de fósforo dentro das exigências nutricionais das aves.

Rama-Rao, Reddy e Reddy (1999), citam que a redução do fósforo total na dieta de frangos de corte de 4,5 para 3,0 g/kg diminuem o ganho de peso em 17,3%.

No presente trabalho, não foi observado melhora no ganho de peso das aves com a adição de fitase às dietas. O mesmo resultado foi observado por Tejedor et al. (2001), quando trabalharam com pintos de corte de 1 a 25 dias de idade, com uma dieta à base de milho e farelo de soja com níveis normais de fósforo disponível (0,45%) e baixo (0,33%), e com 3 níveis de adição de fitase (0, 500 e 750 FTU/kg de ração), a adição de fitase melhorou o ganho de peso em 3,4% para o nível de 500 FTU/kg de ração e em 2,8% para o nível de 750 FTU/kg de ração.

Da mesma forma que o presente estudo, Zyla et al. (2001) não observou melhora no ganho de peso das aves com a adição de fitase, quando trabalharam com frangos de corte, alimentados com uma ração à base de trigo e milho com baixo nível de fósforo, suplementado ou não com fitase microbiana (750 FTU/kg de ração).

Hayes et al. (1979), estudaram o efeito da inclusão de diversas fontes e níveis de fósforo no ganho de peso em aves durante o período de crescimento. Os resultados encontrados demonstram que o ganho de peso independente do nível de fósforo adicional foi menor para as aves que consumiram dietas com milho quando comparadas às aves que consumiram cevada. O mesmo foi observado no presente trabalho.

Lan et al. (2002), ao trabalharem com aves de 1 a 42 dias de idade, alimentadas com uma dieta à base de milho e farelo de soja, com 0,24% de fósforo disponível, suplementado com níveis crescentes de fitase (0, 250, 500, 750 e 1000 FTU/kg de ração) observaram diferença no ganho de peso (596, 674, 685, 689 e 699 g/ave) das aves aos 21 dias de idade em resposta aos níveis crescentes de fitase

adicionada.

A melhora no crescimento das aves com adição de fitase, parece ser devido à liberação de minerais e aminoácidos dos complexos fitato-mineral e utilização do inositol pelas aves (AHMAD et al., 2000), bem como na melhora da digestibilidade do amido, promovendo uma maior disponibilidade de nutrientes para aves.

Simons et al. (1990), sugerem que níveis marginais de fósforo nas dietas de frangos de corte não apresentam o mesmo efeito no ganho de peso e adição de fitase não é capaz de compensar as perdas causadas no desempenho das aves provocado pelos baixos níveis de fósforo nas dietas.

5.1.2 Consumo de Ração

Os resultados apresentados na tabela 4 indicam que o consumo de ração diferiu com o uso de fosfato bicálcico, milho, cevada ou farelo de soja, independentemente de níveis de fósforo suplementar e adição de fitase. Utilizando 0,05 ou 0,10% de fósforo suplementar, foi observado um aumento no consumo médio diário de ração, independente de adição de fitase e fontes de fósforo. Não foi observada diferença entre os valores de ganho de peso com e sem adição de fitase. Os valores de consumo de ração, encontrados com as distintas fontes avaliadas, foram influenciados pela adição de fitase, independentemente do nível de fósforo suplementar. O efeito de adição de fósforo suplementar à dieta foi diferente entre as distintas fontes avaliadas, independentemente da adição de fitase.

Assim como neste trabalho, Salmeron (2001), utilizou diferentes níveis

suplementares de fósforo (0; 0,10; 0,20; e 0,30%) em diferentes fontes orgânicas vegetais (dieta basal, milho e sorgo) e observou um aumento no consumo de ração com o aumento de nível de fósforo suplementar (34,48; 42,38; 45,18 e 48,97g/dia respectivamente).

Utilizando diferentes níveis de P suplementar em dietas com e sem adição de fitase, Viveros et al. (2002), encontraram valores de consumo de ração de 40,14 g e 36,86 g, respectivamente, em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas á base de milho e farelo de soja, utilizando 0,61 e 0,49% de fósforo total, resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho com 0,45 e 0,50 % de fósforo total na dieta sem adição de fitase, independente de fontes de fósforo (42,27 e 43,56 g/dia, respectivamente).

Da mesma foram que o presente estudo, Lan et al. (2002), estudaram os efeitos da inclusão de fitase no consumo de ração de frangos de corte, e observaram que as aves, que foram alimentadas com uma dieta com baixo nível de fósforo disponível sem adição de fitase, apresentaram um consumo de ração inferior ao dos outros tratamentos com baixo nível de fósforo disponível com adição de níveis crescentes de fitase.

Ao contrario dos resultados encontrados neste trabalho, Lima et al. (2002), observaram que a adição de fitase independente da fonte utilizada e do nível de fósforo adicional promove um aumento no consumo de ração de 16% (37,53 vs 43,45 g/dia).

Adição da enzima fitase (500 e 750 FTU/kg de ração) não afetou o consumo de ração (TEJEDOR et al., 2001), porém as dietas com baixo nível de fósforo disponível promoveram consumo 2% mais elevado, semelhante aos resultados observados neste trabalho.

