

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**FITASE E XILANASE EM DIETAS COM AJUSTES
NUTRICIONAIS PARA FRANGOS DE CORTE**

Natália Ramos Batista Chaves

CAMPO GRANDE, MS
2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**FITASE E XILANASE EM DIETAS COM AJUSTES
NUTRICIONAIS PARA FRANGOS DE CORTE**

Phytase and xylanase in diets with nutritional adjustments for broilers

Natália Ramos Batista Chaves

Orientadora: Dr^a. Karina Marcia Ribeiro de Souza Nascimento

Co-orientador: Dr. Charles Kiefer

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS
2018

Certificado de aprovação

NATÁLIA RAMOS BATISTA CHAVES

Fitase e xilanase em dietas com ajustes nutricionais para frangos de corte

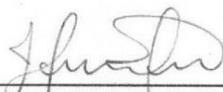
Phytase and xylanase in diets with nutritional adjustments for broilers

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutora em Ciência Animal.

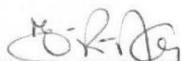
Área de concentração:
Produção Animal.

Aprovado(a) em: 04-05-2018

BANCA EXAMINADORA:



Dra. Karina Márcia Ribeiro de Souza do Nascimento
(UFMS) – (Presidente)



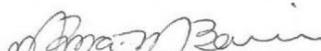
Dra. Elis Regina de Moraes Garcia
UEMS



Dra. Milena Wolff Ferreira
UCDB



Dra. Cássia Rejane Brito Leal
UFMS



Dra. Marina de Nadai Bonin Gomes
UFMS

À minha família,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela dádiva da vida e à São Francisco de Assis e Nossa Senhora Aparecida, pela proteção e sabedoria proporcionada nos momentos difíceis e de maior cansaço mental e físico.

Ao meu amado marido, Cristiano Bergamo Chaves por compartilhar comigo os momentos mais lindos e também os mais difíceis, em que por vezes acreditou mais em mim do que eu mesma. Você é luz na minha vida!

Aos meus amados pais, Leonice Auxiliadora G. Ramos e Waltercides F. Batista que mesmo em seus modos singulares, sempre me incentivaram aos estudos.

Ao meus sogros Jonas Chave Jr e Iris Bergamo Chaves e ao tio André Luís Chaves e Agnes de Paula por sempre terem palavras de conforto e incentivo.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), pela oportunidade da realização do curso de Pós graduação em Ciência Animal.

À CAPES, pela bolsa de doutorado.

À Prof^ª. Dra. Karina Márcia Ribeiro de Souza Nascimento pela orientação, oportunidade concedida e confiança depositada em meu trabalho, além da amizade, paciência e disponibilidade nas minhas inúmeras dúvidas. Obrigada pela grandiosa contribuição na minha vida profissional através de seus conhecimentos e conselhos!

Ao Prof. Dr. Charles Kiefer pela co-orientação e por contribuir imensamente em meu conhecimento científico, demonstrando sempre seu amor pela ciência e estando sempre disponível para qualquer dúvida.

À prof^ª. Dra. Cássia Rejane Brito Leal, pela disponibilidade e imensa simpatia que transborda conhecimento, e que juntamente com toda sua equipe ajudaram na execução das análises microbiológicas.

À Prof^ª. Dra. Fabiana Fonseca Zanoelo, pela disponibilidade do laboratório de Bioquímica, imensa atenção oferecida durante as análises de atividade enzimática e sugestões valiosas para a melhoria desse trabalho.

À Prof^ª. Dra Alda Izabel de Souza e a toda sua equipe pelo suporte para a realização da análise do perfil bioquímico sérico.

Ao prof. Dr. Júlio Alberto Peres Ferencz Junior, Dr. Heberton Wender Luiz dos Santos e ao Dr. Elias Nogueira de Aguiar, pela imensa atenção, disponibilidade e ajuda nas análises de resistência e MEV óssea.

Ao Dr. Danilo Alves Marçal, Dra. Elis Regina de Moraes Garcia e Dra. Marina de Nadai Bonin pelas valiosas sugestões que enriqueceram esse trabalho.

Aos grandes mestres que tive até aqui, por me ensinarem que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Aos colegas de trabalho que me ajudaram na execução desse e de outros experimentos, compartilhando de boas risadas independente das condições climáticas, de saúde ou até mesmo de humor: Thiago Rodrigues, Henrique Barbosa, Maurício Rosa, Larissa Albuquerque, Violeta Macie e Bruna de Sá, em especial à minha querida amiga e também madrinha, Luanna Lopes Copat, pela enorme ajuda, conselhos e incentivos, além de todas as caronas! Pessoa maravilhosa que levarei para o resto da minha vida!

Aos estagiários do LECA: Guilherme de Oliveira, Yanne Yule, Natalia Pitzschk, Glenda Sousa e Vanessa Cristini, a ajuda de vocês foi muito importante!

As técnicas dos laboratórios, Lucimara – Laboratório de Nutrição Animal; Bianca e Adriana – Laboratório de Nutrição Animal Aplicada, o auxílio de vocês foi fundamental! Obrigada pela ajuda nas inúmeras horas de análises, sempre acompanhadas de boas conversas e risadas.

À Bruna Biava, pela grande ajuda durante as análises no Laboratório de Nutrição Animal Aplicada.

À querida Isabela Pavão, por me auxiliar nas análises de atividade enzimática. A ciência está dentro de você!

Aos meus queridos frangos que se tornaram a preciosidade para a realização desse trabalho.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram e puderam conviver cada minuto desta jornada. Foram anos de dedicação, trabalho, acertos e erros, mas principalmente de bons momentos.

MUITO OBRIGADA!

*“A vida é uma corrida que não se corre sozinho.
Que vencer não é chegar, é aproveitar o caminho
sentindo o cheiro das flores e aprendendo com as dores
causadas por cada espinho”*

Bráulio Bessa

Resumo

CHAVES, N.R.B. Fitase e xilanase em dietas com ajustes nutricionais para frangos de corte. 2018. 109f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

Na tentativa do alto aproveitamento dos nutrientes dietéticos para a expressão do máximo potencial genético das aves, os programas nutricionais estão se utilizando de aditivos biotecnológicos, como enzimas exógenas pelos possíveis efeitos positivos na melhora do desempenho em reflexo à melhor metabolizabilidade e saúde intestinal dos frangos de corte. Desta forma, esse estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a inclusão de fitase e xilanase (FX) em dietas com redução de energia metabolizável (EM) e ajustadas para fósforo (P), cálcio (Ca) e sódio (Na) sobre a metabolizabilidade das dietas, desempenho, rendimento de carcaça e cortes, morfometria e saúde intestinal e perfil bioquímico sérico de frangos de corte. Foram utilizados 250 frangos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições de 10 aves cada. Os tratamentos foram: dieta controle positivo – exigência nutricional completa e sem FX, dieta controle negativo - redução de 100 Kcal/kg de EM, 0,15% de P, 0,165% de Ca e 0,035% de Na sem FX e dietas com reduções de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM, P (0,15%), Ca (0,165%) e Na (0,035%) com FX. A alimentação das aves com a dieta controle negativo piorou os coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes em relação aos demais tratamentos. O coeficiente de metabolizabilidade do P e da proteína foram superiores em todos os tratamentos que receberam FX com redução de EM, P, Ca e Na. O desempenho na fase pré inicial não foi influenciado, com exceção do consumo de P. Nas fases posteriores, a dieta controle negativo reduziu o desempenho e pesos absolutos da coxa e sobrecoxa, dorso e asas. Nas dietas com redução de 100 Kcal/kg de EM e ajustadas para P, Ca e Na, a adição de FX melhorou o desempenho a partir da fase inicial. Não houve efeito significativo dos tratamentos avaliados sobre a morfologia da mucosa intestinal, exceto para o tamanho do vilão do íleo que reduziu ao adicionar as enzimas nas dietas com redução energética em 100 Kcal/kg. A associação das enzimas com a redução energética não alterou contagem bacteriana total, sendo identificadas as enterobactérias *E. coli*, *K. ozaenae* e *P. mirabilis* na microbiota intestinal para todos os tratamentos. Aos 21 dias de idade, a concentração de colesterol, P e triglicérides séricos foram alterados pelos tratamentos avaliados, sendo que aos 42 dias apenas os níveis de P foram prejudicados pela redução energética sem suplementação de enzimas. Conclui-se que, com a inclusão de fitase (500 FTU/kg) e xilanase (16.000 BXU/kg) nas dietas de frangos de corte é possível reduzir em 150 Kcal/kg a EM, 0,15% o P disponível, 0,165% o Ca e em 0,035% o Na e, melhorar a metabolizabilidade dos nutrientes sem prejudicar o desempenho, o rendimento de carcaça, principais cortes nobres, a morfometria e microbiota intestinal e o perfil bioquímico sérico. A redução de EM em 100 Kcal/kg e de 0,15% de P digestível, 0,165% de Ca e 0,035% de Na sem suplementação de FX prejudica o perfil bioquímico sérico de frangos de corte.

Palavras-chave: Desempenho zootécnico. Enzimas exógenas Fitato. Polissacarídeos não amiláceos. Saúde intestinal.

Abstract

CHAVES, N.R.B. Phytase and xylanase in diets with nutritional adjustments for broilers. 2018. 109f. Thesis (Doctorate) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, State University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

In order to maximize the use of dietary nutrients to the maximum broiler genetic potential, nutritional programs are being used as biotechnological advent, as exogenous enzymes for the possible positive effects on the improvement in performance, reflecting the best digestibility and intestinal health of broilers. The objective of this study was to assess the inclusion of phytase and xylanase (FX) in diets with reduced metabolizable energy (ME) and adjusted for phosphorus (P), calcium (Ca) and sodium (Na) metabolizability of diets, performance, carcass yield and cuts, morphometry and intestinal health and serum biochemical profile of broiler chickens. 250 broilers were used, distributed in a completely randomized design with five treatments and five replications of 10 broiler per experimental unity. The treatments were: positive control diet - complete nutritional requirement and no FX, negative control diet - reduction of 100 Kcal/kg of MS, 0.15% P, 0.165% Ca and 0.035% Na without FX and diets with reductions of 50, 100 and 150 Kcal/kg of MS, P (0.15%), Ca (0.165%) and Na (0.035%) with FX. Feeding of the broilers with the negative control diet worsened the metabolizable coefficients of the nutrients in relation to the other treatments. The metabolizable coefficient of P and protein were higher in all treatments receiving FX with reduction of MS, P, Ca and Na. The performance in the pre-initial phase was not influenced, except for the consumption of P. In the later stages, the negative control diet reduced the performance and absolute weights of the thigh and overcoat, back and wings. In the diets with reduction of 100 Kcal/kg of ME and adjusted for P, Ca and Na, the addition of FX improved the performance from the initial phase. There was no significant effect of the evaluated treatments on the morphology of the intestinal mucosa, except for the size of the villi of the ileum that reduced when adding the enzymes in the diets with energy reduction in 100 Kcal/kg. The association of the enzymes with the energetic reduction did not alter the total bacterial count, and the enterobacteria *E. coli*, *K. ozaenae* and *P. mirabilis* were identified in the intestinal microbiota for all treatments. At 21 days of age, the concentration of cholesterol, P and serum triglycerides were altered by the evaluated treatments, and at 42 days only the levels of P were impaired by energy reduction without enzyme supplementation. We concluded that with the inclusion of phytase (500 FTU/kg) and xylanase (16.000 BXU/kg) in the broiler diets, it is possible to reduce in up to 150 Kcal/kg to ME, 0.165% available P, 0.15% Ca and 0.035% Na and improve the metabolizability of nutrients without impairing performance, carcass yield, main noble cuts, intestinal morphometry and microbiota and serum biochemical profile. The reduction of ME at 100 Kcal/kg and 0.15% digestible P, 0.165% Ca and 0.035% Na without FX supplementation impairs the serum biochemical profile of broilers.

Keywords: Exogenous enzymes. Intestinal health. Non-starch polysaccharides. Phytate. Zootechnical performance.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Molécula de fitato com possíveis ligações com alguns nutrientes.....	19
Figura 2 - Valores de pH nos diferentes segmentos do trato gastrointestinal das aves.....	23
Figura 3 - Partição da energia dos alimentos e exemplo aproximado das perdas de energia da dieta.....	27
Figura 4 - Estrutura química das xilanas.....	31

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Recomendações de fósforo disponível para frangos de corte machos de desempenho superior.....	18
Tabela 2 - Fontes e propriedades das fitases comerciais.....	22
Tabela 3 - Microrganismos utilizados para a obtenção de xilanases.....	32
Tabela 4 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase pré inicial (1 a 7 dias de idade).....	52
Tabela 5 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase inicial (8 a 21 dias de idade).....	53
Tabela 6 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de crescimento (22 a 33 dias de idade)....	54
Tabela 7 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de pré abate (34 a 42 dias de idade).....	55
Tabela 8 - Valores mínimos, máximos e médios de umidade relativa do ar e temperatura ambiental registrados durante o período experimental....	59
Tabela 9 - Coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes e teores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para retenção de nitrogênio (EMAn) e balanço de nitrogênio (NR) de dietas para frangos de corte com 21 dias de idade..	59
Tabela 10 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase pré inicial (1 a 7 dias).....	64
Tabela 11 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase inicial (1 a 21 dias).....	66
Tabela 12 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase de crescimento (1 a 33 dias).....	69
Tabela 13 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase pré abate (1 a 42 dias).....	72
Tabela 14 - Peso absoluto e relativo de órgãos de frangos de corte com 42 dias de idade alimentados com fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (REM), P, Ca e Na.....	75
Tabela 15 - Valores absolutos e rendimentos de carcaça e cortes de frangos com 42 dias de idade alimentados com fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (REM), P, Ca e Na.....	77
Tabela 16 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase pré inicial (1 a 7 dias de idade).....	90
Tabela 17 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase inicial (8 a 21 dias de idade).....	91
Tabela 18 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de crescimento (22 a 33 dias de idade)....	92

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 19 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de pré abate (34 a 42 dias de idade).....	93
Tabela 20 - Valores mínimos, máximos e médios de umidade e temperatura ambiental registrados durante o período experimental.....	95
Tabela 21 - Morfometria intestinal de frangos de corte com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo redução energética (REM, P, Ca e Na e suplementadas com fitase e xilanase (FX).....	96
Tabela 22 - Contagem bacteriana total (CBT) e bactérias intestinais encontradas em frangos de corte alimentados com dietas contendo redução energética, P, Ca e Na e suplementadas com fitase e xilanase.....	98
Tabela 23 - Perfil bioquímico sérico de frangos de corte alimentados com dietas contendo redução energética (REM), P, Ca e Na e suplementadas com fitase e xilanase (FX).....	101

SÚMARIO

	Página
INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Enzimas exógenas: modo de ação e aplicações.....	15
1.2 Fósforo e fitato.....	18
1.3 Fitase.....	20
1.4 Energia metabolizável na alimentação de frangos de corte.....	25
1.5 Polissacarídeos não amiláceos.....	29
1.6 Xilanase.....	31
REFERÊNCIAS.....	35
Fitase e xilanase em dietas para frangos de corte com redução de energia metabolizável e ajustes nutricionais: metabolizabilidade, desempenho e rendimentos.....	47
Resumo.....	47
Abstract.....	48
Introdução.....	49
Material e Métodos.....	50
Resultados e Discussão.....	58
Conclusão.....	79
Referências.....	79
Fitase e xilanase em dietas para frangos de corte com redução de energia metabolizável, fósforo, cálcio e sódio: perfil bioquímico sérico, morfometria e saúde intestinal.....	85
Resumo.....	85
Abstract.....	86
Introdução.....	87
Material e Métodos.....	88
Resultados e Discussão.....	95
Conclusão.....	103
Referências.....	103
Considerações finais.....	109

INTRODUÇÃO

O milho e farelo de soja são considerados como ingredientes basais para a maior parte das dietas de não ruminantes em âmbito nacional. Embora apresentem alta metabolizabilidade, possuem nutrientes não passíveis de digestão pelas aves, como o fitato e os polissacarídeos não amiláceos (PNAs).

O fitato reduz o aproveitamento do fósforo e outros nutrientes, inibindo a ação de enzimas proteolíticas, tais como pepsina e tripsina. Complexos fitato-proteína-aminoácido ou fitato-mineral-proteína são de difícil digestão, reduzindo a utilização de proteínas e aumentando o gasto energético para a produção endógena (Cowieson et al., 2006; Liu e Ru, 2010). Esses complexos ocorrem naturalmente em ingredientes da dieta e podem ser formados na porção inicial do trato gastrintestinal da ave.

Os PNAs, principalmente os solúveis, são capazes de diminuir a taxa de difusão de substratos e enzimas digestivas pelo aumento da viscosidade da digesta, modificação na estrutura da mucosa intestinal e proliferação de enterobactérias, reduzindo a metabolizabilidade e aproveitamento dos nutrientes (Olukosi et al., 2007; Tavernari et al., 2008).

Para ambos os casos, a utilização de enzimas exógenas pode amenizar os impactos desses fatores antinutricionais, em específico, a fitase sobre os fitatos e a xilanase sobre os PNAs. Pesquisas sugerem que estas enzimas quando combinadas possuem ação aditiva e potencializam seus efeitos (Cowieson e Adeola, 2005; Barros, 2016; Schramm et al., 2017). No entanto, a produção endógena de fitase e xilanase pelas aves é praticamente nula, enquanto seus substratos, arabinoxilanos e fitatos são abundantes nas dietas (Bedford e Schulze, 1998).

Assim, na tentativa do alto aproveitamento dos nutrientes dietéticos para a expressão do máximo potencial genético das aves, a indústria biotecnológica tem produzido em larga escala enzimas exógenas, incluindo a xilanase e a fitase.

A fitase pertence ao grupo das fosfatases de histidina ácida que hidrolisam o fitato para mio-inositol e fosfato inorgânico, podendo liberar além do fósforo, outros minerais e proteínas. Seus efeitos sobre a biodisponibilidade do fósforo no organismo da ave e sobre o desempenho tem sido investigados pelos cientistas há vários anos (Ravindran et al., 1999; Pillai et al., 2006; Manangi et al., 2018; Santos et al., 2011).

A xilanase é a carboidrase responsável principalmente pela remoção da xilana - principal constituinte da hemicelulose da parede celular vegetal – melhorando a motilidade do bolo

alimentar, reduzindo o gasto de energia para os processos de digestão e absorção (Cowieson et al., 2010; Motta et al., 2013; Stefanello et al., 2016).