Sebastian et al. (1996) estudando dietas com diferentes níveis de fósforo e cálcio (0,63 e 0,95%; 0,48 e 1,05% e 0,44 e 0,58%, respectivamente), para frangos de corte de 0 a 14 dias de idade, não observaram efeito da adição de 0 ou 600 FTU/kg de ração no consumo médio diário de ração (32,21 vs 31,78 g; 28,28 vs 30,64 g; 30,57 vs 31,50 g; respectivamente a adição de fitase).

Kies, Van Hemert e Sauer (2001) e Waldroup et al. (2000), observaram que baixos níveis de fósforo na dieta de aves são fatores limitantes do consumo de rações pelas aves.

A adição de fitase aumentou a ingestão de alimento, mas a magnitude dessa resposta foi, geralmente, maior para as dietas com mais baixo nível de fósforo disponível (AHMAD et al., 2000).

5.1.3 Conversão Alimentar

Os resultados apresentados na tabela 5 indicam que houve efeito das diferentes fontes de fósforo estudadas, independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase para o ganho de peso. Os menores valores de conversão alimentar das aves foram observados para o uso de farelo de soja, milho ou cevada, sendo o maior valor e diferente do demais o com o uso do fosfato bicálcico. O maior valor de conversão alimentar foi com o nível de 0,05% de fósforo suplementar, independentemente das fontes estudadas e adição de fitase. A adição de fitase independente dos níveis de P suplementar e fontes de fósforo, reduziu os valores de conversão alimentar. Com ou sem adição de fitase o maior valor de conversão

alimentar apresentado pelas aves foi observado com o uso de fosfato bicálcico. A conversão alimentar reduziu quando o nível de fósforo suplementar aumentou de 0,05% para 0,10%.

Segundo estudos realizados por Lan et al. (2002), a conversão alimentar de frangos de corte no período de 1 a 21 dias foi melhorada pela inclusão de 500 U de fitase/kg de ração, a dieta com baixo nível de fósforo fítico, resultado este observado no presente trabalho.

Tejedor et al. (2001), trabalharam com frangos de corte de 1 a 25 dias de idade, com uma dieta a base de milho e farelo de soja com níveis de fósforo disponível de 0,45% e 0,33%, e com 3 níveis de adição de fitase (0, 500 e 750 FTU/kg de ração), a adição de fitase melhorou a conversão alimentar em 3%.

Os resultados obtidos estão de acordo com os encontrados por Perney et al. (1993), que observaram melhora na conversão alimentar de 1,65 a 1,36 para os diferentes níveis de fósforo disponível.

Utilizando diferentes níveis de fósforo total nas dietas de frangos de corte à base de farelo de trigo e milho (0,71 e 0,41% de P total), Zyla et al. (2001), demonstraram que o melhor resultado de conversão alimentar foi com o uso de 0,41% de P total (1,86 vs 1,97 g/g de ração).

Sebastian et al. (1996), quando adicionaram 600 FTU/kg de ração a uma dieta à base de milho e farelo de soja, com baixos níveis de fósforo total (0,50%) em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, demonstraram diferenças na conversão alimentar das aves (1500 vs 1490 g/kg), o mesmo não foi observado no presente estudo.

Ao contrário dos resultados obtidos neste trabalho, Yan et al. (2003), não encontraram diferenças significativas na conversão alimentar entre as aves que se

alimentaram de dietas deficientes em fósforo disponível, com e sem adição de fitase em qualquer idade. Os mesmos resultados foram encontrados por Ahmad et al. (2000) que não encontraram diferenças estatísticas para conversão alimentar em quaisquer das dietas utilizadas.

Johnston e Southern (2000) não observaram diferença na conversão alimentar quando utilizaram diferentes níveis de fitase (0, 200, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 ou 1200 FTU/kg de ração) nas dietas à base de milho e farelo de soja. Os mesmos resultados foram encontrados por Augspurger et al. (2003) e Sohail e Roland (1999).

5.2 PARÂMETROS ÓSSEOS

Para fim de melhor compreensão os parâmetros ósseos foram desmembrados nos seguintes subtópicos.

5.2.1 Peso de Cinzas na Tíbia

De acordo com os resultados expressos na tabela 7 o peso de cinzas na tíbia das aves com o uso de fosfato bicálcico, milho ou farelo de soja, não apresentaram diferença entre si, independentemente dos níveis de fósforo suplementar e adição de fitase, sendo inferiores ao valor encontrado com o uso da cevada.

Independentemente das fontes de fósforo avaliadas e de adição de fitase, houve um aumento no peso de cinzas na tíbia ao adicionar 0,05 ou 0,10% de fósforo. A adição de fitase incrementou em 14,64% os valores de peso de cinzas na tíbia, independentemente de fontes de fósforo e níveis de fósforo suplementar. O efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas, independentemente de níveis de fósforo suplementar. O peso de cinzas na tíbia quando o nível de fósforo suplementar aumentou de 0,05% para 0,10%, foi influenciado pela adição de fitase.

Os resultados deste trabalho estão de acordo com os encontrados por Shirley e Edwards (2003), que estudaram diferentes níveis de fitase (0; 93,75; 187,5; 375; 750; 1500; 3000; 6000; 12000 FTU/kg de ração) e observaram um aumento significativo no peso de cinzas por tíbia de até 104,5% (6000 FTU/kg de ração), em frangos de corte.

Hall et al. (2003), utilizaram diferentes níveis de fitase (0 e 750 FTU/kg de ração) em rações de frangos de corte à base de milho e farelo de soja, e observaram que o peso da tíbia das aves aumentou em 11,20% com a adição de 750 FTU/kg de ração (629,9 vs 566,5 mg respectivamente).

Augspurger et al. (2003) estudaram a adição de 500 FTU/kg de ração provenientes de enzimas comerciais, em dietas com baixo fósforo total (0,35 ou 0,37%) e suplementação de diferentes níveis de fósforo inorgânico (0,05 ou 0,10%) em frangos de corte, alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja. O incremento de 0,05% no fósforo inorgânico melhorou em 27,80% o peso de cinzas por tíbia e adição de fitase microbiana melhorou em 39,55% o peso de cinzas por tíbia. No presente estudo, a adição de 750 FTU/kg de ração, melhorou em 14,64% o peso de cinzas na tíbia (1777 vs 1550 mg).

Lima et al. (2002), observaram que a adição de fitase independente da fonte

utilizada e do nível de fósforo adicional promove uma melhora no peso de cinzas da tíbia de 25% (2197 vs 1751 mg), resultados acima dos encontrados neste trabalho (incremento de 14,64%).

Rama-Rao, Reddy e Reddy (1999), estudaram a ação dos níveis de fitase (250 ou 500 FTU/kg de ração) em parâmetros ósseos e desempenho de frangos de corte, em dietas à base de milho e farelo de soja com baixo nível de fósforo (0,30% P total) e observaram uma melhora no peso de cinzas na tíbia de 2,84% para 500 FTU/kg de ração e de 1,90% para 250 FTU/kg de ração, comparado à dieta basal sem adição de fitase.

5.2.2 Porcentagem de Cinzas na Tíbia

Baseado nos resultados apresentados na tabela 6, a porcentagem de cinzas na tíbia foi diferente entre as fontes avaliadas, independentemente dos níveis de fósforo suplementar e adição de fitase. A suplementação de 0,10% de P nas dietas melhorou em 32,56% a porcentagem de cinzas na tíbia das aves, independentemente de fontes de fósforo e níveis de fitase. A adição de fitase à dieta incrementou em 10,90% os valores de porcentagem de cinzas na tíbia. O efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas, independentemente de níveis de fósforo suplementar.

Lan et al. (2002), constataram que a suplementação de fitase à dietas com baixo nível de fósforo disponível aumenta significativamente a porcentagem de cinzas na tíbia, sendo esta comparada a de aves que foram alimentadas com dietas

onde o nível de fósforo era adequado, resultados estes de acordo com os obtidos no presente estudo.

Denbow et al. (1995) estudando diferentes níveis de fósforo disponível e fitase demonstraram que a porcentagem de cinzas na tíbia é melhorada conforme há aumento nos níveis de fósforo disponível e fitase microbiana em dietas semi-purificadas para frangos de corte à base de farelo de soja. Utilizando o nível de 600 FTU/kg de ração, foram encontrados os valores de porcentagem de cinzas na tíbia de 33,10; 37,40 e 38,1% para os níveis de fósforo disponível de 0,20; 0,27 e 0,34%, respectivamente. Estes valores determinaram um incremento no teor de cinzas na tíbia de 12,60; 14,72 e 7,93%, respectivamente aos níveis de fósforo disponível. Estes resultados estão semelhantes aos encontrados neste estudo, onde a adição de fitase com baixo nível de fósforo total (0,45 ou 0,50%) melhorou a porcentagem de cinzas na tíbia em 11,49% (33,37 vs 29,93%) e 9,29 % (34,00 vs 31,11%) respectivamente.

Yan et al. (2003), observaram que níveis de fósforo disponíveis iguais a 0,37%, com e sem adição de fitase, provocam significativa redução nas cinzas da tíbia (42,73%) quando comparado aos valores encontrados com níveis de 0,45% de fósforo disponível (44,02%) e 0,50% de fósforo disponível (43,45%).

Utilizando frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, Hall et al. (2003) demonstraram efeito da adição de diferentes níveis de fitase (0, 750, 1500, 3000 e 6000 FTU/kg de ração), em uma dieta à base de milho e farelo de soja na mineralização óssea das aves. Com adição de 750 FTU/kg de ração, houve um incremento de 17,17% na porcentagem de cinzas na tíbia, resultados acima dos encontrados com o presente estudo (incremento de 10,39%).

Hayes et al. (1979), estudaram o efeito da inclusão de diversas fontes e níveis

de fósforo na porcentagem de cinzas ósseas das aves. Os resultados encontrados demonstram que a porcentagem de cinzas ósseas independente do nível de fósforo adicional foi 20,10% para as aves que consumiram dietas com milho e 23,30% para as aves que consumiram dietas com cevada. No presente trabalho os valores de porcentagem das cinzas ósseas foram para o milho (30,88%) e cevada (32,78%).

5.2.3 Peso de Cinzas no Dedo

De acordo com os resultados expressos na tabela 9, com a adição de fitase, houve um incremento de 16,67% nos valores de peso de cinzas do dedo. O efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas, independentemente dos níveis de fósforo suplementar. Desta forma com a adição de fitase houve um incremento no peso de cinzas no dedo das aves de 7,41% para o fosfato bicálcico, 47,13% para o milho e 34,12% para o farelo de soja, com exceção do uso da cevada que causou uma redução de 9,71%.