Desta forma, a utilização dessas enzimas nas dietas de frangos de corte podem aumentar o valor nutricional das dietas e favorecer formulações com níveis reduzidos de energia e nutrientes, destacando-se o fósforo, proteína bruta, cálcio e sódio, além de apresentarem eficácia na redução da emissão de elementos poluentes nas excretas.

Neste sentido, realizou-se esse estudo com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável e ajustadas para fósforo, cálcio e sódio sobre a metabolizabilidade, desempenho, rendimentos de carcaça e cortes, morfometria e saúde intestinal e perfil bioquímico sérico de frangos de corte.

1.1 Enzimas exógenas: modo de ação e aplicações

Caracterizadas por serem proteínas altamente especializadas, as enzimas apresentam alta eficiência catalítica e elevado grau de especificidade por seus substratos. Aceleram reações químicas no organismo, sem serem, elas próprias alteradas neste processo (Souza et al., 2008) e são reguladas conforme sua atividade modulando o fluxo da via metabólica.

Assim como outros catalisadores, as enzimas diminuem a energia de ativação da reação e aumentam a velocidade da reação de um fator de 10^6 a 10^{12} (Motta et al, 2013). Além da atividade catalítica, as enzimas podem ser caracterizadas por propriedades físicas e químicas como solubilidade, número de cadeias polipeptídicas, massa molecular, composição de aminoácidos e estrutura secundária, terciária e, eventualmente quaternária (Nelson e Cox, 2014).

As enzimas exógenas têm finalidade promover a quebra dos componentes fibrosos, reduzir fatores anti-nutricionais e melhorar a biodisponibilidade dos nutrientes que não são digeridos pelas enzimas endógenas, apresentando assim, efeitos positivos sobre a metabolizabilidade e o desempenho animal, uma vez que apresentam sítio ativo que permite sua atuação em determinada ligação química, sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade (Campestrini et al., 2005; Araujo et al., 2007).

Durante a digestão, as enzimas se unem às moléculas de alimentos de alto peso molecular formando complexo enzima-substrato, e aceleram o catabolismo de moléculas grandes (amido, proteína, gordura, etc) em moléculas menores (glicose, aminoácidos, ácidos graxos, etc), as

quais podem ser absorvidas por meio da membrana intestinal para serem utilizadas pelas aves (Braddock e Fuente, 1996).

A incorporação de enzimas nas formulações pode ser feita de duas maneiras. A primeira é a aplicação “*on top*”, que consiste na suplementação da enzima, como qualquer outro aditivo, sobre uma formulação padrão, com o objetivo de melhorar o desempenho das aves. A segunda forma seria ajustar a formulação da dieta, por meio da redução nos nutrientes e adicionar as enzimas exógenas para restaurar o valor nutricional da dieta padrão, sendo a segunda opção a mais utilizada nas granjas avícolas (Meneghetti, 2013).

Como as aves não apresentam capacidade endógena para digerir fibras, a utilização de enzimas exógenas torna-se considerável, pois estas hidrolisam os PNAs que podem ser potencialmente utilizados pelo animal, aumentando, por exemplo, o aproveitamento da energia presente nos alimentos, como o farelo de soja (Brito et al., 2008).

As enzimas carboidrases são constituídas por duas distintas classes com atividades diferentes, as amilases e aquelas coletivamente classificadas como enzimas que degradam PNAs, entre elas estão celulasas, xilanases, glucanases, pectinases (Lima et al., 2007).

A inclusão de proteases na dieta melhora o valor nutricional por meio da hidrólise de certos tipos de proteínas que resistem ao processo de digestão nas aves. A inclusão de proteases nas rações ainda pode resultar em menor custo com a suplementação, uma vez que as enzimas aumentam o aproveitamento dos alimentos, possibilitando assim uma redução nos níveis de inclusão de certos nutrientes, como aminoácidos sintéticos e minerais (Wang et al., 2005).

Em estudo com frangos de corte suplementados com proteases, Meneghetti (2013) observou melhora significativa no crescimento das aves, uma vez que a inclusão de enzimas exógenas reduz a síntese das endógenas e, em consequência, o organismo teria a disposição maior quantidade de aminoácidos para a síntese proteica. No entanto, resultados mais expressivos são encontrados com a suplementação enzimática em dietas com baixo nível nutricional, uma vez que dietas balanceadas atendem adequadamente as necessidades das aves (Barbosa et al., 2008).

Melhores índices de ganho de peso, conversão alimentar e eficiência produtiva de frangos com 25 dias de idade também foram observados com o uso de complexo multienzimático (α – amilase, proteases e xilanase) (1,0 g/kg) em dietas com níveis normais e reduzidos (3 e 5% na fase inicial e final de criação, respectivamente) de energia e proteína (Torres et al., 2003).

Ao utilizar dietas contendo farelo de arroz (15%) e adição de fitase (400, 800 e 1.200 FTU) e xilanase (1,0 kg/t), Conte et al. (2003) observaram que aos 21 dias de idade houve

efetiva ação da fitase para o aumento da disponibilidade de fósforo na dieta de frangos de corte, ressaltando a possível redução da suplementação de fósforo na dieta quando utiliza-se altos níveis de fitase (800 e 1200 FTU). Além disso, o peso vivo e consumo de ração aumentaram significativamente com o uso de fitase aos 21 como aos 42 dias, com o uso de 1.105 e 1.023 FTU/kg, respectivamente para as idades. Os autores também observaram que a xilanase aumentou o ganho de peso melhorando a conversão alimentar, possivelmente em função do incremento na energia metabolizável pelo uso da enzima, além de proporcionar aumento nos teores de cinzas e fósforo da tibia nas duas idades avaliadas.

Estudo semelhante com a adição de complexo multienzimático em rações com farelo de soja e soja integral extrusada para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, também foi observada melhoria na utilização de energia metabolizável, proteína e aminoácidos (metionina, metionina + cistina e lisina) em 9, 7 e 5%, respectivamente, pelas aves, no entanto o desempenho foi semelhante aos de aves alimentadas com a dieta convencional (Garcia et al., 2000).

A determinação da metabolizabilidade tem sido uma das principais ferramentas para avaliar a qualidade de uma dieta ou ingrediente, indicando o seu valor nutricional, assim como dos níveis de nutrientes não digeridos (Furuya et al., 2001). Diversos estudos têm demonstrado o efeito positivo sobre a metabolizabilidade dos nutrientes com a adição de enzimas na dieta de frangos de corte, potencializando o desempenho.

Efeitos positivos sobre o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta em frangos de corte foram observados por Barbosa et al. (2008a) com a inclusão de 200 g/kg de um complexo enzimático contendo xilanase, amilase e protease e 100 g/kg fitase em dieta com baixa densidade nutricional.

Os coeficientes de metabolizabilidade do fósforo não foram alterados com a utilização de dietas com níveis nutricionais reduzidos e suplementadas com fitase (1.000 FTU/kg) e complexo enzimático contendo xilanase (300 U/kg), amilase (400 U/kg) e protease (4.000 U/kg) (Cowieson e Adeola, 2005).

1.2 Fósforo e fitato

O fósforo pode ser encontrado no ambiente na forma orgânica (fitatos, fosfolipídios e fosfoproteínas) e inorgânica (monofosfatos, bifosfatos e trifosfatos). Combinado com outros elementos, sua estrutura é pH dependente do meio onde se encontra, podendo estar sob a forma de ácido fosfórico (H_3PO_4) em meio ácido e dihidrogenofosfato ($H_2PO_4^-$) e hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}) em pH neutro (Underwood e Suttle, 1999; Quintero-Pinto et al., 2011).

Estima-se que 80% do fósforo no organismo animal esteja presente nos ossos, sendo a estrutura óssea composta por 16% de fósforo e 36% de cálcio, podendo atuar como reserva lábil em situações em que a dieta não atende a exigência da ave (Gomes et al., 2004; Pinheiro et al., 2011).

Desta forma, é considerado o segundo maior componente do organismo e sua concentração no soro sanguíneo é dependente da dieta e dos ingredientes que a compõe. Aves em condições adequadas de saúde e alimentação possuem em torno de 5 a 7 mg/dL de fósforo sérico (Vieites et al., 2011; Manangi et al., 2018).

Sua deficiência no organismo pode comprometer diversos processos metabólicos da ave, por ser fundamental em todas as reações que envolvem produção de energia, controle do metabolismo celular, manutenção osmótica e no balanço ácido-básico, síntese de aminoácidos e proteínas, além de atuar como componentes de ácidos nucleicos, sendo ativador de muitos processos enzimáticos (Underwood e Suttle, 1999; Runho et al., 2001; Santos et al., 2011;).

Ao longo do ciclo de produção dos frangos a demanda de fósforo é reduzida, de modo que as maiores exigências ocorrem durante a formação óssea (Bertechini et al., 2014). As exigências de fósforo disponível para os frangos de corte ao longo dos anos vêm sendo constantemente atualizadas em função da genética aprimorada e variam quanto ao sexo, desempenho e fase de criação da ave (Tabela 1).

Tabela 1. Recomendações de fósforo disponível para frangos de corte machos de desempenho superior

Referência	Fase de criação			
	Pré inicial (1-7 dias)	Inicial (8-21 dias)	Crescimento (22-33 dias)	Pré-abate (34-42 dias)
	------(%)-----			
Rostagno et al. (2005)	0,47	0,45	0,42	0,37
Rostagno et al. (2011)	0,47	0,40	0,35	0,31
Rostagno et al. (2017)	0,48	0,43	0,38	0,31

Atualmente, um conceito moderno nas formulações de dietas em virtude da melhor avaliação nutricional dos ingredientes é a utilização de fósforo digestível. Rostagno et al. (2017) sugerem 0,42; 0,38; 0,35 e 0,28% de fósforo digestível nas fases pré inicial, inicial, crescimento e pré-abate, respectivamente.

Estima-se que, 70% do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal está complexado com moléculas de ácido fítico e indisponível para absorção em não ruminantes (Silva et al., 2006; Rostagno et al., 2017). A biodisponibilidade de fósforo no milho está em torno de 27,6% e a do farelo de soja em 37,3%, ocorrendo variações entre cultivares (Rostagno, 2017).

O ácido fítico (hexafosfato de mio-inositol; IP₆) está naturalmente presente nos grãos utilizados nas formulações de dietas, seja associado a corpos proteicos e outros minerais, espalhados por toda a semente como na soja ou no gérmen no caso do milho (Selle et al., 2003), atuando como reserva de fósforo, energia e cátions (Ravindran et al., 1994).

Devido a esse fato, o ácido fítico contém apenas o fósforo em sua cadeia, caracterizado como um anion reativo com elevado poder de quelação e afinidade por cátions nutricionalmente importantes como o cálcio, magnésio, zinco, além de moléculas carregadas positivamente como proteínas e aminoácidos (Vohra et al., 1965). A reação entre o ácido fítico e essas moléculas resultam no fitato, caracterizado como sal de ácido fítico (Figura 1).

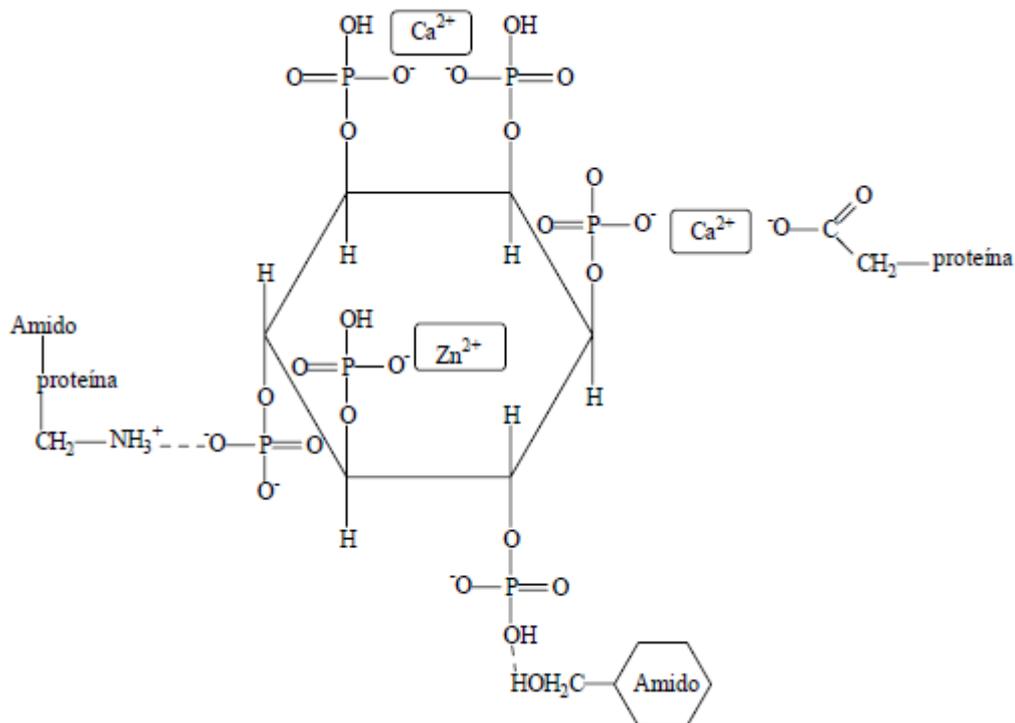


Figura 1. Molécula de fitato com possíveis ligações com alguns nutrientes. Fonte: Naves (2009).

A formação de complexos entre o ácido fítico e os nutrientes da digesta é pH dependente. Em regiões do trato gastrointestinal que possuem pH baixo, a ocorrência de quelação do ácido fítico com o Fe^{3+} é maior. Em regiões com pH intermediário a alto, outros cátions polivalentes podem ser complexados pelas moléculas de ácido fítico, preferencialmente na seguinte ordem: $\text{Cu}^{++} > \text{Zn}^{++} > \text{Co}^{++} > \text{Mn}^{++} > \text{Fe}^{+++} > \text{Ca}^{++}$. No entanto, somente estruturado na forma de hexafosfato (IP_6) e pentafofosfato (IP_5) as moléculas de fitato podem atuar como quelante de minerais, uma vez que, moléculas menores que a de pentafofosfato são mais solúveis e com baixa capacidade de ligar com minerais, como mencionado por Silva e Silva (1999) em ampla revisão.

Dietas formuladas com baixo nível de fósforo disponível (0,33%) e cálcio (0,80%) em relação à dietas contendo 0,45 e 0,33% dos mesmos nutrientes, respectivamente, para frangos de corte, podem prejudicar o ganho de peso, conversão alimentar e reduzir os coeficientes de metabolizabilidade da proteína bruta, energia, fósforo e cálcio caso não sejam suplementadas com fitase, considerando que a ave não consegue aproveitar todo o fósforo de forma eficiente (Tajedor et al., 2001).

Neste sentido, a indústria biotecnológica tem conseguido produzir fitases com alta efetividade na liberação de fósforo fítico toleráveis à uma ampla faixa de pH no trato gastrintestinal, possibilitando a redução de fontes inorgânicas nas formulações das dietas, bem como a alta excreção para o ambiente (Bertechini, 2014).

1.3 Fitase

A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase; IP_6) é uma enzima que atua sobre a molécula de fitato em reações sequenciais de desfosforilação (pentafofosfato - IP_5 , tetrafofosfato - IP_4 , trifosfato - IP_3 e possivelmente inositol difosfato - IP_2 e monofosfato - IP_1), reduzindo-o em ésteres de fosfato de mio-inositol e ortofosfato (Bedford e Partridge, 2010), liberando também cátions, proteínas e amido que possam estar complexados e indisponíveis para absorção no lúmen intestinal (Ravindran e Bryden, 1997).

Sua unidade ativa (FTU ou U) em substrato de sódio fitato (5,1 μmol), quando em temperatura de 37°C e pH 5,5 é capaz de liberar um μmol de ortofosfato inorgânico por minuto (Engelen e Heeft, 1994; Vats e Banerjee, 2004).

As fitases podem ser classificadas quanto ao seu mecanismo catalítico: histidina fosfatase ácida (HFA), fitase β -hélice (FBH) e fosfatase ácida “purple” (FAP) (Mullaney e Ullah, 2003), divididas em função do local onde a hidrólise se inicia no anel de mio-inositol: 3-fitase (mio-

inositol hexaquifosfato 3-fosfohidrolase) atuante sobre o 3º carbono e a 6-fitase (mio-inositol hexaquifosfato 6-fosfohidrolase) sobre o 6º carbono (Nagashiro, 2007; Bedford and Partridge, 2010) e, em relação ao pH ótimo atuante: ácidas (2,5 a 6,0) ou alcalinas (6,0 a 8,0) (Vats e Banerjee, 2004).

A produção endógena de fitase pela aves é praticamente nula (Conte et al., 2002), ou seja, durante a passagem pelo trato gastrointestinal as moléculas de ácido fítico permanecem intactas, indisponibilizando fósforo e quelatando cátions e outros nutrientes (Figura 1).

A adição de fontes inorgânicas de fósforo nas dietas podem contornar a deficiência desse mineral e não afetar o desempenho das aves, porém impactam o meio ambiente devido a alta excreção de fósforo, o que torna a suplementação de fitase um ponto chave para a redução desses problemas (Alvarenga et al., 2011; Gomide et al., 2011; Sousa et al., 2014).

Este fato foi observado com a utilização de fitase (80 g/t contendo 2500 FTU/g) por Gomide et al. (2011) em dietas para frangos de corte com até 35 dias de idade, que continham redução de 0,15% de fósforo disponível, 0,30% de cálcio e diferentes níveis de proteína bruta (10 a 21%). Os autores demonstraram que o uso da fitase possibilitou desempenho semelhante aos de aves que foram alimentadas com dieta convencional, com a possibilidade de redução do nível proteico das dietas e menor excreção de nitrogênio e fósforo para o ambiente.

Fato semelhante foi relatado por Sousa et al. (2014) em frangos suplementados com fitase (100g/t contendo 500 FTU/kg) durante a fase inicial, em que, a associação da enzima com a diminuição de 0,16% de cálcio e 0,42% de proteína bruta em dietas contendo 2948 Kcal/kg de energia metabolizável, reduziu as excreções de nitrogênio em 7,56%, de fósforo em 21,34% e de cálcio em 11,51%.

Naturalmente a fitase (6-fitase) é encontrada nas plantas, isso deve-se ao fato de que as reservas de fósforo nas sementes estão sob a forma de fitato (Ravindran et al., 1994). Desta forma, grãos como o trigo, centeio, cevada, milho e oleaginosas que são utilizadas nas formulações de dietas para aves podem possuir atividade dessa enzima, porém, altamente sensíveis à desnaturação térmica (Centeno et al., 2001).