Denbow et al. (1998), trabalharam com diferentes níveis de fósforo disponível (0, 08, 0,16 e 0,24%) e diferentes níveis de fitase (400, 800 e 1200 FTU/kg de ração), demonstraram a melhora de até 35% no peso de cinzas dos dedos médios de frangos de corte. No presente estudo, a melhora no peso de cinzas no dedo das aves alimentadas com as dietas adicionadas de fitase foi de 16,67% (112 vs 96 mg).

Zhang et al. (2000), encontraram resultados onde a adição de 250 a 2500 FTU/kg de ração foi capaz de aumentar em 14,7% a 27,6% o peso de cinzas no dedo médio dos frangos de corte alimentados com dietas de baixos níveis de fósforo

total (0,46%) à base de milho, farelo de soja e farelo de canola.

Lima et al. (2002), observaram que a adição de fitase independente da fonte utilizada e do nível de fósforo adicional promove uma melhora no peso de cinzas do dedo de 39% (135 vs 96 mg).

De acordo com Ahmad et al. (2000), a adição de 1075 FTU/kg de ração não melhorou o peso de cinzas nos dedos das aves em dietas à base de milho, farelo de soja, farelo de arroz e glúten de milho.

Foi observado que a adição de fitase não demonstrou efeito na cevada. O mesmo comportamento foi observado no peso de cinzas na tíbia das aves, demonstrando o efeito da fitase endógena presente na cevada (VIVEIROS et al., 2000).

5.2.4 Porcentagem de Cinzas no Dedo

De acordo com os resultados expressos na tabela 8 houve efeito de adição de fitase na porcentagem de cinzas no dedo, independente de fonte, ou níveis de fósforo. Com a adição de fitase, houve um incremento de 11,24% nos valores de porcentagem de cinzas no dedo. Na ausência de fitase, os maiores valores de porcentagem de cinzas no dedo foram obtidos com as aves que foram alimentadas com fosfato bicálcico, cevada ou milho, e o menor valor foi encontrado com o farelo de soja.

Yi et al. (1996) trabalharam com níveis crescentes de fitase (0, 350, 700 e 1.050 FTU/kg de ração) e observaram um incremento de 8 a 18% na porcentagem

de cinzas no dedo com o uso da fitase em uma ração semi-purificada à base de amido e farelo de soja e outra à base de milho e farelo de soja. Estes resultados estão de acordo com o presente trabalho.

Nos trabalhos de Meister (2001) e Salmeron (2001) com níveis de fósforo suplementar de 0,05 e 0,10%, os resultados obtidos para porcentagem de cinzas no dedo não diferiram estatisticamente entre si, da mesma forma que o presente trabalho.

Denbow et al. (1998), demonstraram que a porcentagem de cinzas no dedo médio de frangos melhorou de 20 a 45% com o uso de níveis crescentes de fósforo disponível (0,08; 0,16 e 0,24%) e de 12 a 21,30% com níveis crescentes de fitase microbiana (400, 800 ou 1200FTU/kg de ração) das aves, em dietas à base de milho e farelo de soja.

Zhang et al. (2000) estudando a adição de diferentes níveis de fitase (0, 250, 500 ou 2500 FTU/kg de ração) em dietas com baixo fósforo total (0,46%) à base de milho, farelo de soja e canola para frangos de corte, encontraram os valores de porcentagem de cinzas no dedo médio das aves de 11,10% para a dieta basal e a variação de 11,20 a 12,40% para os crescentes níveis de fitase adicionada.

5.3 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES

O parâmetro considerado mais confiável para estimar a biodisponibilidade relativa de fósforo (BRP), baseado nos valores dos coeficientes de determinação (r^2), foi o peso de cinzas na tíbia (mg), seguido do ganho de peso e por último o peso

de cinzas nos dedos médios.

Segundo Zhang et al. (2000), parâmetros de desempenho animal (conversão alimentar ou ganho de peso) utilizados para o cálculo da BRP, são influenciados por fatores inerentes ao ambiente e indivíduo, como temperatura ambiental, idade das aves, pH intestinal e viscosidade da dieta, resultando em baixos valores de r^2 e baixa acurácia nas equações para o cálculo da BRP.

Hall et al. (2003), citam que apesar da porcentagem de cinzas ósseas serem rotineiramente utilizada para medir a mineralização óssea, o peso de cinzas na tíbia é um indicador mais sensível quanto à acurácia e valores de r^2 das equações para o cálculo da BRP.

Os valores de BRP calculados com base no peso de cinzas na tíbia, variaram entre 55,4 e 122,4% sem a presença de fitase na dieta. Com a adição de fitase às dietas experimentais, a BRP passou a variar entre 153,6 e 170,1%.

5.3.1 Biodisponibilidade Relativa do Fósforo sem adição de fitase

A julgar pela BRP dos ingredientes estudados, nota-se que os mais elevados valores de biodisponibilidade relativa foram calculados para a cevada (122,4%), seguidos pelo farelo de soja (70,4%) e milho (55,4%).

Segundo Viveros et al. (2000), altos níveis de fitase endógena encontrados na cevada são capazes de hidrolisar a molécula de fitato de penta para monofosfato de mioinositol, tornando o fósforo mais disponível ao animal que em outras fontes vegetais.

Hayes et al. (1979) calcularam a BRP baseado nos valores de resistência a quebra da tíbia empregando como padrão o fosfato monossódico, sendo os valores encontrados para o milho de 12% e para cevada de 50%, valores inferiores aos encontrados no presente estudo. Por outro lado, Meister (2001) encontrou uma BRP de 60 % para o milho calculada com base em cinzas ósseas, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho.

Huang e Alee (1981), reportaram BRP de 33% para o milho, calculada com base em cinzas óssea, empregando como padrão o fosfato monossódico. Valor este que é próximo ao referido pelo National Research Council (1994) de 29%.

Sands et al. (2003) calcularam o valor de 36% de BRP, baseado em peso de cinzas na tíbia com o uso do farelo de soja, empregando dietas semi-purificadas com baixo níveis de fósforo total sem a adição de fitase para frangos de 21 dias de idade, valor este semelhante ao encontrado por Lima et al. (2002), de 38% para o farelo de soja sem adição de fitase e ao valor preconizado pelo National Research Council (1994), de 35%.

Segundo Ahmad et al. (2000), a retenção de fósforo pelas aves tem correlação direta com a disponibilidade biológica de fósforo. De acordo com os autores, a retenção de fósforo calculada para uma dieta a base de milho e farelo de soja para frangos de corte foi de 43,3%. Angel et al. (2003), determinaram 30,8% de retenção total de fósforo para aves alimentadas com dietas semipurificadas a base de farelo de soja. Leske e Coon (2002), determinaram que a retenção de fósforo total sem adição de fitase foi de 34,8% para o milho, 27,0% para o farelo de soja e 40,3% para a cevada.

5.3.2 Biodisponibilidade Relativa do Fósforo com adição de fitase

Com o uso de 750 FTU/kg de ração, a BRP calculada para o milho foi de 170,1%, seguido pelo farelo de soja 156,4% e da cevada 153,6%.

O uso da enzima aumentou a biodisponibilidade de fósforo do milho em 207,0% (170,1 vs 55,4%), do farelo de soja em 122,2% (156,4 vs 70,4%) e da cevada em 25,5% (153,6 vs 122,4%). Este efeito da fitase, menos intenso sobre a BRP da cevada, pode ser explicado pela presença de fitase endógena neste grão agindo nas moléculas de fitato (GARCIA-ESTEPA; GUERRA-HERNANDEZ; GARCIA-VILLANOVA, 1999).

Lima et al. (2002), observaram que a biodisponibilidade relativa de fósforo para o farelo de soja foi 206% com adição de fitase, resultado este semelhante ao do presente trabalho.

A BRP do milho com o uso da enzima, de acordo com Meister (2001), aumentou em 125% (60 vs 135%), resultado inferior ao encontrado no presente estudo.

Cromwell et al. (1993), relatam que a biodisponibilidade de fósforo em dietas a base de milho e farelo de soja é aumentada quando fitase é incluída (45 vs 15%).

Leske e Coon (2002), determinaram que a retenção de fósforo total com adição de fitase é de 40,9% para o milho, 58,0 % para o farelo de soja e 55,5% para a cevada.

6 CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho e de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

1. Os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo, calculados com base na regressão dos valores de peso de cinzas na tíbia, em função dos níveis de fósforo suplementar ingerido, variaram entre as fontes de fósforo testadas, bem como de acordo com o uso ou não de fitase na dieta.
2. O peso de cinzas na tíbia mostrou ser o indicador mais sensível para o cálculo da biodisponibilidade relativa do fósforo, baseado nos valores de r^2 obtidos.
3. Sem a adição de fitase, a biodisponibilidade relativa de fósforo dos ingredientes estudados foi de 55,4% para o milho, 122,4% para a cevada e 70,4% para o farelo de soja.
4. Com a adição de 750 FTU/kg de ração a biodisponibilidade relativa de fósforo para o milho foi de 170,1%, para a cevada de 153,6%, para o farelo de soja de 156,40%.
5. A fitase mostrou ser eficiente atuando sobre o fitato das fontes vegetais avaliadas, tornando o fósforo mais disponível para os animais.

REFERÊNCIAS

AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M.; HAQ, A.; ZIA-UL, H. Effect of microbial phytase produced from fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 103-114, 2000.

AMMERMAN, C. B.; BAKER, D. H.; LEWIS, A. J. **Bioavailability of nutrients for animal**: amino acids, mineral and vitamins. San Diego: Academic Press, 1995. 441 p.

ANGEL, R.; TAMIM, N. M.; APPLEGATE, T. J.; DHANDU, A. S.; ELLESTAD, L. E. Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal Applied Poultry Research**, v. 11, p. 471-480, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**: Agricultural chemicals, contaminants and drugs. 15. ed. Arlington: A.O.A.C., 1990. 684 p.

AUGSPURGER, N. R.; WEBEL, D. M.; LEI, X. G.; BAKER, D. H. Efficacy of *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 474-483, 2003.

BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, p. 1-13, 2000.

BOLING, S. D.; DOUGLAS, M. W.; JOHNSON, M. L.; WANG, X.; PARSONS, C. M.; KOELKEBECK, K. W.; ZIMMERMANT, R. A. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, v. 79, p. 224-230, 2000.