A produção de 3-fitase em sua maioria se dá por fungos, bactérias e leveduras (Tabela 2), com exceção das fitase produzidas por *Escherichia coli* e *Peniophora lycii* que são 6-fitase (Lassen et al., 2001). Além disso, do ponto de vista comercial, a utilização de microrganismos possibilita a produção da fitase em grande escala (Vats e Banerjee, 2004).

Tabela 2. Fontes e propriedades das fitases comerciais

Fontes	Condições ótimas de atuação	
	pH	Temperatura (°C)
Bactérias		
<i>Bacillus sp. DS11</i>	7,0	70
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	7,0	70
<i>Bacillus subtilis</i>	6,0-6,5	60
<i>Bacillus licheniformis</i> (168 <i>phyA</i> , <i>phyL</i>)	4,5-6,0	55-65
<i>Enterobacter sp.</i>	7,0-7,5	50
<i>Escherichia coli</i>	4,5	60
<i>Klebsiella terrigena</i>	5,0	58
<i>Pseudomonas syringae</i>	5,5	40
<i>Lactobacillus sanfrancesis</i>	4,0	45
<i>Citrobacter braakii</i>	4,0	50
Leveduras		
<i>Arxula adenivorans adenivorans</i>	4,5	75
<i>Schwanniomyces castellii</i>	4,5	77
<i>Senna occidentalis</i>	4,5	77
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,0-2,5 5,0-5,5	60
<i>Pichia pastoris</i>	2,5; 5,5	60
Fungos		
<i>Aspergillus ficuum</i> (<i>phyA</i>)	2,5; 5,0	58
<i>Aspergillus ficuum</i> (<i>phyB</i>)	2,5	63
<i>Aspergillus oryzae</i>	5,5	50
<i>Aspergillus niger</i> SK-57	2,5; 5,5	50
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9142	5,0	65
<i>Peniophora lycii</i> (<i>phyA</i>)	4,0-4,5	50-55

Adaptado de Vats e Banerjee (2004).

Comercialmente, a fitase mais utilizada é a HFA, com pH ótimo entre 4,0 e 6,0 para que haja atuação da enzima na porção superior do trato gastrintestinal da ave (papo, proventrículo e moela) em que o alimento permanece por maior tempo e o pH favorece a ação das fitases ácidas (Figura 2). Essas enzimas atuam na quebra da molécula de mio-inositol, liberando fósforo e outros nutrientes complexados para que sejam absorvidos no intestino (Augspurger et al., 2003).

Com o peritaltismo do trato gastrintestinal, a digesta passa por valores de pH excedentes ao considerado como ótimo para a fitase, reduzindo sua eficiência. Assim, moléculas de ácido fítico que não foram hidrolisadas podem formar complexos insolúveis com minerais e outros nutrientes interferindo na digestão e absorção pela ave (Augspurger et al., 2003).

No entanto, há evidências que a fitase proveniente de *E. coli* apresenta maior resistência à enzimas proteolíticas em relação à fitase *P. lycii*, favorecendo a atividade da enzima no jejuno e no íleo, sendo neste último local menos efetiva (Onyango et al., 2005). Além disso, o autores

relataram que a presença de fitatos no intestino podem ser pela re-precipitação da molécula em pH alcalino, uma vez que não estavam presentes na porção superior do trato gastrointestinal pela melhor atividade da fitase

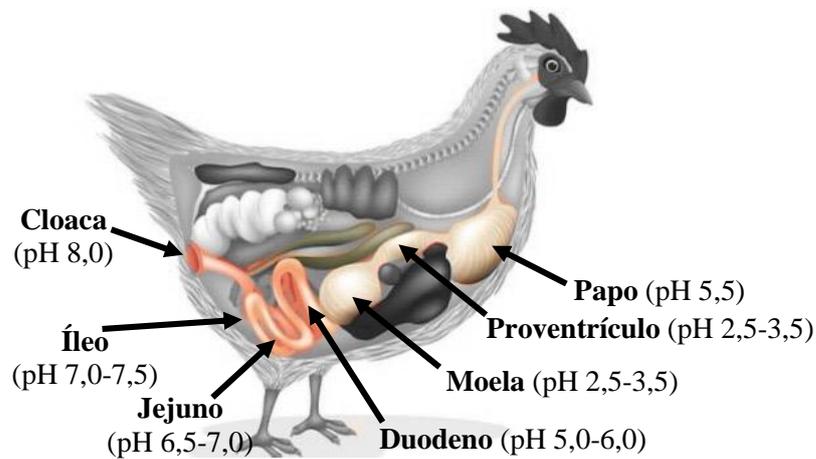


Figura 2. Valores de pH nos diferentes segmentos do trato gastrointestinal das aves. Fonte: Adaptado de Sturkie, 1986.

Comparando a utilização de fitases produzidas a partir de *E. coli* em relação à fitases fúngicas na alimentação de frangos de corte, Pillai et al. (2006) também relataram que a fitase bacteriana apresentou maior atividade enzimática, com deposição linear de fósforo na tíbia conforme inclusão na dieta (250 a 10.000 FTU/kg) e melhor desempenho das aves.

A ação da fitase sobre a disponibilidade de fósforo e outros minerais em dietas para frangos de corte vem sendo amplamente estudada nos últimos anos, evidenciando consistência em manter o desempenho, melhorando ou não prejudicando a mineralização e resistência óssea em relação à aves alimentadas com dietas que possuem formulações convencionais, além de reduzir o impacto ambiental pela melhor metabolizabilidade do fósforo e cálcio (Tajedor et al., 2001; Shelton et al., 2004 ; Fukayama et al., 2008; Lelis et al., 2010; Alvarenga et al., 2011; Parra-Martín et al., 2015).

No entanto, assim como os minerais, a metabolizabilidade dos aminoácidos também é afetada negativamente pela presença de ácido fítico. A concentração de fitato ao passar de 10,4 para 15,7 g/kg de ração pode reduzir em até 2,3% a metabolizabilidade ileal do nitrogênio em frangos de corte (Ravindran et al., 2006).

O aumento na perda de nitrogênio endógeno e nos requerimentos de energia em dietas que possuem alta concentração de fitato pode estar correlacionado à alta produção de mucina com redução da atividade enzimática no trato gastrointestinal (Cowieson et al., 2006; Liu e Ru,

2010) pela inibição das enzimas pepsina e tripsina (proteolíticas) durante a formação pH-dependente dos complexos fitato-proteína/aminoácido ou fitato-mineral-proteína (Ravindran e Bryden, 1997).

A melhora na metabolizabilidade da proteína bruta em 2,5% e do fósforo em 12,8% foi relatada por Lelis et al. (2010) ao utilizarem 500 FTU/kg de fitase em dietas para frangos (1 a 25 dias de idade) em relação à dieta controle e, conseqüentemente, maior retenção e menor excreção de fósforo.

Além disso, a melhora na metabolizabilidade da proteína bruta pode resultar em incremento energético para ave, devido a redução dos gastos de energia com a produção de aminoácidos endógenos (Wyatt e Bedford, 1998). A fitase também pode ter ação indireta sobre a energia metabolizável pela liberação de moléculas de amido que possam estar ligadas à proteína complexado na molécula de fitato (Onyango et al., 2005).

A melhoria da utilização de energia com o uso de fitase na alimentação de frangos de corte pode ser observada no maior ganho de peso das aves, demonstrando maior disponibilidade e conseqüente utilização dos nutrientes dietéticos para deposição nos tecidos como gordura ou proteína (Olukosi et al., 2008).

Avaliando a suplementação ou não de fitase (25 FTU/kg) em rações contendo níveis de fósforo não fítico (100, 85 e 70% das exigências da ave correspondendo aos níveis de 0,45, 0,38 e 0,31% de fósforo não fítico, respectivamente), Oliveira et al. (2008a) descreveram que a associação entre a enzima e o fósforo não fítico correspondeu a 70% das exigências e melhoraram a metabolização da energia bruta além da metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta, cálcio e fósforo.

Da mesma forma, Meneghetti et al. (2011) ressaltaram aumento na metabolizabilidade da matéria seca com a inclusão de fitase (1.500, 3.000, 4.500, 6.000, 8.000 e 10.000 FTU/kg) nas dietas e concluíram que o desempenho de frangos de corte com idade entre 1 e 35 dias não é alterado e ocorre melhora na metabolizabilidade dos nutrientes e aproveitamento de energia a partir da inclusão de 4.500 FTU/kg de fitase na dieta.

Devido aos efeitos benéficos da inclusão de fitase sobre o aproveitamento dos nutrientes da dieta, ao levar em consideração a matriz nutricional da fitase, ou seja, a quantidade de nutrientes que será liberada quando a enzima é acrescentada à dieta, torna possível a redução dos níveis de energia e nutrientes como minerais, proteína e aminoácidos.

A redução de fósforo total pode ser feita desde que se mantenha a relação cálcio/fósforo, uma vez que níveis elevados de cálcio podem aumentar o pH intestinal e formar fitato de cálcio,

complexando outros minerais como o ferro, magnésio e zinco reduzindo a atividade da fitase (Qian et al., 1997). Assim, os níveis de cálcio devem ser reduzidos proporcionalmente à redução nos níveis de fósforo total (Schoulten et al., 2003b).

Avaliando os níveis de cálcio (0,46 a 1,30%) com a utilização de fitase (600 FTU/kg) em dietas com 0,54% de fósforo total para frangos de corte na fase inicial (1 a 21 dias), Schoulten et al. (2003b) descreveram que houve redução linear no ganho de peso e na deposição de cinzas, fósforo e manganês na tíbia com o aumento de cálcio na dieta, e que o nível de 0,59% resultou em adequada mineralização óssea.

Da mesma forma, Donato et al. (2011) relataram que em todas as fases de criação (1 a 42 dias) dos frangos, o nível de cálcio pode ser reduzido em até 30% em relação à uma formulação convencional (0,78% de cálcio) desde que contenham 1.200 FTU/kg de fitase, sem influenciar o desempenho.

A matriz nutricional da fitase vai depender principalmente da sua atividade enzimática, o que é alterada conforme a origem da fitase. O fósforo disponível pode ser reduzido em até 0,16% com o uso de 500 UFT/kg de fitase em dietas a base de milho e farelo de soja em todas as fases de criação (Laurentiz et al., 2009). Para o período de crescimento, o mesmo nível de inclusão de fitase, favorece a redução de 0,36% de proteína bruta, 0,10% de cálcio, 45 Kcal/kg de energia metabolizável, 0,010% de lisina digestível (Lelis et al., 2010) e 0,020% de sódio (Oliveira, 2016).

Em relação ao período final de criação dos frangos, a utilização de 500 FTU/kg de fitase em dietas contendo milho e farelo de soja, os níveis de cálcio, fósforo, energia metabolizável e sódio podem ser reduzidos em 0,165-0,245%, 0,150-0,225%, 52 Kcal/kg e 0,053%, respectivamente (Freitas, 2016; Oliveira, 2016).

1.4 Energia metabolizável na alimentação de frangos de corte

A energia pode ser definida como “a capacidade de realização de trabalho, e medida apenas por meio da sua transformação de uma forma para a outra” (Bertechini, 2012). Liberada na forma de calor pela oxidação dos nutrientes durante o metabolismo, a energia é responsável por diversos processos metabólicos que envolvem desde a manutenção das funções vitais, regulação da temperatura corporal até o máximo potencial produtivo das aves.

Considerada como o principal componente nutricional que exerce influência direta sobre o desempenho, a energia é obtida por meio de diversos nutrientes dietéticos, em especial

lipídeos e carboidratos (amido e açúcares) e atua diretamente no controle do consumo de ração e por consequência dos demais nutrientes (proteína bruta, aminoácidos, ácidos graxos e minerais).

A energia contida no alimento ou na dieta é definida como energia bruta e corresponde à energia liberada na forma de calor quando uma substância orgânica é completamente oxidada a dióxido de carbono e água em ambiente rico em oxigênio. A mensuração é realizada por meio de bomba calorimétrica, sendo que a energia bruta resultante de carboidratos são 3,7 Kcal/g (glicose) e 4,2 Kcal/g (amido), das proteínas é 5,6 Kcal/g, por sua vez as gorduras fornecem 9,4 Kcal/g (NRC, 1998).

Contudo, nem toda a energia fornecida pelos nutrientes oxidados é totalmente aproveitada pelos animais. Assim, existem diversas formas de se expressar a energia aproveitada pelos monogástricos, sendo dividida além de energia bruta em: energia digestível, energia metabolizável aparente, energia metabolizável verdadeira e energia líquida (De Lange e Birkett, 2005) (Figura 3).

A energia digestível aparente é obtida pela subtração da energia bruta das fezes da energia bruta da dieta e representa a energia do alimento que é absorvida após o processo de digestão. A palavra “aparente” significa que a matéria fecal não é constituída unicamente de material indigestível, mas que contém também substâncias que fizeram parte do animal, como células de descamação das paredes do trato gastrintestinal e o resíduo de secreções (Lawrence e Fowler, 2002).

Em aves, por motivos fisiológicos e anatômicos, a separação da excreta em fezes e urina é complicada, necessitando de intervenção cirúrgica que exteriorize o ureter. Por este motivo, essa forma de energia não é usualmente utilizada. Assim, comumente é realizada a coleta total de excretas levando a estimativa direta da energia metabolizável aparente.

A energia metabolizável aparente é definida como a diferença entre a energia digestível e as perdas por urina (ácido úrico) e gases da digestão (CO_2 e metano (CH_4)), considerada como a energia efetivamente disponível para o metabolismo animal, podendo ser fracionada em apenas duas partes: a energia produzida na forma de calor (incremento calórico) pelos diversos processos metabólicos e a energia utilizada na manutenção de funções vitais (Emmans, 1994).

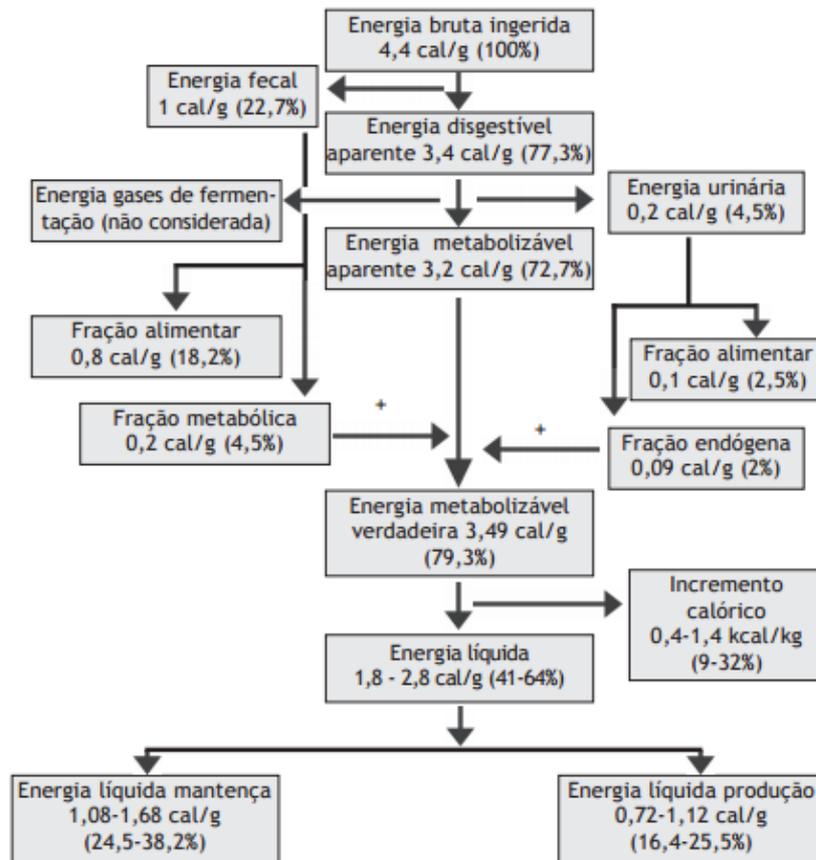


Figura 3. Partição da energia dos alimentos e exemplo aproximado das perdas de energia da dieta. Fonte: De Lange e Birkett (2005).

Além disso, a energia metabolizável pode ser expressa na forma de energia metabolizável aparente ou energia metabolizável verdadeira, a qual consiste na correção da energia metabolizável aparente pelas perdas de energia fecal metabólica e urinária endógena.

Para ambas (aparente e corrigida) pode-se realizar a correção para balanço de nitrogênio, permitindo que valores de energia metabolizável de aves com distintas exigências proteicas sejam comparados, uma vez que em aves em crescimento, por exemplo, uma parte considerável do nitrogênio consumido na dieta é retido para formação de tecidos e, em adultas, grande parte dos compostos nitrogenados são catabolizados e excretados sob a forma de ácido úrico.

A energia líquida é obtida pela subtração da energia perdida pelo incremento calórico da energia metabolizável e utilizada para manutenção e produção. O incremento calórico é o aumento da produção de calor decorrente do consumo de um alimento, representando perdas de energia durante os processos de digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes e, apesar de não ser utilizada para produção, o IC pode ser utilizado para homeostase térmica em condições de baixa temperatura ambiental.

A eficiência da utilização da EM (k) para produzir energia líquida é dada pela relação energia líquida: energia metabolizável e varia de acordo com a finalidade (ganho de proteína, ganho de gordura ou ambas) e composição da dieta uma vez que os nutrientes não são utilizados com a mesma eficiência. Em aves, a eficiência da EM é de 60% para proteína, 90% para gordura e 75% para carboidratos (Sugahara, 2003).

Nas formulações de dietas baseadas na relação energia:nutriente depende-se da precisão obtida nas determinações dos valores de energia metabolizável dos alimentos, uma vez que durante a partição biológica da energia no organismo, a energia metabolizável é a estimativa da expressão do valor energético dos ingredientes para as aves.

Fatores como a idade da ave (Mello et al., 2009), sexo (Nascif et al., 2004), linhagem, processamento das dietas (Scapim et al., 2003; Leite et al., 2008), granulometrias, variações de amostragem e métodos de determinação (Freitas et al., 2006) podem alterar os valores de energia metabolizável de um mesmo alimento.

Além disso, o nível energético na dieta é considerado como o principal limitante nutricional no consumo de frangos de corte, sendo o consumo inversamente proporcional ao nível de energia fornecido (Dairo et al., 2010; Barbosa et al., 2012; Rahmaan et al., 2014).