BORGES, F. M. O. Utilização de enzimas em dietas avícolas. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, n. 20, p. 5-30, 1997.

BORRMANN, M. S. L. **Efeito da adição de fitase, com diferentes níveis de fósforo disponível, em rações de poedeiras de segundo ciclo**. 1999. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)– Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

CEYLAN, N.; SCHEIDELER, S. E.; STILBORN, H. L.. High available phosphorus corn and phytase in layer diets. **Poultry Science**, v. 82, p. 789–795, 2003.

COLE, N. A.; GREENE, L. W. Handling feedlot waste: an emerging environmental issue. In: ANNUAL SYMPOSIUM BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 14., 1998, Loughborough. **Proceedings...** Loughborough: [s.n.], 1998. p. 351 –371.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and phytic acid on endogenous losses from broiler chickens. In: SPRING MEETING OF THE WORLD POULTRY SCIENCE ASSOCIATION, 2003, [s.l.]. **Proceedings...** [s.l.: s.n.], 2003, p. S23 – S24.

CROMWELL, G. L.; STAHLY, T. S.; COFFEY, R. D.; MONEGUE, H. J.; RANDOLPH, J. H. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1831-1840, 1993.

DENBOW, D. M.; GRABAU, E. A.; LACY, G. H.; KONERGAY, E. T.; RUSSEL, D. R.; UMBECK, P. F. Soybeans transformed with a fungal phytase gene improve phosphorus availability for broilers. **Poultry Science**, v. 77, p. 878-881, 1998.

DENBOW, D. M.; RAVIDRAN, V.; KONERGAY, E. T.; YI, Z.; HULET, R. M. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 74, p. 1831-1842, 1995.

ENGELN, A. T.; VAN DER HEEFT, F. C.; RANDSDORP, P. H. G.; SMIT, E. L. C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v. 77, p. 760-764, 1994.

FERNANDES, J. I. M. **Fósforo disponível para frangos de corte em fosfatos de uso agrícola**. 1996. 171 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

FIGUEIREDO, A. V.; CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; LOPES, J. B.; SOUZA, B. B. Ação da fitase em dietas para frangos de corte contendo farelo de arroz desengordurado e baixo nível de fósforo disponível. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. p. 253.

FIGUEIREDO, A. V.; VITTI, D. M.; LOPES, J. B.; BARBOSA, H. P. Disponibilidade biológica do fósforo de fontes fosfatadas determinada por intermédio da técnica de diluição isotópica. II. Suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1514 – 1520, 2001.

FRITZ, J. G.; ROBERTS, T.; BOEHNE, J. W.; HOVE, E. L. Factors affecting the chicks requirement of phosphorus. **Poultry Science**, v. 48, p. 307 – 320, 1969.

GARCIA-ESTEPA, R. M.; GUERRA-HERNANDEZ, E.; GARCIA-VILLANOVA, B. Phytic acid content in milled cereal products and breads. **Food Research International**, v. 32, p. 217-221, 1999.

GARZILLO, J. M. F. **Parâmetros biológicos usados na avaliação da biodisponibilidade do fósforo para frangos de corte em fosfatos comerciais e em fosfatos de rocha**. 1996. 120 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GORDON, R. W.; ROLAND, D. A. Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 76, p. 1172- 1177, 1997.

HALL, L. E.; SHIRLEY, R. B.; BAKALLI, R. I.; AGGREY, S. E.; PESTI, G. M.; EDWARDS JUNIOR, H. M. Power of two methods for the estimation of bone ash of broilers. **Poultry Science**, v. 82, p. 414-418, 2003.

HATTEN, L. F.; INGRAM, D. R.; PITTMAN, S. T. Effect of phytase on production parameters and nutrient availability in broilers and laying hens: a review. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 10, p. 274-278, 2001.

HAYES, S. H.; CROMWELL, G. L.; STAHLY, T. S.; JOHNSON, T. H.. Availability of phosphorus in corn, wheat and barley for the chick. **Journal of Animal Science**, v. 49, p. 992-999, 1979.

HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerais. In: DUKES, M. J. S. (Ed.). **Fisiologia dos animais domésticos**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1988. p. 397-411.

HUANG, K. C.; ALEE, G. L.. Bioavailability of phosphorus in selected feedstuffs for young chicks and pigs. **Journal Animal Science**, v. 53, p. 248, 1981, supplement 1.

JOHNSTON, S. L.; SOUTHERN, L. L. The effect of varying mix uniformity (simulated) of phytase on growth performance, mineral retention, and bone mineralization in chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 1485-1490, 2000.

KESHAVERZ, K. Effects of continuous feeding of low-phosphorus diets with and without phytase during the growing and laying periods on performance of two strains of leghorns. **Poultry Science**, v. 82, p. 1444 – 1456, 2003.

KIES, A. K.; VAN HEMERT, K. H. F.; SAUER, W. C. Effect of phytase on protein and amino acid digestibility and energy utilization. **World's Poultry Science Journal**, v. 57, p. 109-126, 2001.

KORNEGAY, E. T.; ZANG, Z.; DENBOW, D. M. Influence of microbial phytase supplementation of a low protein/amino acid diet on performance, ileal digestibility of protein and amino acids, and carcass measurements of finishing broilers. In: COELHO, M. B.; KORNEGAY, E. T (Ed.). **Phytase in Animal Nutrition and Waste Management**. 2. ed. Mount Olive: BASF Corporation, 1998.