A regulação da ingestão de consumo pelas aves é baseada principalmente na teoria glicostática que atua no centro de saciedade, controlada pelo hipotálamo localizado no córtex cerebral. Assim, o eixo cérebro-intestino envolve a comunicação de informações sobre a presença ou ausência de nutrientes específicos na dieta, bem como comunicação cérebro e tecido adiposo envolvendo o metabolismo da leptina (Richards e Proszkoiec-Weglarz, 2007) e liberação de colecistoquinina no duodeno (Damiani e Damiani, 2011).

Aves em balanço energético positivo apresentam altos níveis de metabólitos circulantes, tais como ácidos graxos livres, aminoácidos e glicose, sendo este último considerado como o primeiro sinal químico ligado diretamente ao centro do metabolismo energético das aves (Sartorelli e Cardoso, 2006). A produção e ação da insulina, glucagon e hormônio tireoidiano (T3), os quais são os principais hormônios atuantes na regulação do metabolismo energético são diretamente dependentes do balanço na quantidade e presença destes metabólitos na corrente sanguínea.

A insulina e o T3 induzem a expressão de genes relacionados à lipogênese, enquanto o glucagon inibe esta ação por meio de enzimas, ocasionando assim, constantes mudanças no metabolismo do tecido adiposo, que associado ao fígado é responsável pela expressão do gene da leptina, que por sua vez atua no centro de saciedade da ave. Da mesma forma, baixos níveis

de metabólitos livres levam à via metabólica lipolítica, baixando os níveis de leptina e estimulando o apetite das aves (Richards, 2003; Sartorelli e Cardoso, 2006; Richards e Proszkoiec-Weglarz, 2007).

Ao prorrogar o tempo de absorção dos nutrientes pode-se produzir estímulo contínuo aos receptores do trato gastrointestinal mediado pela ação de hormônios como a colecistoquinina e peptídeo 1 semelhante ao glucagon (Brand-Miller et al., 2002).

O hormônio colecistoquinina (CCK) atua via receptor CCK-A no trato gastrointestinal, aumentando a secreção pancreática, além de sinalizar a saciedade, principalmente pela presença de lipídeos e proteínas. Assim, somando-se com o atendimento das exigências energéticas atua sobre o centro de saciedade e concomitantemente sobre o consumo da dieta (Damiani e Damiani, 2011).

Ao mesmo tempo, alguns ingredientes utilizados nas formulações podem conter substâncias denominadas como fatores antinutricionais que incluem fitatos, os quais indisponibilizam minerais e os PNAs que aumentam a viscosidade intestinal, reduzindo o valor nutricional do alimento pela menor biodisponibilidade de nutrientes.

Deve-se levar em consideração que a energia metabolizável é afetada direta e positivamente pela composição do alimento em amido, gordura e proteína e negativamente pelos carboidratos estruturais, grupo no qual se encaixam os PNAs (Conte et al., 2003

1.5 Polissacarídeos não amiláceos (PNAs)

Os PNAs ou fibras dietéticas são componentes da parede celular dos alimentos de origem vegetal e são caracterizados por macromoléculas de polímeros de açúcares simples (monossacarídeos), podendo ser arabinosilanos, dextrina, celulose, inulina, lignina, quitinas, pectinas, betaglucanos e outros carboidratos com ligações betaglicosídicas, compreendendo mais de 90% da parede celular das plantas (Sakomura et al., 2014).

Devido ao tipo de ligações entre as unidades de açúcares, os PNAs apresentam resistência à hidrólise no trato digestivo com baixo aproveitamento desses carboidratos pela ave que, por sua vez, não possui capacidade enzimática para digerir essas estruturas (Brito et al., 2008). Os efeitos negativos são mais evidenciados durante as três primeiras semanas de idade da ave, uma vez que apresentam baixa atividade enzimática, pelo fato de o sistema digestório não estar completamente maduro, ocasionando significativa redução da metabolizabilidade da energia (Oliveira et al., 2008b).

De acordo com a solubilidade, os PNAs podem ser classificados como insolúveis (celuloses, ligninas e algumas hemiceluloses) e solúveis (pectinas, gomas e hemiceluloses – arabinosilanos, β -glucanos, D-xilanos, D-mananos, xiloglucanos, etc.) (Choct, 1997) sendo esse último grupo o mais crítico quando se refere à nutrição de aves e seus efeitos fisiológicos e morfológicos sobre o sistema digestório das aves.

Por sua vez, Choct (1997) classificaram os PNAs em três grandes grupos, composto pela celulose (insolúvel em água, álcali ou ácidos diluídos) e dois grupos parcialmente solúveis em água: polímeros não celulolíticos (Arabinosilanos, β -glucanos de ligações mistas, mananos, galactanos e xiloglucanos) e polissacarídeos pécticos (ácido poligalacturônicos, arabinanos, galactanos e arabinogalactanos).

Os constituintes pertencentes aos PNAs solúveis possuem capacidade de interação com o glicocálix da borda em escova intestinal, ocasionando aumento da espessura da camada de água na mucosa (Angkanaporn et al., 1994). Dessa forma, o aumento da viscosidade da digesta atua como barreira física para a ação de enzimas digestivas, prejudicando a digestão e absorção de aminoácidos, minerais, carboidratos e outros nutrientes (Conte et al., 2003; Sakomura et al., 2014).

Entre os animais não ruminantes, as aves são as mais prejudicadas pelas frações solúveis de β -glucanos e arabinosilanos e seus efeitos na digesta. A maior viscosidade no trato intestinal acarreta maior excreção com alto teor de umidade, aumentando a incidência de cama úmida e produção elevada de amônia, além do maior custo de produção pelas perdas de nutrientes (Schoulten et al., 2003a).

Assim como PNAs solúveis, os insolúveis podem aumentar a viscosidade da digesta quando ingeridos em alta quantidade, no entanto, em menor intensidade. Devido ao estímulo da fibra insolúvel na mucosa intestinal, a taxa de passagem é reduzida, porém com redução do tempo de ação enzimática sobre a digesta e menor metabolizabilidade dos nutrientes (Warpechowski, 1996), além da redução energética do alimento e aumento no consumo como método de compensação da baixa densidade da dieta (Hetland et al, 2004).

A maior parte das rações formuladas para frangos de corte no Brasil são baseadas em produtos de origem vegetal, principalmente o milho e o farelo de soja. Existe grande variação nos teores de PNAs totais desses ingredientes conforme o cultivar, fatores genéticos e ambientais (Afta, 2012) variando de 8,10 a 9,70% e 10,3 a 30,30% no milho e farelo de soja, respectivamente (Malathi e Devegowda, 2001; Ruiz et al., 2008; Tavernari et al., 2008), de

modo que, cerca de 400 a 450 Kcal/kg de energia podem não ser aproveitados quando as aves são alimentadas com estes ingredientes (Cowieson et al., 2010).

Os arabinoxilanos são encontrados em maior quantidade (5,35%) nos grãos de milho, além de 0,10% de β -glucanos, 3,12% de celulose e 1% de pectina, sendo que no farelo de soja predominam polímeros complexos, com 4,21% de arabinoxilanos, 5,15% de celulose e 6,16% de pectina (Malathi e Devegowda, 2001).

No entanto, apesar do milho e o farelo de soja apresentarem boa metabolizabilidade, os efeitos antinutricionais ocasionados pelos PNAs podem ser amenizados com o uso de enzimas exógenas como xilanase, arabinoxilanase, β -glucanase e celulase, melhorando o desempenho animal (Onderci et al., 2006; Carvalho et al., 2009; Selle et al., 2010).

1.6 Xilanase

A xilana é o segundo polissacarídeo encontrado em maior quantidade na natureza por ser um dos principais constituintes das hemiceluloses em muitas espécies vegetais. É localizada na parede celular secundária das plantas, entre a molécula de lignina e as fibras da celulose, formada por resíduos de β -xilopirranose ligadas por pontes glicosídicas β -1,4 (Li et al., 2005; Lee et al., 2009) (Figura 4).

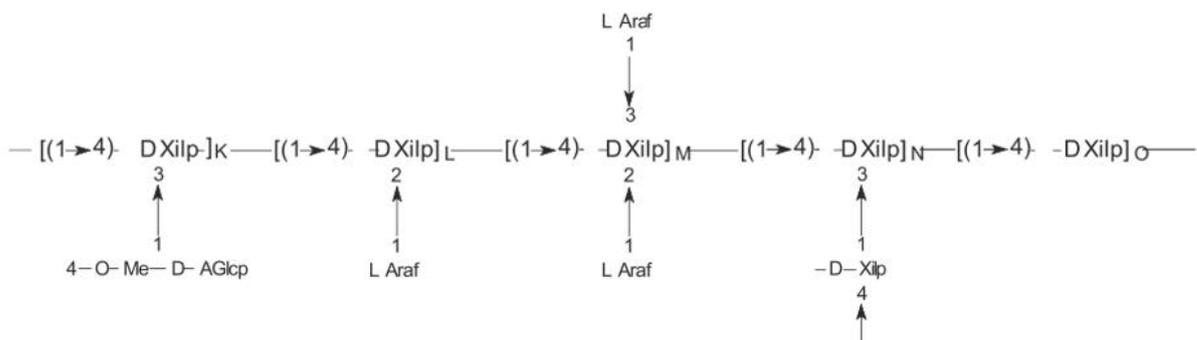


Figura 4. Estrutura química das xilanas. Fonte: Silva et al. (1998).

A xilanase é amplamente encontrada na natureza e produzidas por bactérias, fungos, protozoários, algas, entre outros (Tabela 3), destacando-se os fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Trichoderma* os quais são considerados os maiores produtores (Fengxia et al., 2008; Ustinov et al., 2008; Lee et al., 2009, Carapito et al., 2009). Entre as bactérias destacam-

se as espécies de *Lactobacillus* e *Bacillus subtilis* (Juturu e Wu, 2011) e as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris* (Ahmed et al., 2009).

Tabela 3. Microrganismos utilizados para a obtenção de xilanases

Microrganismos	Condições de cultivo	
	pH	Temperatura (°C)
Bactérias		
<i>Acidobacterium capsulatum</i>	5,0	65
<i>Bacillus circulans</i> WL-12	5,5-7,0	-
<i>Bacillus stearothermophilus</i> T-6	6,5	55
<i>Bacillus polymyxa</i> CECT 153	6,5	50
<i>Bacillus sp.</i> strain K-1	5,5	60
<i>Bacillus sp.</i> NG-27	7,0-8,4	70
<i>Cellulomonas fimi</i>	5,0-6,5	40-45
<i>Cellulomonas sp.</i> N.C.I.M. 2353	6,5	55
<i>Staphylococcus sp.</i> SG-13	7,5-9,2	50
<i>Thermoanaerobacterium sp.</i> JW/SL-YS485	6,2	80
<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	5,4-6,2	92-105
Fungos		
<i>Aspergillus niger</i> ANL-301	5,5	45
<i>Aspergillus kawachii</i> IFO 4308	2,0-5,5	50-60
<i>Aspergillus sojae</i>	5,0-5,5	60
<i>Aspergillus sydowii</i> MG 49	5,5	60
<i>Cephalosporium sp.</i>	8,0	40
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,0	60,5
<i>Geotrichum candidum</i>	4,0	50
<i>Penicillium purpurogenum</i>	7,3-7,5	60,5
<i>Thermomyces lanuginosus</i> DSM 5826	7,0	60,7
<i>Trichoderma harzianum</i>	5,0	50
<i>Trichoderma reesei</i>	5,0-5,5	45,5

Adaptado de Goswami e Pathak (2013).

As xilanases (endo- β -1,4-xilanases) são enzimas que reduzem a viscosidade da digesta pela despolimerização das ligações β (1 \rightarrow 4) glicosídicas das xilanas, reduzindo-as em componentes celulares de menor peso molecular, promovendo o maior contato das enzimas endógenas com os nutrientes do conteúdo celular vegetal (Fengxia et al., 2008). No entanto, estima-se que a xilanase pode degradar somente até 25% das xilanas presente na hemicelulose (Onysko, 1993).

Apesar da relativa degradação dos PNAs, a inclusão das xilanases nas dietas apresenta a capacidade de aumentar a metabolizabilidade das proteínas e do amido dos ingredientes o que pode ser favorecido pela ampla tolerância à variação de pH que as xilanases oriundas de fungos possuem, como por exemplo, o *Trichoderma reesei*, atuante em pH de 3,5 a 6,5. Essa ampla

tolerância permite à xilanase atuar em uma porção extensa do trato gastrintestinal (Costa et al., 2004; Le et al., 2013).

Atualmente, as xilanases estão sendo amplamente empregadas na produção de hidrolisados de resíduos agroindustriais, processamento de alimentos, aumento da metabolizabilidade das dietas para não ruminantes, entre outros usos (Sandrim et al., 2005; Fengxia et al., 2008; Lee et al., 2009).

Estudos recentes demonstraram que as xilanases podem ser utilizadas para obtenção de xilooligossacarídeos (XOS), os quais podem atuar como prebióticos (Lafond et al., 2011; Barreto et al., 2015), com capacidade de estimulação do crescimento e atividade de microrganismos benéficos no trato digestório de frangos de corte (Lafond et al., 2011; Masey-o Neill et al., 2014; Liu e Kim, 2016), com resultados positivos sobre a metabolizabilidade dos nutrientes (Madhukumar e Muralikrishna, 2012; Singh et al., 2012; Masey-o Neill et al., 2014).

Por muitos anos, o estudo da xilanase foi voltado para dietas baseadas em grãos viscosos pela alta concentração de substrato que possuem. Foi constatada que a utilização dessa enzima é capaz de aumentar a metabolizabilidade da energia e dos nutrientes dietéticos, devido à melhora na morfometria intestinal e ao menor gasto energético para a renovação de tecidos e a energia destinada para o crescimento muscular (Yang et al., 2008; Souza et al., 2014).

Ao avaliar a inclusão de xilanase (400 BXU/kg) em dietas para frangos de corte contendo trigo e reduzidas em 150 Kcal/kg de energia metabolizável para obtenção de 2.850 Kcal/kg, Nian et al. (2011) relataram que a conversão alimentar melhorou em 4,3% em relação à aves alimentadas com dietas sem enzimas, além aumentar a metabolizabilidade ileal do nitrogênio e da hemicelulose e reduzir a concentração de coliformes no intestino das aves.

A redução da viscosidade pela xilanase pode acelerar a velocidade de esvaziamento do trato gastrintestinal, reduzindo a fermentação intestinal inibindo o crescimento de microrganismos anaeróbicos e, conseqüentemente, reduzindo a incidência de doenças intestinais (Nian et al. 2011), além de diminuir a necessidade de migração de células imunológicas para o intestino, otimizando assim o desempenho (Guo et al., 2014).

A melhora na eficiência energética ao utilizar xilanase em dietas de frangos de corte formuladas com farelo de trigo também foi constatada por Wang et al. (2005), em que a inclusão da enzima diminuiu a secreção de proteínas endógenas e ácidos graxos, melhorando o desempenho dos frangos principalmente na fase de crescimento com a utilização de 2.480 BXU/kg da enzima. Ao reduzir a viscosidade da digesta no trato digestório, a xilanase também reduz a quantidade de lipídios a serem englobados juntamente com outros nutrientes que seriam

eliminados do organismo (Choct, 1997; Acamovic, 2001; Conte et al., 2003; Sakomura et al., 2014).

A redução da gordura abdominal observada em frangos evidencia os benefícios da suplementação de carboidrases sobre a energia metabolizável dos alimentos, uma vez que há maior disponibilização de nutrientes por estas enzimas para a síntese muscular, sem a necessidade da utilização de aminoácidos para o fornecimento de energia (Montanhini Neto et al., 2012).

O ganho de peso, a altura de vilo, proporção vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo e o número de *Lactobacillus* no intestino de frangos durante a fase de crescimento aumentaram linearmente quando os frangos foram alimentados com níveis crescentes de xilanase (1.875, 3.750 e 5.625 BXU/kg) em dieta contendo trigo. Além disso, Gao et al. (2008) também relataram redução linear da conversão alimentar, excreção de amônia e na contagem ileal e cecal de *E. coli*.

Embora o teor de PNAs do milho e farelo de soja sejam bem menores que os apresentados em outros grãos como o trigo, estudos demonstraram que a inclusão da xilanase em dietas contendo esses ingredientes podem ter sua metabolizabilidade melhorada. Como o observado com o uso de 8.000 BXU/kg de β -xilanase em dietas contendo milho e farelo de soja para frangos com 25 dias de idade, em que a metabolizabilidade ileal da energia melhorou em 100 Kcal (Cowieson et al., 2010).

Além disso, a utilização de complexos enzimáticos que incluem a xilanase, podem melhorar em aproximadamente 2 e 9% a energia metabolizável do milho e farelo de soja, respectivamente (Souza et al., 2008), além de melhorar a metabolizabilidade da proteína de 3,3 até 7,1 % (Kocher et al., 2002; Meng e Slominski, 2005; Novak et al., 2008; Li et al., 2010), com reflexos diretos sobre o ganho de peso e eficiência alimentar das aves (Yu e Chung, 2004; Jia et al., 2009).

Com os resultados obtidos no presente estudo, foram elaborados dois artigos intitulados: Artigo 1- Fitase e xilanase em dietas para frangos de corte com redução de energia metabolizável e ajustes nutricionais: metabolizabilidade, desempenho e rendimentos. Artigo 2- Fitase e xilanase em dietas para frangos de corte com redução de energia metabolizável, fósforo, cálcio e sódio: perfil bioquímico sérico, morfometria e saúde intestinal, redigidos conforme as normas dos Anais da Academia Brasileira de Ciências e adaptações às normas de elaboração de dissertações e teses do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal/FAMEZ/UFMS.

REFERÊNCIAS

- ACAMOVIC, T. Comercial application of enzyme technology for poultry production. **Word's Poultry Science Journal**, v.57, n.3, p.225-242, 2001.
- AFTA, U. Exogenous carbohydases in corn-soy diets for broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.68, p.447-464, 2012.
- AHMED, S.; RIAZ, S.; JAMIL, A. Molecular cloning of fungal xylanases: an overview. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.84, n.1, p.19-35, 2009.
- ALVARENGA, R. R.; NAGATA, A. K.; RODRIGUES, P. B.; ZANFERONIMO, M. G.; PUCCI, L. E. A. HESPANHOL, R. Adição de fitase em rações com diferentes níveis de energia metabolizável, proteína bruta e fósforo disponível para frangos de corte de 1 a 21 dias. **Ciência Animal Brasileira**. v.12, n.4, p.602-609, 2011.
- ANGKANAPORN, K.; CHOCT, M.; BRYDEN, W.L.; ANNISON, E.F.; ANNISON, G. Effects of wheat pentosans on endogenous amino acid losses in chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.66, p.399-404, 1994.
- ARAUJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M.R.; LIMA, C.B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Basilica**, v.1, n.3, p. 69-77, 2007.
- AUGSPURGER, N.R.; WEBEL, D.M.; LEI, X.G. et al. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal Animal Science**, v.81, p.474-483, 2003.
- BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; FERNANDES, J.B.K.; DOURADO, L.R.B. Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.6, p.755-762, 2008.
- BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; BONATO, M.A. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1497-1502, 2012.
- BARRETO, A.R.; ZANCAN, L.R.; MENEZES, C.R. Obtenção de Xilooligossacarídeos por resíduos lignocelulósicos: alternativa para produção de compostos funcionais para alimentos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.19, n.3, p.821-836, 2015.
- BARROS, V.R.S.M.D. **Avaliação nutricional da fitase e suas interações para frangos de corte**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2016, 94f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, 2016.
- BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. Enzymes in farm animal nutrition. 2. ed. CABI, 2010.
- BEDFORD, M. R.; SCHULZE, H. Exogenous enzymes for pigs and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v.11, p.91-114, 1998.