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

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph : University Books, 2001. 482 p.

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

LESKE, K. L. ; COON, C. N. The development of feedstuff retainable values for broilers. **Poultry Science**, v. 81, p. 1681 - 1693, 2002.

LIMA, F. R. **Parâmetros ósseos de desempenho em frangos de corte usados como critério para avaliação da disponibilidade biológica em fosfatos bicalcicos**. 1994. 153 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

LIMA, F. R.; MABE, I.; BORGATTI, L. M. O.; MORE, D. D.; MARTINS, B. A. B.; MEISTER, N. C.; ALBUQUERQUE, R. Soybean meal, corn gluten feed, and corn gluten meal relative bioavailability of phosphorus with and without microbial phytase addition to the diet. In: ARCHIV FÜR GEFLÜGELKUNDE SONDERHEFT, 66., 2002, Stuttgart. **Proceedings...** Stuttgart: Verlag Eugen Uilmer & Co., 2002. p- 117-118.

LIMA, F. R.; MENDONÇA JUNIOR, C. X.; ALVAREZ, J. C.; GARZILLO, J. M. F.; GHION, E. Evaluation of established dicalcium phosphates for broiler chicks. **Poultry Science**, v. 73, p. 116, 1994, supplement 1.

LOPES, H. O. S.; PEREIRA, E. A. Fontes alternativas de fosfatos na suplementação alimentar de animais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ROCHA FOSFÁTICA, 2., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: IBRAFÓS, 1986. p. 435-50.

LOPES, J. B. **Avaliação da absorção real e das perdas endógenas de fósforo em suínos pela técnica de diluição isotópica**. 1998. 87 f. Tese (Doutorado em Ciências Animal) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

MABE, I. **Biodisponibilidade de fósforo para poedeiras em fosfatos de cálcio puro, fosfatos bicálcicos comerciais e fosfatos de rocha**. 1997. 153 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

MABE, I.; LIMA, F. R.; HENRIQUE, A. P. F.; FERNANDES, J. I. M.; ALBUQUERQUE, R. Biodisponibilidade de fósforo para aves em postura comercial. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1996. p. 29.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002, 375 p.

MAGA, J.A. Phytata: its chemistry, occurrence, food interaction, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 1 – 9, 1982.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. New York: Academic Press, 1992. 524 p.

MCKNIGHT, W. F.; WATTS, A. B. The effect of vitamin D3 on the utilization of phosphorus from various sources. **Poultry Science**, v. 45, p. 1104, 1966.

MEISTER, N. C. **Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, sorgo e triticale, sem e com a adição de fitase microbiana à dieta.** 2001. 81 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MONGIN, P.; SAUVER, G. Plasma inorganic phosphorus concentration during eggshell formation. **British Poultry Science**, v. 20, p. 401- 412, 1979.

MORRISSEY, R. L.; WASSERMAN, R. H. Calcium absorptions and calcium-binding protein in chicks on differing calcium and phosphorus intakes. **American Journal of Physiology**, v. 220, p. 1509-1515, 1971.

MUNARO, F. A.; LÓPEZ, J.; TEIXEIRA, A. S. ; LOPEZ, S. E. Efeito da fitase em rações com 15% de farelo de arroz desengordurado para frangos de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 5, p. 910-920, 1996a.

MUNARO, F. A.; LÓPEZ, J.; TEIXEIRA, A. S.; RUTZ, F. Aumento da disponibilidade do fósforo fítico pela adição de fitase a rações para frangos de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 5, p. 921-931, 1996b.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYNES, P. A.; RODWELL, V. W. **Bioquímica.** São Paulo: Atheneu, 1990. 705 p.

NAHAS, J.; LEFRANÇOIS, M. R. Effects of feeding locally grown whole barley with or without enzyme addition and whole wheat on broiler performance and carcass traits. **Poultry Science**, v. 80, p. 195-202, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry.** 9. ed. Washington: National Academy of Sciences, 1994. 155 p.

NELSON, T. S.; SHIEH, T. R.; WODZINSKI, R. J.; WARE, J. H. The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatments with mold phytase. **Poultry Science**, v. 47, p. 1824–1848, 1968.

PERNEY, K. M.; CANTOR, A. H.; STRAW, M. L.; HERKELMAN, K. L. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 72, p. 2106-2114, 1993.

PERTTILA, S.; VALAJA, J.; PARTANEN, K.; JALAVA, T.; KIISKINEN, T.; PALANDER, S. Effects of preservation method and β - Glucanase supplementation on ileal amino acid digestibility and feeding value of barley for poultry. **British Poultry Science**, v. 42, p. 218 – 229, 2001.

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

POTTER, L. M. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and toe ash measurements. **Poultry Science**, v. 67, p. 96-102, 1988.

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

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

RAISZ, L. C.; NIEMAN, I. Effect of phosphate, calcium and magnesium on bone resorption on hormonal response in tissue culture. **Endocrinology**, v. 85, p. 446-52, 1969.

RAMA-RAO, S. V.; REDDY, V. R.; REDDY, V. R. Enhancement of phytate phosphorus availability in the diets of commercial broilers and layers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, p. 211-222, 1999.