BERTECHINI, A.G. Exigências de minerais para aves. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014, 678p.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2012. 373 p.

BRADDOCK, M.; FUENTE, J. M. Enzimas específicos para porcos em dietas com altos porcentajes de sabada. **Anaporc**, v. 22, n. 158, p. 23-37, 1996.

BRAND-MILLER, J.C.; HOLT, S.H.A.; PAWLAK, D.B.; MCMILLAN, J. Glycemic index and obesity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.1, p.281-255, 2002.

BRITO, M.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; SILVA, T.R.G.; LIMA, R.B.; MORAIS, S.N.; SILVA, J.H.V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – Revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.4, p.111-117, 2008.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p. 259-272, 2005.

CARAPITO, R.; CARAPITO, C.; JELTSCH, JEAN-MARC; VINCENT, P. Efficient hydrolysis of hemicellulose by a *Fusarium graminearum* xylanase blend produced at high levels in *Escherichia coli*. **Bioresource Technology**, v.100, p.845-850, 2009.

CARVALHO, J.C.C.; BERTECHINI, A.G.; FASSANI, E.J.; RODRIGUES, P.B.; PEREIRA, R.A.N. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com complexos enzimáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.292-298, 2009.

CENTENO, C.; VIVEROS, A.; BRENES, A.; CANALES, R.; LOZANO, A.; CUADRA, C. Effect of several germination conditions on total P, phytate P, phytase, and acid phosphatase activities and inositol phosphate esters in rye and barley. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, n. 7, p. 3208-3215, 2001.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical strictures and nutritional significance. **Feed Milling International**, p.13-26, 1997.

CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A.S.; FIALHO, E.T.; SCHOULTEN, N.A.; BERTECHINI, A.G. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1147-1156, 2003.

CONTE, A.J.; TEIXEIRA A.S.; FIGUEIRÊDO, A.V.; VITTI, D.M.S.S.; SILVA FILHO, J.C. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo do farelo de arroz em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.4, p.547-552, 2002.

COSTA, F.G.P.; CLEMENTINO, R.H.; JÁCOME, I.M.T.D.; NASCIMENTO, G.A.J.; PEREIRA, W.E. Utilização de um complexo multienzimático em dietas de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n.2, p.63-71, 2004.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v.85, p.878-885, 2006.

COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p.1860-1867, 2005.

COWIESON, A.J.; BEDFORD, M.R.; RAVINDRAN, V. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers. **British Poultry Science**, v.51, p.246-257, 2010.

DAIRO, F.A.S.; ADESEHINWA, A.O.K.; OLUWASOLA, T.A. High and low dietary energy and protein levels for broiler chickens. **African Journal of Agricultural Research**, v.5, n.15, p.2030-2038, 2010.

DAMIANI, D.; DAMIANI, D. Sinalização cerebral do apetite. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v.9, n.2, p.138-145, 2011.

DE LANGE, C.F.M.; BIRKETT, S.H. Characterization of useful energy content in swine and poultry feed ingredients. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, p.269-280, 2005.

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

EMMANS, G.C. Effective energy: A concept of energy utilization applied across species. **British Journal Nutrition**, v.71, p.801-821, 1994.

ENGELN, A.J.; HEEFT, F.C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v.77, p.760-764, 1994.

FENGXIA, L.; MEI, L.; ZHAOXIN, L.; XIAOMEI, B.; HAIZHEN, Z.; YI, W. Purification and characterization of xylanase from *Aspergillus ficuum* AF-98. **Bioresource Technology**, v.99, p. 5938-5941, 2008.

FREITAS, E. R.; SAKOMURA, N. K.; EZEQUIEL, J. M. B.; NEME, R.; MENDONÇA, M. O. Energia metabolizável de alimentos na formulação de ração para frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.1, p.107-115, 2006.

FREITAS, H.B. **Fitase em dietas de frangos de corte**. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2016, 49f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2016.

FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO, L.R.B.; NEME, R.; FERNANDES, J.B.K.; MARCATO, S.M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.629-635, 2008.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; FURUYA, V.R.B.; MARROS, M.M. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela

tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (linhagem tailandesa). **Acta Scientiarum**, v.23, n.2, p.465-469, 2001.

GAO, F.; JIANG, Y.; ZHOU, G.H.; HAN, Z.K. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.142, p.173-184, 2008.

GARCIA, E.R.M.; MURAKAMI, A.E.; BRANCO, A.F.; FURLAN, A.C.; MOREIRA, I. Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1414-1426, 2000.

GOMES, P.C.; RUNHO, R.C.; D'AGOSTINI, P.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; LOPES, P.S. Exigência de Fósforo Disponível para Frangos de Corte Machos e Fêmeas de 22 a 42 e de 43 a 53 Dias de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1734-1746, 2004.

GOMIDE, E.M.; RODRIGUES, P.B.; BERTECHINI, A.G.; FREITAS, R.T.F.; FASSANI, E.J.; REIS, M.P.; RODRIGUES, N.E.B.; ALMEIDA, E.C. Rações com níveis reduzidos de proteína bruta, cálcio e fósforo com fitase e aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.11, p.2405-2414, 2011.

GOSWAMI, G. K.; PATHAK, R. R. Microbial xylanases and their biomedical applications: a review. **International Journal of Basic & Clinical Pharmacology**, v.2, n.3, p.237-246, 2013.

GUO, S.; LIU, D.; ZHAO, X.; LI, C.; GUO, Y. Xylanase supplementation of a wheat-based diet improved nutrient digestion and mRNA expression of intestinal nutrient transporters in broiler chickens infected with *Clostridium perfringens*. **Poultry Science**, v. 93, p. 94-103, 2014.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B. Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.415-422, 2004.

JIA, W.; SLOMINSKI, B. A.; BRUCE, H. L.; BLANK, G.; CROW, G.; JONES, O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. **Poultry Science**, v.88, n.1, p.132-140, 2009.

JUTURU, V.; WU, J.C. Microbial xylanases: Engineering, production and industrial applications. **Biotechnology Advances**, v.30, n.6, p.1219-1227, 2011.

KOCHER, A.; CHOCT, M.; PORTER, M. D.; BROZ, J. Effects of feed enzymes on nutritive value of soybean meal fed to broilers. **British Poultry Science**, v. 43, n. 1, p. 54-63, 2002.

LAFOND, M.; TAUZIN, A.; DESSEAUX, V.; BONNIN, E.; AJANDOUZ, H.; GIARDINA, T. GH10 xylanase D from *Penicillium funiculosum*: biochemical studies and xylooligosaccharide production. **Microbial Cell Factories**, v.10, n.20, 2011.

LASSEN, S.F.; BREINHOLT, J.; ØSTERGAARD, P.R.; BRUGGER, R.; BISCHOFF, A.; WYSS, M.; FUGLSANG, C.C. Expression, gene cloning, and characterization of five novel phytases from four basidiomycete fungi: *Peniophora lycii*, *Agroclybe pediades*, a *Ceriporia* sp.,

and *Trametes pubescens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.10, p.4701-4707, 2001.

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

LAWRENCE, T.L.J.; FOWLER, V.R. **Growth of farms animals**. 2ed. Wallingford: CAB International, 2002. 347 p.

LE, D.M.; FOJAN, P.; AZEM, D.; PETTERSSON, P.; RANGEL, N. Visualization of the anticaging effect of Ronozyme WX xylanase on wheat substrates. **Cereal chemistry**, v.90, n.5, p.439-444, 2013.

LEE, J.W.; PARK, J.Y.; KWON, M.; CHOI, I.G. Purification and characterization of a thermostable xylanase from the brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.107, n.1, p.33-37, 2009.

LEITE, J.L.B.; RODRIGUES, P.B.; FIALHO, E.T.; FREITAS, R.T.F.; NAGATA, A.K.; CANTARELLI, V.S. Efeito da peletização e adição de enzimas e vitaminas sobre o desempenho e aproveitamento da energia e nutrientes em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.4, p.1292-1298, 2008.

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

LI, X.T.; JIANG, Z.Q.; LI, L.T.; YANG, S.Q.; FENG, W.Y.; FAN, J.Y.; KUSAKABE, I. Characterization of a cellulose-free neutral xylanase from *Thermomyces lanuginosus* CBS 288.54 and its biobleaching effect on wheat straw pulp. **Bioresource Technology**, v.96, p.1370–1379, 2005.

LI, Y.; CHEN, X.; CHEN, Y.; LI, Z.; CAO, Y. Effects of β -mannanase expresses by *pichia pastoris* in corn soybean meal diets on broiler performance, nutriente digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. **Animal Fees Science and Technology**, v.159, n.1, p.59-67, 2010.

LIMA, M.R.; SILVA, J.H.V.; ARAUJO, J.A.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.4, p. 99-110, 2007.

LIU, N.; RU, YJ. Effect of phytase and phytase on the ileal flows of endogenous minerals and amino acids for growing broiler chickens fed purified diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.156, p.126-130, 2010.

LIU, W.; KIM, I. Effects of dietary xylanase supplementation on performance and functional digestive parameters in broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v.96, n.3, p.556-573, 2016.

MADHUKUMAR, M.S.; MURALIKRISHNA, G. Fermentation of xylo-oligosaccharides obtained from wheat bran and Bengal gram husk by lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Journal of Food Science and Technology**, v.49, p.745–752, 2012.

MALATHI, V.; DEVEGOWDA, G. In vitro evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. **Poultry Science**, v.80, n.3, p.302-305, 2001.

MANANGI, M.K.; MAHARJAN, P.; COON, C.N. Effect of different concentrations of dietary P and Ca on plasma inorganic P and urinary P excretion using noncolostomized and colostomized broilers. **Poultry Science**, v.97, n.2, p.522-530, 2018.

MASEY-O NEILL, H. V., M. SINGH, AND A. J. COWIESON. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility, volatile fatty acid production and digestive tract thermal profiles of broilers fed on wheat-or maize-based diet. **British Poultry Science**, v.55, p.351–359, 2014.

MATHLOUTHI, N.; MALLET, S.; SAULNIER, L.; QUEMENER, B.; LARBIER, M. Effects of xylanase and β -glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. **Animal Research**, v. 51, n. 5, p. 395-406, 2002.

MELLO, H.H.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; SOUZA, R.M.; CALDERANO, A.A. Valores de energia metabolizável de alguns alimentos obtidos com aves de diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.863-868, 2009.

MENEGHETTI, C. **Associação de enzimas em rações para frangos de corte**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2013. 93f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

MENEGUETTI, C.; BERTECHINI, A.G.; RODRIGUES, P.B.; FASSANI, E.J.; BRITO, J.A.G.; REIS, M.P; GARCIA JR, A.A.P. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p.624-632, 2011.

MENG, X. SLOMINSKI, B. A. Nutritive value of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydase preparation of cell wall degrading enzymes. **Poultry Science**, v.84, n.8, p.1242-1251, 2005.

MONTANHINI NETO, R.; CECCANTINI, M. L.; FERNANDES, J.I. Productive performance, intestinal morphology and carcass yield of broilers fed conventional and alternative diets containing commercial enzymatic complex. **International Journal of Poultry Science**, v.11, n.8, p.505-516, 2012.

MOTTA, F.; ANDRADE, C.; SANTANA, M. A. **Review of Xylanase Production by the Fermentation of Xylan: Classification, Characterization and Applications**. In: CHANDEL, A. K. e SILVA, S. S. (Eds). Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass - Techniques, Applications and Commercialization: InTech, cap. 10, 2013.

MULLANEY, E.J.; ULLAH, A.H.J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.312, n.1, p.179-184, 2003.

NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2007 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2007, Santos. **Anais...** Santos, São Paulo: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007. p.309-327.

NASCIF, C.C.C.; GOMES, P.C.; ALBINO, L.F.T. Determinação dos valores energéticos de alguns óleos e gorduras para pintos de corte machos e fêmeas aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.375-385, 2004.

NAVES, L.P. **Atividade de fitases microbianas em diferentes condições de armazenamento, pH, temperatura e processamento térmico**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2009, 76f. Dissertação (Dissertação em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, 2009.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014, 425p.

NIAN, F.; GUO, Y.M.; RU, Y.J.; LI, F.D.; PÉRON, A. Effect of Exogenous Xylanase Supplementation on the Performance, Net Energy and Gut Microflora of Broiler Chickens Fed Wheat-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.24, p.400-406, 2011.

NOVAK, C.L.; YAKOUT, H.M.; REMUS, J. Response to varying dietary energy and protein with or without enzyme supplementation on leghorn performance and economics. 2. Laying Period. **Journal of Applied Poultry Research**, v.17, n.1, p.17-33, 2008.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of swine**. Washington, D.C: National Academic Press, 1998.

OLIVEIRA, E.M. **Diferentes inclusões de fitase em dietas de frangos de corte**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2016, 94f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Federal de Goiás, 2016.

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

OLIVEIRA, M.C.; MARQUES, R.H.; GRAVENA, R.A.; MORAES, V.M.B. Morfometria do intestino delgado de frangos testados com dietas adicionadas de mananoligossacarídeos e complexo enzimático. **Biotemas**, v.21, n.3, p.135-142, 2008b.

OLUKOSI, O.A., COWIESON, A.J. AND ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v.86, p.77-86, 2007.

OLUKOSI, O.A.; COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Energy utilization and growth performance of broilers receiving diets supplemented with enzymes containing carbohydrase or phytase activity individually or in combination. **British Journal of Nutrition**, v.99, p.682–690, 2008.

ONDERCI, M.; SAHIN, N.; SAHIN, K.; CIKIM, G.; AYDÍN, A.; OZERCAN, I.; AYDÍN, S. Efficacy of supplementation of alpha-amylase-producing bacterial culture on the performance, nutrient use, and gut morphology of broiler chickens fed a corn-based diet. **Poultry Science**, v.85, n.3, p.505-510, 2006.

ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. Phytase activity along the digestive tract of the broiler chick: a comparative study of an *Escherichia coli* derived and *Peniophora lycii* phytase. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, p.61-68, 2005.

ONYSKO, K.A. Biological bleaching of chemical pulps: a review. **Biotechnology advances**, v.11, n.2, p.179-198, 1993.

PARRA-MARTÍN, J.A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; HANNAS, M.I.; ZAMORA-JERÉZ, E. Redução da exigência de fósforo disponível em dietas com adição de fitase para frangos de corte machos de oito aos 21 dias de idade. **Spei Domus**, v.11, n.22, p.9-16, 2015.

PILLAI, P.B.; CONNOR-DENNIE, T.O.; OWENS, C.M.; EMMERT, J.L. Efficacy of an *Escherichia coli* phytase in broilers fed adequate or reduced phosphorus diets and its effect on carcass characteristics. **Poultry Science**, v.85, p.1737-1745, 2006.

PINHEIRO, S.R.F.; SAKOMURA, N.K.; NASCIMENTO, D.C.N.; DOURADO, L.R.B.; FERNANDES, J.B.K.; THOMAZ, M.C. Níveis nutricionais de fósforo disponível para aves de corte ISA Label criadas em semiconfinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.2, p.361-369, 2011.

QIAN, H.; KORNEGAY, E.T.; DENBOW, D.M. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, v.76, n.5, p.37-46, 1997.

QUINTERO-PINTO, L.G.; PARDO-GAMBOA, B.S.; QUINTERO-PARDO, A.M.C.; PEZZATO, L.E. Exigências e disponibilidade de fontes de fósforo para tilápias. **Veterinária e Zootecnia**, v.5, n.2, p.30-43, 2011.

RAHMAN, A.; PASHA, T.N.; YOUNUS, M. Effect of multi-enzymes supplementation on growth performance of broiler. **Pakistan Journal of Zoology**, v.46, n.2, p.417-422, 2014.

RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Influence of dietary phytic acid and available phosphorus levels on the response of broilers to supplemental natuphos[®]. In: SHORT COURSE ON FEED TECHNOLOGY. Ansong. Korea: Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, 1997. p. 1-56.

RAVINDRAN, V.; CABAHOUG, S.; RAVINDRAN, G. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**. v.78. p.699-706, 1999.

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

RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; SIVALOGAN, S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, v.50, p.133-136, 1994.

RICHARDS, M.P. Genetic regulation of feed intake and energy balance in poultry. **Poultry Science**. v. 82, n.6, p. 907-916, 2003.

RICHARDS, M.P.; PROSZKOWIEC-WELGLARZ, M.; Mechanisms of regulating feed intake, energy expenditure, and body weight in poultry. **Poultry Science**, v. 86, n.7, p. 1478 – 1490. 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; ABREU, M.L.T.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.T.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais)**. 4.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2017. 488p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais)**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2011. 252p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais)**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 186p.

RUIZ, U.S., THOMAZ, M.C., HANNAS, M.I., FRAGA, A.L., WATANABE, P.H. SILVA, S.Z. Complexo enzimático para suínos: digestão, metabolismo, desempenho e impacto ambiental. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.458-468, 2008.

RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S. et al. Exigência de Fósforo Disponível para Frangos de Corte Machos e Fêmeas de 1 a 21 Dias de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.1, p.187-196, 2001.

SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. 678 p.

SANDRIM, V.C.; RIZZATTI, A.C.S.; TERENCE, H.F.; JORGE, J.A.; MILAGRES, A.M.F.; POLIZELI, M.L.T.M. Purification and biochemical characterization of two xylanases produced by *Aspergillus caespitosus* and their potential for kraft pulp bleaching. **Process Biochemistry**, v.40, p.1823-1828, 2005.

SANTOS, L.M.; RODRIGUES, P.B.; ALVARENGA, R.R.; NEVES, L.P.; HESPANHOL, R.; LIMA, G.F.R.; LARA, M.C.C.; SILVA, L.R. Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações suplementadas com fitase para frangos de corte nas fases de crescimento e final. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, n.11, p.2486-2495, 2011.

SARTORELLI, D.S.; CARDOSO, M.A. Associação Entre Carboidratos da Dieta Habitual e Diabetes Mellitus Tipo 2: Evidências Epidemiológica. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabolismo**, v.50, n.3, p.415-426, 2006.

SCAPIM, M.R.S.; LOURES, E.G.; ROSTAGNO, H.S.; CECON, P. R.; SCAPIM, C. A. Avaliação nutricional da farinha de penas e de sangue para frangos de corte submetida a diferentes tratamentos térmicos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.25, n.1, p.91-98, 2003.

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

SCHOULTEN, N.A.; TEIXEIRA, A.S.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F.; CONTE, A.J.; SILVA, H.O. Desempenho de frangos de corte alimentados com ração contendo farelo de arroz e enzimas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.6, p.1380-1387, 2003a.

SCHRAMM, V.G.; DURAU, J.F.; BARRILLI, L.N.E.; SORBARA, J.O.B.; COWIESON, A.J.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science**, v.96, p.1204–1211, 2017.

SELLE, P.H.; CADOGAN, D.J.; RU, Y.J.; PARTRIDGE, G.G. Impact of exogenous enzymes in sorghum – or wheat – based broiler diets on nutrient utilization and growth performance. **Journal of Poultry Science**, v.1, n.9, p.53-58, 2010.

SELLE, P.H.; WALKER, A.R.; BRYDEN, W.L. Total and phytate-phosphorus contents and phytase activity of Australian-sourced feed ingredients for pigs and poultry. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 43, n. 5, p. 475-479, 2003.

SHELTON, J.L.; SOUTHERN, L.L.; GASTON, L.A.; FOSTER, A. Evaluation of the nutrient matrix values for phytase in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, p.213-221, 2004.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v.12, n.1, p.5-19, 1999.

SILVA, S.S.; CARVALHO, R.R; FONSECA, J.L.C.; GARCIA, R.B. Extração e caracterização de xilanas de sabugos de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p.25-33, 1998.

SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F.; BERTECHINI, A.G.; FIALHO, E.T.; FASSANI, E.J.; PEREIRA, C.R. Redução de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e teores de minerais na cama. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.840-848, 2006.

SINGH, A., MASEY O'NEILL, H.V., GHOSH, T.K., BEDFORD, M.R. & HALDAR, S. Effects of xylanase supplementation on performance, total volatile fatty acids and selected bacterial population in caeca, metabolic indices and peptide YY concentrations in serum of broiler chickens fed energy restricted maize–soybean based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.177, p.194–203, 2012.

SOUSA, J.P.L.; ALBINO, L.F.T.; VAZ, R.G.M.V.; RODRIGUES, K.F.; STRINGHINI, J.H.; KNOPP, R. M.; KANEKO, I.N.; KREUZ, B.S. Balanços nutricionais e excreção de nutrientes

para frangos alimentados com dietas contendo fitase do 14° ao 24° dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.2, p.493-503, 2014.

SOUZA, K.M.R.; FARIA, D.E.; ARAÚJO, R.B.; SAKAMOTO, M.I.; SANTOS, T.T.; KIKUCHI, C.G.; NAKASHIMA, D.T.; CAETANO, V.C. Performance and morphometry of the intestinal mucosa of laying hens fed diets containing xylanase. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.16, n.3, p.241-247, 2014.

SOUZA, R. M.; BERTECHINI, A, G.; SOUSA, R. V.; RODRIGUES, P. B.; CARVALHO, J. C. C.; BRITO, J. A. G. Efeitos da suplementação enzimática e da forma física da ração sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.2, p. 584-590, 2008.

STEFANELLO, C.; VIEIRA, S.L.; CARVALHO, P.S.; SORBARA, J.O.B. COWIESON, A.J. Energy and nutrient utilization of broiler chickens fed corn-soybean meal and corn-based diets supplemented with xylanase. **Poultry Science**, v,95, n.8, p.1881-1887, 2016.

STURKIE, P.D. **Avian Physiology**. 4ed. New York: Springer-Verlag, 1986. 516p.

SUGAHARA, K. Energy utilization of growing chicks in various nutritional conditions. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.16, n.6 p.903-909, 2003.

TAVERNARI, F.C., CARVALHO, T.A., ASSIS, A.P. E LIMA, H.J.D. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, p.673-689, 2008.

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

TORRES, D. M.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A.G.; FREITAS, R.T.F.; SANTOS, E.C. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.6, p.1401-1408, 2003.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3ed. Londres: British, 1999, 624p.

USTINOV, B.B.; GUSAKOV, A.V.; ANTONOV, A.I.; SINITSYN, A.P. Comparison of properties and mode of action of six secreted xylanases from *Chrysosporium lucknowense*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.43, n.1, p.56-65, 2008.

VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (*myo*-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v.35, n.1, p. 3-14, 2004.

VIEITES, F.M.; FRAGA, A.L.; MORAES, G.H.K.; VARGAS JÚNIOR, J.G.; NALON, R.P.; CORRÊA, G.S.S.; NUNES, R.V. Cálcio, fósforo e proteína total no sangue de frangos de corte em função de níveis de balanço eletrolítico da ração. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.887-894, 2011.

VOHRA, P.; GRAY GA.; KRATZER, F.H Phytic acid-metal complexes. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.120, n.2, p.447-449, 1965.

WANG, Z.R.; QIAO, S.Y.; LU, W.Q.; LI, D.F. Effects of Enzyme Supplementation on Performance, Nutrient Digestibility, Gastrointestinal Morphology, and Volatile Fatty Acid Profiles in the Hindgut of Broilers Fed Wheat-based Diets, **Poultry Science**, v.84, p.875–881, 2005.

WARPECHOWSKI, M. B. **Efeito da fibra insolúvel da dieta sobre a passagem no trato gastrintestinal de aves intactas, cecectomizadas e fistuladas no íleo terminal**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996. 125 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996.

WYATT, C.L. BEDFORD, M.R. Uso de enzimas nutricionais para maximizar a utilização de nutrientes pelo frango de corte em dietas à base de milho: recentes progressos no desenvolvimento e aplicação prática. In: SEMINÁRIO TECNICO FINNFEEDS, 1998. Curitiba. Anais... Curitiba: FINNFEEDS, p.2-12, 1998.

YANG, Y.; IJI, P.A.; KOCHER, A.; MIKKELSEN, L.L.; CHOCT, M. Effects of xylanase on growth and gut development of broiler chickens given a wheat-based diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.21, n.11, p.1659-1664, 2008.

YU, B.; CHUNG, T. K. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broilers fed corn-soybean meals diets. **Journal Applied Poultry Research**, v.13, n.2, p.178-182, 2004.

Fitase e xilanase em dietas para frangos de corte com redução de energia metabolizável e ajustes nutricionais: metabolizabilidade, desempenho e rendimentos de cortes

RESUMO: Esse estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a inclusão de fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (EM), fósforo (P), cálcio (Ca) e sódio (Na) sobre a metabolizabilidade, desempenho e rendimentos de carcaça e cortes de frangos de corte. Foram utilizados 250 frangos distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições de 10 aves cada. Os tratamentos foram: dieta controle positivo – exigência nutricional completa e sem fitase e xilanase, dieta controle negativo - redução de 100 Kcal/kg de EM, 0,15% de P, 0,165% de Ca e 0,035% de Na sem fitase e xilanase e dietas com reduções de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM, P (0,15%), Ca (0,165%) e Na (0,035%) com fitase e xilanase. A alimentação das aves com a dieta controle negativo piorou os coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes em relação aos demais tratamentos. O coeficiente de metabolizabilidade do P e da proteína foram superiores em todos os tratamentos que receberam fitase e xilanase com redução de EM, P, Ca e Na. O desempenho na fase pré inicial não foi influenciado, com exceção do consumo de P. Nas fases posteriores, a dieta controle negativo reduziu o desempenho e pesos absolutos da coxa e sobrecoxa, dorso e asas. Nas dietas com redução de 100 Kcal/kg de EM e ajustadas para P, Ca e Na, a adição de fitase e xilanase melhorou o desempenho a partir da fase inicial. Conclui-se que com a inclusão de fitase (500 FTU/kg) e xilanase (16.000 BXU/kg) nas dietas de frangos de corte é possível reduzir em até 150 Kcal/kg a EM, 0,15% o P disponível, 0,165% o Ca e em 0,035% o Na e, melhorar a metabolizabilidade dos nutrientes sem prejudicar o desempenho e os rendimentos de carcaça e principais cortes nobres.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido fítico. Aditivos. Carboidrase. Enzima exógena. Polissacarídeos não amiláceos.

Phytase and xylanase in diets for broilers with metabolizable energy reduction and nutritional adjustments: metabolizability, performance and cutting yields

ABSTRACT: This study was conducted with the objective to assess the inclusion of phytase and xylanase in diets with metabolizable energy (ME), phosphorus (P), calcium (Ca) and sodium (Na) in metabolizability, performance and carcass yield cuts of broilers. 250 broilers were used, distributed in a completely randomized design with five treatments and five replications of 10 broiler each. The treatments were: positive control diet - complete nutritional requirement and no FX, negative control diet - reduction of 100 Kcal/kg of MS, P (0.15%), Ca (0.165%) and Na (0.035%) without FX and diets with reductions of 50, 100 and 150 Kcal/kg of MS, P (0.15%), Ca (0.165%) and Na (0.035%) with FX. Feeding the broilers with the negative control diet worsened the metabolizable coefficients (MC) of the nutrients in relation to the other treatments. Feeding of the broilers with the negative control diet worsened the metabolizability coefficients of the nutrients in relation to the other treatments. The metabolizability coefficient of P and protein were higher in all treatments receiving phytase and xylanase with reduction of ME, P, Ca and Na. The performance in the pre-initial phase was not influenced, except for the consumption of P. In the later stages, the negative control diet reduced the performance and absolute weights of the thigh and overcoat, back and wings. In the diets with reduction of 100 Kcal/kg of MS and adjusted for P, Ca and Na, the addition of phytase and xylanase improved the performance from the initial phase. It is concluded that with the inclusion of phytase (500 FTU/kg) and xylanase (16.000 BXU/kg) in the diets of broiler, it is possible to reduce by up to 150 Kcal/kg ME, 0.15% available P, 0.165% Ca and .035% Na and improve the metabolizability of nutrients without impairing performance and carcass yields and main noble cuts.

KEYWORDS: Additive. Carbohydrase. Exogenous enzyme. Non-starch polysaccharides. Phytic acid.

INTRODUÇÃO

O moderno contexto no qual a nutrição de frangos de corte está inserido, possibilita a formulação de dietas contendo enzimas comerciais com objetivo de melhorar a metabolizabilidade dos nutrientes e o aproveitamento de alimentos de origem vegetal ao atuarem na quebra de fitatos e polissacarídeos não amiláceos (PNAs) solúveis e insolúveis. As enzimas atuantes nesses substratos, fitase e xilanase, respectivamente, não são produzidas ou possuem produção endógena insignificante pelas aves (Munir e Maqsood, 2013).

A fitase é responsável pela quebra dos complexos insolúveis do ácido fítico, com a liberação de fósforo (P), minerais, proteína, aminoácidos e amido tornando-os passíveis de absorção (Ravindran et al., 1999). Por sua vez, as xilanases atuam na hidrolização de carboidratos da parede celular vegetal, liberando amido e lipídios encapsulados (Cowieson, 2005) ou nutrientes que foram englobados pela viscosidade dos PNAs durante sua passagem no intestino da ave (Carré, 2004), melhorando a ação das enzimas endógenas sobre esses nutrientes (Francesch e Geraert, 2009).

Os fitatos e PNAs estão naturalmente presentes na dieta das aves. Estima-se que a biodisponibilidade do fósforo no milho está em torno de 27,6% e no farelo de soja em 37,3%, ocorrendo variações entre cultivares (Rostagno et al., 2017). Da mesma forma, teores de PNAs no milho e farelo de soja variam em função do cultivar, fatores genéticos e ambientais (Afta, 2012), variando de 8,1-9,7% e 10,3-30,3%, respectivamente (Ruiz et al., 2008; Tavernari et al., 2008).

Estudos sugerem que a associação entre a fitase e carboidrases pode ser considerada de efeito aditivo (Cowieson e Adeola, 2005; Schramm et al., 2017), uma vez que a eficiência da fitase adicionada à dieta pode ser reduzida pelo acesso restrito ao substrato na presença de PNAs. Da mesma forma, a insuficiência da fitase poderia reduzir a ação das carboidrases em nutrientes que possam estar complexados à molécula de fitato (Olukosi et al., 2007).

A melhora na metabolizabilidade da matéria seca, P, proteína bruta (PB) e da energia metabolizável aparente (EMA) está entre os fatores observados com a associação da fitase e xilanase em dietas elaboradas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte (Schramm et al., 2017).

A suplementação com fitase de forma isolada possibilita a redução nos níveis de proteína bruta e minerais como o P, cálcio (Ca) e sódio (Na) nas formulações, sem influenciar o desempenho das aves (Lelis et al., 2010; Donato et al., 2011; Meneghetti et al., 2011). Apesar dessa redução dos nutrientes ser possível pela maior metabolizabilidade que a enzima

proporciona, o Ca deve ser reduzido proporcionalmente à redução nos níveis de P total (Schoulten et al., 2003), para evitar o aumento do pH intestinal com formação de fitato de cálcio e sua interação com o ferro, magnésio e zinco e reduzir a atividade da fitase pela alta concentração de Ca (Qian et al., 1997). Da mesma forma, altas concentrações de Na podem interagir com o fitato indisponibilizando aminoácidos endógenos e reduzir o efeito da fitase (Cowieson et al., 2011).

Com a utilização da xilanase, o nível de energia metabolizável (EM) também pode ser reduzido nas dietas para frangos, uma vez que mantem o mesmo desempenho comparado à dietas sem enzimas em função da capacidade de incrementar a metabolizabilidade da energia (Jia et al., 2009; Nian et al., 2011; Stefanello et al., 2016), além de melhorar a saúde intestinal das aves (Guo et al., 2014).

Assim, a ação sinérgica entre a fitase e a xilanase pode contribuir para aumentar a rentabilidade da produção e favorecer a redução dos custos ao proporcionar o mesmo desempenho em relação à aves alimentadas com uma dieta tradicional, bem como minimizar os impactos ambientais em função da melhor metabolizabilidade dos nutrientes das dietas.

Desta forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a inclusão de fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável, P, Ca e Na sobre a metabolizabilidade, desempenho e rendimentos de carcaça e cortes de frangos de corte

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório Experimental em Ciência Aviária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMS) protocolado com o número 737/2015.

Foram alojados 250 pintainhos de um dia, machos, da linhagem Cobb 500 até 42 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições de 10 aves cada. As aves foram padronizadas por peso ($\pm 10\%$) do peso médio do lote), de forma que todas as unidades experimentais possuíssem pesos semelhantes.

Os frangos foram alojados em galpão convencional, coberto por telha de fibrocimento e dividido em 25 boxes de 2,5 m² com piso de terra batida, sendo utilizada maravalha (lascas de madeira não tratada) como cama e equipados com campânulas elétricas contendo duas lâmpadas incandescentes de 100 W para o aquecimento das aves, comedouros tubular e bebedouros pendular. As dietas e água foram fornecidas à vontade.

O programa de iluminação adotado foi o de 24 horas por dia (natural + artificial) durante todo o período experimental. Diariamente foram verificadas a ocorrência de mortalidade e as temperaturas, máxima e mínima, e a umidade relativa do ar, às 07 e 17h.

Os tratamentos foram: dieta controle positivo com exigência nutricional completa e sem fitase e xilanase, dieta controle negativo com redução de 100 Kcal/kg de EM sem fitase e xilanase e dietas com reduções de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM com fitase e xilanase. Para todas as dietas reduzidas em EM foi considerada a matriz nutricional da fitase com redução de P disponível (0,15%), Ca (0,165%) e Na (0,035%).

A fitase utilizada foi proveniente do microrganismo *Escherichia coli* e a xilanase do *Trichoderma reesei*, com inclusão fixada em 75 g/t (500 FTU) e 100 g/t (16.000 BXU/kg) de ração, respectivamente, ambas as enzimas foram obtidas de empresas comerciais.

As dietas experimentais foram na forma farelada e formuladas a base de milho e farelo de soja, de forma a atenderem as exigências nutricionais das aves segundo as recomendações de Rostagno et. al. (2011) para cada fase de criação: pré inicial – 1 a 7 dias (Tabela 4), inicial – 8 a 21 dias (Tabela 5), crescimento - 22 a 33 dias (Tabela 6) e pré abate – 34 a 42 dias (Tabela 7), exceto para energia metabolizável, P disponível, Ca e Na.

O ensaio de metabolizabilidade teve início a partir do 14º dia de idade e consistiu em três dias de adaptação às dietas experimentais e cinco dias de coleta parcial de excretas. O dióxido de titânio (TiO₂) foi utilizado como indicador para determinação dos valores de metabolizabilidade dos nutrientes e energia metabolizável em uma concentração de 0,5% incluído em substituição ao inerte nas dietas experimentais.

Para a coleta de excretas, em cada unidade experimental a cama dos boxes foi coberta totalmente por lona dupla face (150 µm), de forma a evitar a entrada de cama e contaminação das amostras. As excretas foram coletadas duas vezes ao dia (8 e 16 h) para evitar fermentação, por meio de raspagem, descartando resíduos da dieta, penas ou qualquer material contaminante. Em cada horário de coleta as lonas com excretas foram substituídas por lonas limpas e as amostras acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e congeladas para posteriores análises.

Tabela 4. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase pré inicial (1 a 7 dias de idade)

Ingredientes %	Controle positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%	54,05	54,05	54,05	54,05	54,05
Farelo de soja, 46%	38,82	38,82	38,82	38,82	38,82
Óleo de soja	2,57	1,42	1,99	1,42	0,85
Fosfato bicálcico	1,90	1,09	1,09	1,09	1,09
Calcário calcítico	0,91	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal comum	0,51	0,42	0,42	0,42	0,42
Suplemento min-vit. ¹	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL- Metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L- Lisina HCl	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
L- Treonina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Inerte	0,10	2,05	1,48	2,05	2,62
Xilanase	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,00	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2.960	2860	2910	2860	2810
Proteína bruta (%)	22,71	22,71	22,71	22,71	22,71
Proteína bruta (%)*	25,08	25,72	25,32	25,17	25,31
Arginina dig. (%)	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43
Lisina dig. (%)	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32
Metionina+cistina dig. (%)	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Treonina dig. (%)	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
Triptofano dig. (%)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Cálcio (%)	0,92	0,75	0,75	0,75	0,75
Potássio (%)	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
Fósforo disp. (%)	0,47	0,32	0,32	0,32	0,32
Cloro (%)	0,35	0,30	0,30	0,30	0,30
Sódio (%)	0,22	0,18	0,18	0,18	0,18
Número de Mogin (mEq/kg)	217,56	217,16	217,16	217,16	217,16

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.*Valores analisados em bancada.