RAVINDRAN, V.; CABAUGH, S.; RAVINDRAN, G.; BRYDEN, W. L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**, v. 78, p. 699-706, 1999.

RODRIGUES, P. B.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; GOMES, P. C.; BARBOZA, W. A.; SANTANA, R. T. Valores energéticos do milho, do milho e subprodutos do milho, determinados com frangos de corte e galos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1767-1778, 2001.

ROLAND, D. A. Recent developments with calcium and phosphorus with emphasis on osteopenia in commercial laying hens. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 7., 1992, Campinas. **Anais...** Campinas: [s.n], 1992. p. 85-102.

ROSTAGNO, H. S.; SILVA, M. A. Exigências nutricionais e biodisponibilidade de fósforo para frangos de corte. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 1998, p. 35-45.

SALMERON, D. S. **Efeitos de níveis dietéticos de fitase microbiana na biodisponibilidade relativa de fósforo do milho ou do sorgo para frangos de corte e cálculo de valores de equivalência em fósforo para fitase.** 2001. 102 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SANDBERG, A. S. T.; LARSEN, B. High dietary calcium levels decrease colonic phytate degradation in pigs. **Journal of Nutrition**, v. 123, n. 3, p. 559-566, 1993.

SANDS, J. S.; RAGLAND, D.; WILCOX, J. R.; ADEOLA, O. Relative bioavailability of phosphorus in low-phytate soybean meal for broiler chicks. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 1, p. 95-100, 2003.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn – soybean diets. **Poultry Science**, v. 75, p. 729-739, 1996.

SELLE, P. H. The potencial of microbial phytase the sustainable production of pigs and poultry. In: SHORT COURSE AND FEED TECHNOLOGY, 7., 1997, [s.l.]. **Proceedings...** [s.l]: Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, 1997. p. 124.

SHIRLEY, R. B.; EDWARDS, H. M. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, p. 671-680, 2003

SIMONS, P. C. M.; VERTEEGH, H. A. J.; JONGBLOED, A. W.; KEMME, P. A.; SLUMP, P.; BOS, K. D.; WOLTERS, M. G. E.; BEUDEKER, R. F.; VERSCHOOR, G. J. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 525-540, 1990.

SOHAIL, S. S.; ROLAND, D. A. Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six of age. **Poultry Science**, v. 78, p. 550-555, 1999.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide**: statistics. Cary: SAS. 1998, Versão 8.0.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; CARDOSO, C. C.; NEME, R.; QUIRINO, B. C.; CARVALHO, D. C. O. Efeito da adição da enzima fitase em dietas de frangos sobre o desempenho e digestibilidade ileal de nutrientes. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. p. 273.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; LIMA, C. A. R.; VIEITES, F. M. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 809-816, 2001.

VEUM, T. L.; LEDOUX, D. R.; BOLLINGER, D. W.; RABOY, V.; COOK, A. Low-phytic acid barley improves calcium and phosphorus utilization and growth performance in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2663-2670, 2002.

VIANA, J. A. F. Fontes de sais minerais para bovinos e o desafio de suplementos de fósforo no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 3., 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1985. p. 47-66.

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

VIVEROS, A.; CENTENO, C.; BRENES, A.; CANALES, R.; LOZANO, A. Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 4009-4013, 2000.

WALDROUP, P. W. Bioassays remain necessary to estimate phosphorus, calcium bioavailability. **Feedstuffs**, v. 68, n. 4, p. 13-23, 1996.

WALDROUP, P. W. Nutritional approaches to reducing phosphorus excretion by poultry. **Poultry Science**, v. 78, p. 683-691, 1999.

WALDROUP, P. W.; AMMERMAN, C. B.; HARMAS, R. H. A comparison of phosphorus assay techniques with chicks. **Poultry Science**, v. 44, p. 1086-1089, 1965.

WALDROUP, P. W.; KERSEY, J. H.; SALEH, E. A.; FRITTS, C. A.; YAN, F.; STILBORN, H. L.; CRUM, R. C.; RABOY, V. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn with and without microbial phytase. **Poultry Science**, v. 79, p. 1451-1459, 2000.

YAN, F.; KERSEY, J. H.; FRITTS, C. A.; WALDROUP, P. W. Phosphorus requirements of broiler chicks six to nine weeks of age as influenced by phytase supplementation. **Poultry Science**, v. 82, p. 294 – 300, 2003.

YI, Z.; KORNEGAY, E. T.; RAVINDRAN, V.; DENBOW, D. M. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, v. 75, n. 2, p. 240-249, 1996.

YOSHIDA, M. Difference in availability of phosphorus in cereals by the chick. **Poultry Science**, v. 23, p. 1 – 8, 1986

ZHANG, Z.; MARQUARDT, R. R.; GUENTER, W.; CHENG, J.; HAN, Z. Prediction of the effect of enzymes on chick performance when added to cereal-based diets: use of a modified log-linear model. **Poultry Science**, v. 79, p. 1757-1766, 2000.

ZYLA, K.; KORELESKI, J.; SWIATKIEWICZ, S.; LEDOUX, D. R.; PIIRONEN, J. Influence of supplemental enzymes on the performance and phosphorus excretion of broilers fed wheat-based diets to 6 weeks of age. **Animal Feed Science and Technology**, v. 89, p. 113-118, 2001.