Tabela 5. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase inicial (8 a 21 dias de idade)

Ingredientes %	Controle positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%		58,16	58,16	58,16	58,16
Farelo de soja, 46%	34,75	34,75	34,75	34,75	34,75
Óleo de soja	2,62	1,48	2,05	1,48	0,91
Fosfato bicálcico	1,49	0,67	0,67	0,67	0,67
Calcário calcítico	0,91	1,01	1,01	1,01	1,01
Sal comum	0,50	0,39	0,39	0,39	0,39
Suplemento min-vit ¹	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL- Metionina	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
L- Lisina HCl	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
L- Treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Inerte	0,52	2,47	1,88	2,45	3,02
Xilanase	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,00	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3.050	2.950	3.000	2.950	2.900
Proteína bruta (%)	21,20	21,20	21,20	21,20	21,20
Proteína bruta (%)*	24,00	24,62	24,52	24,50	24,88
Arginina dig. (%)	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31
Lisina dig. (%)	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
Metionina+cistina dig. (%)	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Treonina dig. (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Triptofano dig. (%)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Cálcio (%)	0,84	0,68	0,68	0,68	0,68
Potássio (%)	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Fósforo disp. (%)	0,40	0,25	0,25	0,25	0,25
Cloro (%)	0,33	0,27	0,27	0,27	0,27
Sódio (%)	0,21	0,17	0,17	0,17	0,17
Número de Mogin (mEq/kg)	206,78	206,32	206,32	206,32	206,32

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina. *Valores analisados em bancada.

Tabela 6. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de crescimento (22 a 33 dias de idade)

Ingredientes %	Controle Positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%	60,44	60,44	60,44	60,44	60,44
Farelo de soja, 46%	31,63	31,63	31,63	31,63	31,63
Óleo de soja	4,17	3,03	3,60	3,03	2,46
Fosfato bicálcico	1,34	0,53	0,53	0,53	0,53
Calcário calcítico	0,89	0,98	0,98	0,98	0,98
Sal comum	0,46	0,37	0,37	0,37	0,37
Suplemento min-vit ¹	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DL- Metionina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L- Lisina HCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
L- Treonina	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Inerte	0,15	2,10	1,53	2,10	2,67
Xilanase	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3.150	3.050	3.100	3.050	3.000
Proteína bruta (%)	19,82	19,82	19,82	19,82	19,82
Proteína bruta (%)*	22,97	21,83	22,14	21,60	22,13
Arginina dig. (%)	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
Lisina dig. (%)	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
Metionina+cistina dig. (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Treonina dig. (%)	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Triptofano dig. (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cálcio (%)	0,76	0,59	0,59	0,59	0,59
Potássio (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Fósforo disp. (%)	0,35	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,32	0,27	0,27	0,27	0,27
Sódio (%)	0,20	0,16	0,16	0,16	0,16
Número de Mogin (mEq/kg)	188,29	187,89	187,89	187,89	187,89

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.* *Valores analisados em bancada.

Tabela 7. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de pré abate (34 a 42 dias de idade)

Ingredientes %	Controle positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%	63,30	63,30	63,30	63,30	63,30
Farelo de soja, 46%	28,96	28,96	28,96	28,96	28,96
Óleo de soja	4,36	3,21	3,78	3,21	2,64
Fosfato bicálcico	1,12	0,31	0,31	0,31	0,31
Calcário calcítico	0,79	0,88	0,88	0,88	0,88
Sal comum	0,44	0,36	0,36	0,36	0,36
Suplemento min-vit. ¹	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DL- Metionina	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
L- Lisina HCl	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
L- Treonina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Inerte	0,15	2,11	1,54	2,11	2,68
Xilanase	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,00	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3.200	3.100	3.150	3.100	3.050
Proteína bruta (%)	18,78	18,78	18,78	18,78	18,78
Proteína bruta (%)*	21,42	20,85	21,14	21,51	21,14
Arginina dig. (%)	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14
Lisina dig. (%)	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06
Metionina+cistina dig. (%)	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Treonina dig. (%)	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
Triptofano dig. (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cálcio (%)	0,66	0,50	0,50	0,50	0,50
Potássio (%)	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
Fósforo disp. (%)	0,31	0,16	0,16	0,16	0,16
Cloro (%)	0,32	0,26	0,26	0,26	0,26
Sódio (%)	0,19	0,16	0,16	0,16	0,16
Número de Mogin (mEq/kg)	177,77	177,36	177,36	177,36	177,36

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico final: 1.104 mg Ácido Pantotênico; 4,5 mg Biotina; 3.000 mg Cobre; 43,48 g Colina; 10 g Ferro; 333,33 mg Iodo; 20 g Iodo; 20 g Manganês; 301,95 g Metionina; 1.500 mg Niacina; 60 mg Selênio; 900.000 UI Vitamina A; 90 mg Vitamina B1; 900 mcg Vitamina B12; 300 mg Vitamina B2; 120 mg Vitamina B6; 150.000 UI Vitamina D3; 1.500 UI Vitamina E; 150 mg Vitamina K3; 20 g Zinco. *Valores analisados em bancada.

Ao término do período total de coleta todas as amostras de excretas correspondentes de cada unidade experimental foram homogeneizadas e retiradas duas alíquotas (± 800 g) para análises. As amostras foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada (55°C) por 72 horas e, posteriormente processadas em moinho de bola para obtenção de material finamente moído e acondicionadas em sacos plásticos para análises de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, fósforo e extrato etéreo (Silva e Queiroz, 2006). A energia bruta foi determinada pela queima da amostra em bomba calorimétrica.

Foram determinados os coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca, fósforo, proteína bruta, extrato etéreo, valores de energia metabolizável aparente, energia metabolizável aparente corrigida para retenção de nitrogênio das rações e retenção de nitrogênio por dia. Os cálculos da metabolizabilidade dos nutrientes (método de coleta parcial de excretas) foram realizados por intermédio do fator de indigestibilidade do titânio, usado como indicador pelas fórmulas:

Fator de indigestibilidade nas excretas (FI):

$$\text{FI} = [\text{TiO}_2] \text{ na dieta} / [\text{TiO}_2] \text{ amostra (excreta)}$$

Em que: $[\text{TiO}_2]$ concentração de dióxido de titânio;

Coefficiente de metabolizabilidade (CM):

$$\text{CM} = (\% \text{ do nutriente na dieta}) - (\% \text{ do nutriente nas excretas} \times \text{FI}) / (\% \text{ do nutriente na dieta})$$

Em que: FI corresponde ao fator de indigestibilidade nas excretas;

Os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida (EMAn) foram determinados por meio das fórmulas:

$$\text{EMA (Kcal/kg de matéria seca)} = \text{EB da dieta} - (\text{EB da excreta} \times \text{FI da excreta});$$

$$\text{EMAn (Kcal/kg de matéria seca)} = \text{EB da dieta} - [(\text{EB da excreta} \times \text{FI excreta}) + 8,22 \times (\text{BN})];$$

$$\text{BN} = \text{Balanço de nitrogênio} = \text{N da dieta} - (\text{N da excreta} \times \text{FI da excreta}).$$

O desempenho das aves foi avaliado pelo peso médio (g), ganho de peso (g/ave), consumo de ração (g/ave), conversão alimentar (kg/kg) e os consumos de EM (Kcal/ave), P disponível (g/ave), proteína bruta (g/ave) e lisina digestível (g/ave), obtidos semanalmente e analisados nos períodos acumulados de 1 a 7, 1 a 21, 1 a 33 e 1 a 42 dias de idade.

Para obtenção do peso médio corporal, as aves de cada box foram pesadas juntas em balança semi analítica ($\pm 0,01$ g) e o ganho de peso calculado pela diferença entre o peso final e o inicial das aves. O consumo de ração foi calculado por meio da diferença entre a quantidade de ração fornecida e a de sobras ao término de cada semana que compôs a fase de criação.

A conversão alimentar foi determinada dividindo a ração consumida (kg) pelo peso total (kg) das aves em cada unidade experimental. Os consumo de EM, P disponível, proteína bruta e lisina digestível por meio da relação da quantidade fornecida na dieta com o consumo de ração pela ave. O ganho de peso e a conversão alimentar foram corrigidos pela mortalidade segundo Sakomura e Rostagno (2007).

No 1º dia de idade das aves o peso inicial foi registrado para padronização de peso das unidades experimentais. Ao 42º dia, a viabilidade criatória de cada repetição foi determinada pela quantidade de aves vivas em relação ao total de aves da unidade experimental multiplicado por 100.

Para análises de composição bromatológica das carcaças e determinação da deposição corporal de proteína bruta e gordura foram amostrados 12 pintainhos com um dia de idade e cinco aves por tratamento aos 21 e 42 dias de idade, com peso vivo próximo ao peso médio ($\pm 10\%$) da unidade experimental.

Nesses períodos, as aves foram identificadas por anilhas plásticas, submetidas a jejum sólido de seis horas (exceto aquelas abatidas com um dia de idade) e posteriormente insensibilizadas por deslocamento cervical e abatidas por meio de sangria completa. Posteriormente, os frangos foram depenados e eviscerados. A carcaça sem pés, cabeça e pele foi desossada, moída e homogeneizada e armazenada em freezer para posterior análise laboratorial.

As amostras foram pré-secas em estufa com ventilação forçada a 55°C, por 96 horas. Posteriormente, as amostras foram processadas em moinho de bola para obtenção de material finamente moído para realização das análises de matéria seca definitiva, proteína bruta e extrato etéreo de acordo com a metodologia proposta por Silva e Queiroz (2006). Todos os dados de deposição foram calculados pela diferença das demais idade em relação ao 1º dia e expressos em relação à matéria seca da carcaça.

No 42º dia antes da desossa, as carcaças foram pesadas em balança semi analítica ($\pm 0,01$ g) para avaliação do peso absoluto e rendimento de carcaça, peito inteiro, pernas inteiras (coxas e sobrecoxas), asas, coxinha da asa, dorso, gordura abdominal (considerada aquela extraída da região próxima à cloaca). Os órgãos também foram pesados para obtenção dos pesos absoluto

e relativo do coração, fígado, moela, baço, pâncreas, bolsa cloacal, proventrículo e intestino delgado.

O rendimento de carcaça (%) foi calculado pela relação entre o peso da carcaça quente (eviscerada, sem pés, cabeça e pescoço) e o peso da ave após jejum antes do abate:

$$\text{Rendimento de carcaça (\%)} = \text{Peso da carcaça quente (g)} \times 100 \div \text{Peso da ave antes do abate}$$

O rendimento dos cortes e o peso relativo dos órgãos foram calculados pela relação entre o peso do corte/órgão e o peso da carcaça quente (eviscerada, sem pés, cabeça e pescoço):

$$\text{Rendimento de cortes/órgãos (\%)} = \text{Peso do corte/órgão} \times 100 \div \text{Peso carcaça quente}$$

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey e também por contrastes ortogonais pelo Teste de Scheffer, ambos ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas por meio do programa estatístico SAS (versão University). Os contrastes testados foram:

C1 – tratamento com redução de 100 Kcal/kg de EM, P, Ca e Na com fitase e xilanase x tratamento com redução de 100 Kcal/kg de EM, P, Ca e Na sem fitase e xilanase, indicando o efeito da suplementação enzimática sobre a redução de 100 Kcal/kg de EM;

C2 – controle positivo x demais tratamentos, o qual demonstra o efeito da redução de EM, P, Ca e Na em relação à dieta controle positivo;

C3 – controle positivo x tratamentos contendo redução de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM, P, Ca e Na com fitase e xilanase, indicando o efeito da redução de EM, seus ajustes nutricionais e a suplementação enzimática em relação à dieta controle positivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de temperatura e umidade relativa do ar (UR) observadas durante todo o período experimental (Tabela 8) demonstraram que as aves foram mantidas dentro da zona de conforto térmico considerada para a linhagem (fase pré inicial: 29-33°C e 30-60% UR, demais fases: 18-26°C e 50-70% UR) (Coob Vantres, 2008).

Tabela 8. Valores mínimos, máximos e médios de umidade relativa do ar e temperatura ambiental registrados durante o período experimental

Fase de criação	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)		
	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima	Média
1 a 7 dias	24,4	31,6	28,0	59,3	80,9	70,1
8 a 21 dias	19,7	27,0	23,3	66,5	78,3	72,4
22 a 33 dias	19,3	27,0	23,1	54,7	77,1	65,9
34 a 42 dias	19,8	27,8	23,8	43,6	68,0	55,8

A redução de EM, P, Ca e Na associada a inclusão de fitase e xilanase influenciaram ($P < 0,05$) os coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes das dietas de frangos de corte aos 21 dias (Tabela 9).

Os resultados demonstraram que na menor e maior redução energética (50 e 150 Kcal/kg, respectivamente) a utilização das enzimas atuou de forma eficiente ($P < 0,05$) para o aproveitamento dos nutrientes pela melhor metabolizabilidade da matéria seca, uma vez que esse coeficiente reflete a metabolizabilidade dos nutrientes e o seu aumento indica maior absorção (Barbosa et al., 2008a). A redução de 100 Kcal/kg de EM com e sem enzimas nas dietas apresentaram valores intermediários para essa variável.

Tabela 9. Coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes e teores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para retenção de nitrogênio (EMAn) e balanço de nitrogênio (NR) de dietas para frangos de corte com 21 dias de idade

Redução de energia metabolizável (Kcal/kg)*	Enzimas	Variáveis**					
		CMMS (%)	CMP (%)	CMPB (%)	EMA (Kcal/kg)	EMAn (Kcal/kg)	BN (g/dia)
0	Sem	52,19c	27,97b	52,82c	3240,26abc	3073,53ab	1,69
100	Sem	55,41b	26,34b	52,49c	3186,78c	3023,65b	1,42
50	Com	60,36a	43,04a	57,23ab	3324,92a	3140,61a	1,60
100	Com	56,78b	41,0a	55,02bc	3212,02bc	3034,72b	1,54
150	Com	60,70a	45,13a	59,59a	3291,70ab	3096,76ab	1,69
Média		57,08	36,69	55,43	3251,13	3073,85	1,59
CV(%) ¹		2,89	7,09	3,98	1,69	1,62	1,59
P-value ²		<0,001	<0,001	0,001	0,004	0,009	0,400
		Contraste ortogonal ^{3***}					
C1		0,203	<0,001	0,084	0,477	0,729	0,574
C3		<0,001	<0,001	0,008	0,627	0,987	0,663
C3		<0,001	<0,001	0,001	0,221	0,512	0,578

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**CMMS: coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca; CMP: coeficiente de metabolizabilidade do fósforo; CMPB: coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta;

***C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹CV = coeficiente de variação; ²Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); ³ $P < 0,05$ é significativo ao teste de Scheffer.

O pior ($P < 0,05$) coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS) foi atribuído ao tratamento em que as aves receberam dieta controle positivo. Por sua vez, as aves alimentadas com redução de 100 Kcal/kg de EM com e sem suplementação de enzimas, apresentaram valores intermediários sobre esse coeficiente.

O efeito positivo da ação das enzimas sobre a absorção e melhor aproveitamento do P, em especial a fitase, pode ser observada por meio do coeficiente da metabolizabilidade do fósforo ($P < 0,05$) em todos os grupos alimentados com suplementação enzimática. Quando comparados à dieta controle positivo, foi observado melhora de 53,9, 46,6 e 61,3% na metabolizabilidade do fósforo nas dietas contendo enzimas associadas à redução de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM, respectivamente.

A melhora na metabolizabilidade do fósforo se dá pela hidrólise das ligações fosfoéster da molécula de fitato, principalmente na porção superior do trato gastrointestinal em meio ácido (proventrículo e moela) (Augspurger et al., 2003), constituída por reações sequenciais de desfosforilação, produzindo moléculas menores de ésteres de fosfato de mio-inositol e fósforos inorgânicos aptos para absorção (Bedford e Partridge, 2010). Além disso, à medida que ocorre redução dos níveis de minerais ofertados na dieta, os frangos possuem a capacidade de aumentar a retenção desses nutrientes para manutenção fisiológica (Ravindran et al., 2001).

Ao considerar a matriz nutricional da fitase (0,36% de proteína bruta, 0,1% de Ca, 0,23% de P, 0,010% de lisina digestível e 45 Kcal de EM) adicionada (500 FTU) em dieta contendo 2.955 Kcal/kg de EM para frangos de corte com 25 dias de idade, Lelis et al. (2010) verificaram melhora em 29,5% o coeficiente de metabolizabilidade ileal do P em relação à dieta com o mesmo nível energético e sem enzima. Resultado semelhante foram obtidos por Fukayama et al. (2008) em frangos (1 a 20 dias de idade) suplementados com fitase (1.000 UFT) em dietas contendo 2.940 Kcal/kg de EM em relação à dietas balanceadas contendo 3.000 Kcal/kg de EM e sem fitase.

O coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (CMPB) foi 12,8% superior para a dieta com redução de 150 Kcal/kg de EM contendo fitase e xilanase quando comparada a dieta controle positivo e em 13,5% em relação à dieta controle negativo e assemelhou-se estatisticamente a metabolizabilidade obtida com a dieta reduzida em 50 Kcal/kg de EM contendo enzimas e ajustada nutricionalmente. O CMPB da dieta com redução de 100 Kcal/kg de EM foi intermediário em relação as demais dietas avaliadas.

A metabolizabilidade proteica possivelmente foi favorecida pela redução dos fatores antinutricionais (PNAs) do milho e da soja promovida pela xilanase, bem como a hidrólise das

ligações de fósforo-proteína/aminoácido pela fitase, o que respalda os piores valores ($P < 0,05$) observado nos frangos alimentados com os controles positivo e negativo.

O efeito aditivo entre a fitase e a xilanase sobre o CMMS, CMPB e EM aparente de frangos de corte também foi observado por Schramm et al. (2017), quando adicionaram fitase (100 g/t) em dietas baseadas em milho e farelo de soja que continham xilanase (150 BXU/kg). Além disso, a utilização de complexos enzimáticos constituídos de carboidrases pode melhorar a metabolizabilidade da proteína de 3,3 até 7,1 % (Meng e Slominski, 2005; Novak et al., 2008; Li et al., 2010), com reflexos diretos sobre o melhor ganho de peso e a eficiência alimentar das aves (Yu e Chung, 2004; Jia et al., 2009).

Durante a passagem pelo sistema digestório da ave, os PNAs, principalmente os solúveis (pectinas, gomas, arabinosilanos, D-xilanos, β -glucanos, D-mananos, galactomananos, xiloglucanos, raminogalacturonas) (Choct, 1997), aumentam a viscosidade da digesta, formando géis resistentes à hidrólise que englobam os nutrientes e os indisponibilizam para absorção (Sakomura et al., 2014). Da mesma forma, a redução do aproveitamento das proteínas pelo fitato pode acontecer por meio da inibição das enzimas pepsina e tripsina (proteolíticas) durante a formação pH-dependente dos complexos fitato-mineral-proteína/aminoácido (Ravindran e Bryden, 1997).

Estima-se que o milho (7,9% PB) e o farelo de soja (46% PB) apresentam aproximadamente 0,2 e 0,4% de fósforo fítico, respectivamente (Rostagno et al., 2017). Apesar disso, a maior ação para aumento da metabolizabilidade da proteína bruta pode ser atribuída à redução dos gastos energéticos durante a digestão da ave com a produção de aminoácidos endógenos, disponibilizando assim, mais energia para outros processos metabólicos.

Em resposta ao menor desperdício de nutrientes com a maior metabolizabilidade da matéria seca e PB, a energia metabolizável aparente (EMA) e a energia metabolizável corrigida para nitrogênio (EMAn) da dieta com redução de 50 Kcal/kg de EM, contendo enzimas e ajustada nutricionalmente foi maior ($P < 0,05$) em relação as demais dietas e assemelhou-se estatisticamente às dietas controle positivo e com redução de 150 Kcal/kg de EM com enzimas e ajustada para P, Ca e Na. Os valores de EMA e EMAn entre da dieta controle positivo também não diferiu ($P > 0,05$) em relação ao a dieta com redução de 100 Kcal/kg contendo enzimas.

Apesar do efeito positivo das reduções do nível energético da dieta quando associadas à fitase e xilanase sobre o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta, não houve efeito ($P > 0,05$) dos tratamentos avaliados sobre a retenção de nitrogênio pelas aves.

Em relação aos contrastes, o CMMS melhorou ($P < 0,05$) em 11,7% com a redução da EM, P, Ca, Na em relação à dieta controle positivo (contraste C2) e em 13,6% com a inclusão das enzimas (contraste C3). Resultados semelhantes foram observados nos coeficientes de metabolizabilidade do P e da proteína bruta, em que, ao reduzir EM, P, Ca e Na, melhoraram ($P < 0,05$) em 39,0 e 6,2%, respectivamente (contraste C2). Ao suplementar fitase e xilanase o coeficiente de metabolizabilidade do P melhorou ($P < 0,05$) em 53,9% e a metabolizabilidade da proteína bruta em 8,4% (contraste C3).

A melhora na metabolizabilidade pode ser atribuída à eficiência na utilização dos nutrientes pelas aves, de modo que, ao reduzir P, Ca e Na com a EM, a quantidade de nutrientes pode ter se aproximado da exigência real da ave, sendo otimizada com o uso das enzimas. Sabe-se que, quanto mais próximo o fornecimento de nutrientes à real exigência da ave, maior é a utilização dos mesmos. Assim, possivelmente a exigência poderia estar sendo superestimada com a utilização da dieta controle positivo para essa fase de criação.

Da mesma forma, melhores resultados para a metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta e da energia também foram obtidos em frangos com 36 dias de idade ao serem alimentados com complexos enzimáticos - 100 ppm (endo-1,4-beta-xilanase), 200 ppm (xilanase, amilase e protease) e *blend* enzimáticos (100 ppm de xilanase + 200 ppm de amilase; 100 ppm de xilanase + 300 ppm de amilase) em dietas contendo 3.030 Kcal/kg de EM, em relação à dietas sem suplementação enzimática (Andrade, 2015). Resultados análogos também foram obtidos por Cowieson e Adeola (2005) ao avaliarem 200 mg de um complexo enzimático (200 BXU de xilanase, 400 U de amilase e 4.000 U de protease) e 200 mg de fitase (1000 FTU/kg) para frangos de corte na fase de crescimento.

Somente para o coeficiente de metabolizabilidade do P houve efeito ($P < 0,05$) da análise de contraste C1, em que foi observada melhora em 55,6% ao suplementar fitase e xilanase nas dietas contendo redução de 100 Kcal/kg de EM e ajustadas para P, Ca e Na. Esses resultados sugerem que houve melhor aproveitamento do P presente na dieta pela ave com o uso da fitase e xilanase, com possível redução do impacto ambiental pela excreção desse mineral, quando utilizado redução de 100 Kcal/kg de EM nas dietas.

A ausência de efeitos significativos sobre os valores de EMA e EMAn em todos os contrastes testados ($P > 0,05$) demonstraram que a redução de EM, P, Ca e Na com fitase e xilanase não prejudica a utilização da energia dos ingredientes pela ave e iguala-se ao tratamento controle positivo.

Esses resultados respaldam a ação sinérgica entre a xilanase e a fitase, o que resultou no melhor aproveitamento dos nutrientes, uma vez que cada enzima age em distintos substratos. Além disso, a redução da EM favoreceu a ação enzimática, uma vez que, em dietas balanceadas, a suplementação enzimática pode não proporcionar incremento na energia e metabolizabilidade dos nutrientes (Barbosa et al., 2014).

A eficiência da utilização de fitase (100g/t) e 500g/t de complexo enzimático (800 BXU/g de xilanase, 2.000U/g de amilase e 6.000U/g de protease) em dietas com níveis nutricionais reduzidos (2.922 Kcal/kg de EM) para frangos de corte com 22 dias de idade também foi relatado por Barbosa et al. (2014), que observaram incremento de 5,6% na energia digestível aparente. Assim como o melhor aproveitamento energético mencionado por Slominski et al. (2006) utilizando carboidrases (celulase, pectinase, xilanase, glucanase e mananase) em dietas com alta fração de PNAs para frangos de corte.

Os resultados de desempenho dos frangos de corte no período pré inicial (1 a 7 dias) (Tabela 10) foram alterados ($P < 0,05$) somente em relação ao consumo de fósforo disponível.

O maior ($P < 0,05$) consumo de fósforo disponível foi atribuído à aves alimentadas com dieta controle positivo em relação as demais dietas pelo teste de médias. De acordo com a análise de contrastes C2 e C3 observou-se que os grupos alimentados com redução energética e com suplementação enzimática apresentaram o menor ($P < 0,05$) consumo de fósforo respectivamente, em relação ao grupo alimentado com a dieta controle positivo.

Esses resultados eram esperados, uma vez que todas as dietas que continham redução energética, o nível de fósforo disponível foi reduzido em 0,15% em relação à dieta controle em função da suplementação de fitase.

A ausência de efeitos significativos dos tratamentos sobre as demais variáveis analisadas demonstrou que a utilização das enzimas foi capaz de reestabelecer o nível energético e os ajustes nutricionais das rações. Por outro lado, a similaridade no desempenho entre os frangos alimentados com a dieta controle negativo e os demais tratamentos, indicaram que a quantidade de EM, P, Ca e Na fornecida na dieta controle positivo poderia estar acima da exigência real do animal, uma vez que as aves estavam em condições ambientais adequadas, sem desafio sanitário por estarem alojadas em cama nova.

Tabela 10. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase pré inicial (1 a 7 dias)

Redução de energia metabolizável (Kcal/kg)*	Enzimas	Variáveis**								
		PI (g)	GP (g/ave)	PM (g)	CR (g/ave)	CA (g/g)	CEM (Kcal/ave)	CPd (g/ave)	CPB (g/ave)	CLd (g/ave)
0	Sem	48,51	147,49	196,0	161,2	1,09	477,19	0,76a	40,42	2,13
100	Sem	48,53	144,67	193,2	161,2	1,11	461,03	0,51b	41,47	2,13
50	Com	48,55	147,84	196,4	167,2	1,13	486,55	0,53b	42,33	2,21
100	Com	48,47	145,52	194,0	163,6	1,12	467,90	0,52b	41,18	2,16
150	Com	48,60	149,8	198,4	168,0	1,12	472,08	0,54b	42,52	2,22
Média		48,53	147,06	195,60	164,24	1,12	472,95	0,57	41,58	2,17
CV(%) ¹		0,19	4,06	3,06	3,55	3,57	3,56	3,73	3,57	3,56
<i>P-value</i> ²		0,357	0,685	0,672	0,231	0,571	0,204	<0,001	0,195	0,215
Contraste ortogonal ^{3***}										
C1		0,342	0,823	0,835	0,523	0,697	0,527	0,560	0,760	0,519
C2		0,611	0,862	0,869	0,208	0,131	0,536	<0,001	0,068	0,200
C3		0,576	0,939	0,932	0,108	0,109	0,849	<0,001	0,062	0,103

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**PI: peso inicial; GP: ganho de peso; PM: peso médio; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; CEM: consumo de energia metabolizável; CPd: consumo de fósforo disponível; CPB: consumo de proteína bruta; CLd: consumo de lisina digestível;

*** C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹CV = coeficiente de variação; ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); ³P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer.

Fato este que possibilitou que os nutrientes não fossem desviados para a resposta imune e sim destinados para o desempenho, o que pode ter ocultado a ação da fitase e da xilanase. Resultados semelhantes foram relatados por Rocha et al. (2003), com o uso de dietas contendo 2.850 e 3.000 Kcal/kg de EM e 100 g/t de fitase (500 FTU/kg) sobre o desempenho de frangos (1 a 7 dias de idade).

No período de 1 a 21 dias (Tabela 11) apesar dos piores valores de metabolizabilidade da dieta controle positivo (Tabela 9), o maior ($P < 0,05$) ganho de peso, peso médio e melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar foram observados nos frangos alimentados com essa dieta.

No entanto, esse fato foi contornado pela utilização da dieta com redução de 150 Kcal/kg de EM ajustada para P, Ca e Na e suplementada com fitase e xilanase, uma vez que proporcionou aos frangos, ganho de peso e peso médio similar ($P > 0,05$) aos do tratamento controle positivo. Esse fato confirma a maior metabolizabilidade dos nutrientes obtidos com a redução da EM (150 Kcal/kg) associada à fitase e xilanase, uma vez que não houve diferença ($P > 0,05$) no consumo de ração entre os tratamentos analisados, indicando que o resultado pode ser atribuído a nível intestinal.

Análogo aos resultados desse estudo, Barbosa et al. (2012) descreveram que frangos alimentados com exigência nutricional recomendada na fase inicial (1-21 dias) e de crescimento (22-42 dias) (3.052 e 3.200 Kcal/kg de EM, respectivamente) apresentaram melhor ganho de peso, peso médio e consumo de ração em relação aos controles negativos (2.922 e 3.055 Kcal/kg de EM) sem inclusão de enzimas (500g/t contendo 800 BXU/g de xilanase, 2000 U/g de amilase e 6.000 U/g de protease; 100 g/t de fitase – 500 U/g). No entanto, a redução energética acrescida de enzimas melhorou as variáveis com valores semelhantes ao tratamento controle.

Da mesma forma, ao analisar a inclusão de fitase (1000 FTU/kg) em dietas com e sem xilanase (20.000 BXU/kg) na forma *on top*, Barros (2016) observaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar dos frangos no período de oito a 18 dias, quando adicionou fitase em dietas que continham xilanase. Diversos estudos também relataram a ação positiva da xilanase sobre o desempenho de frangos aos 21 dias de idade (Wu et al., 2004; Liu et al, 2007; Gao et al., 2008).

Tabela 11. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase inicial (1 a 21 dias)

Redução de energia metabolizável (Kcal/kg)*	Enzimas	Variáveis**									
		GP (g/ave)	PM (g)	CR (g/ave)	CA (g/g)	CEM (Kcal/ave)	CPd (g/ave)	CPB (g/ave)	CLd (g/ave)	DCPB (g/dia)	DCG (g/dia)
0	Sem	963,1a	1011,6a	1302,8	1,35b	3959,1a	5,32a	319,44a	16,74	10,25	1,74
100	Sem	858,0c	906,4c	1229,6	1,43a	3613,8b	3,19b	293,83b	15,80	9,59	1,59
50	Com	910,2b	958,8b	1294,4	1,42ab	3868,1ab	3,35b	318,72a	16,64	10,47	1,79
100	Com	904,7bc	953,2bc	1272,8	1,40ab	3740,0ab	3,29b	312,93ab	16,36	10,35	1,64
150	Com	921,3ab	970,0ab	1281,0	1,39ab	3699,8ab	3,32b	314,41ab	16,46	10,37	1,77
Média		911,47	960,00	1276,1	1,40	3776,0	3,70	311,87	16,40	10,21	1,71
CV(%) ¹		2,98	2,83	3,88	3,10	3,90	3,88	3,86	3,87	5,66	23,54
P-value ²		0,001	0,001	0,201	0,055	0,011	<0,001	0,019	0,200	0,148	0,909
		Contraste ortogonal ^{3***}									
	C1	0,013	0,013	0,183	0,286	0,187	0,247	0,021	0,183	0,048	0,841
	C2	0,001	0,001	0,194	0,010	0,005	<0,001	0,603	0,193	0,871	0,851
	C3	0,002	0,002	0,443	0,024	0,021	<0,001	0,677	0,443	0,604	0,987

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**GP: ganho de peso; PM: peso médio; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; CEM: consumo de energia metabolizável; CPd: consumo de fósforo disponível; CPB: consumo de proteína bruta; CLd: consumo de lisina digestível; DCPB: deposição corporal de proteína bruta; DCG: deposição corporal de gordura;

***C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹CV = coeficiente de variação; ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); ³P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer.

Dessa forma, em reflexo à pior metabolizabilidade dos nutrientes pela utilização da dieta controle negativo, foi observado menor ($P<0,05$) ganho de peso, peso médio e pior ($P<0,05$) conversão alimentar das aves em relação às aquelas alimentadas com a dieta controle positivo. No entanto, os valores para ganho de peso e peso médio não diferiram entre as aves alimentadas com dieta controle negativo e com redução de 100 Kcal/kg contendo ajustes nutricionais e enzimas e entre todas as dietas que foram reduzidas em EM para os valores de conversão alimentar.

Ao comparar a redução de 110 Kcal/kg de EM com dietas contendo 2.760 Kcal/kg de EM, Rahman et al. (2014) concluíram que a adição de 0,5 g/t de complexo enzimático comercial contendo carboidrases em dietas para frangos de corte com 21 dias com a redução energética, melhorou em 1,21% o ganho de peso das aves em relação ao tratamento controle negativo (2.650 Kcal/kg) sem enzimas. Por outro lado, Ghayour-Najafabadi et al. (2018), não observaram melhora no desempenho das aves nos períodos de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade ao utilizar xilanase (1.000 BXU/kg) em dietas formuladas à base de milho e trigo contendo 2.900 e 2.893 Kcal/kg de EM.

Em relação aos consumos de energia metabolizável e proteína bruta, os piores valores ($P<0,05$) foram obtidos para aves alimentadas com o controle negativo em relação às alimentadas com a dieta controle positivo, apresentando valores intermediários para todas as aves que foram alimentadas com dietas contendo redução de EM, contendo ajustes nutricionais e enzimas. A baixa quantidade de energia disponível afeta o aproveitamento principalmente da proteína e sua deposição na carcaça, o que pode ter resultado no baixo peso médio e menor ganho de peso observado nas aves do tratamento controle positivo.

Assim como na fase anterior o consumo de fósforo disponível foi menor ($P<0,05$) para todos os tratamentos em relação à dieta controle positivo em função da redução de fósforo disponível nas formulações pela matriz nutricional da fitase.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos tratamentos sobre o consumo de lisina digestível, deposição corporal de proteína bruta e de gordura. A ausência de efeitos significativos sobre a deposição corporal de gordura evidencia que não houve ingestão excessiva de energia em relação à exigência dos frangos.

Ao analisar de forma independente a inclusão das enzimas com a redução de 100 Kcal/kg de EM na dieta (contraste C1), foi observado que a ação sinérgica entre a fitase e a xilanase sobre a liberação de nutrientes melhorou a relação energia:proteína da dieta e aumentou

($P < 0,05$) em 5,2% o ganho de peso, o peso médio em 4,9%, o consumo de proteína bruta em 5,6% e a deposição corporal de proteína bruta em 7,9% comparada à dieta sem enzimas.

No entanto, o grupo de frangos alimentados com dietas com reduções de EM e ajustadas para P, Ca e Na quando comparados aos do tratamento controle positivo (contraste C2) apresentaram menor ($P < 0,05$) ganho de peso (6,7%), peso médio (6,4%) e consumos de EM (228,7 Kcal) e de P disponível (37,2%), e pior conversão alimentar (4,4%). Da mesma forma, a suplementação enzimática nas dietas não foi capaz ($P < 0,05$) de manter os valores dessas variáveis similares as do tratamento controle positivo (contraste C3).

Devido ao semelhante consumo de ração entre todos os tratamentos ($P > 0,05$), a redução nos consumos de EM e P observada foi proporcional à redução dos seus níveis nas formulações. Possivelmente, a redução do ganho de peso e peso médio com piora na conversão alimentar das aves, deve-se à menor metabolizabilidade das dietas contendo redução de 100 Kcal/kg de EM com e sem enzimas, que pode ter contribuído para a redução da média dos grupos.

Por meio da avaliação do desempenho de frangos de corte com a redução de EM na dieta, Ferreira et al. (2015) descreveram que existe tendência de redução no ganho de peso das aves conforme a EM se aproxima de 2.800 Kcal/kg, sendo inalterado em dietas com 3.000 Kcal/kg de EM. O efeito negativo sobre o ganho de peso e conversão alimentar pela redução de energia metabolizável (3.350 para 3.050 Kcal/kg) na dieta de frangos de corte com 21 dias de idade também foi observado por Sakomura et al. (2004).

Durante o período de crescimento (1 a 33 dias) (Tabela 12) o pior ($P < 0,05$) desempenho foi observado nos frangos alimentados com a dieta controle negativo. O maior ganho de peso e peso médio foram estatisticamente semelhantes entre as aves do tratamento controle positivo com as dos tratamentos com redução de 50 e 100 Kcal/kg de EM, suplementados com fitase e xilanase e ajustados para P, Ca e Na. A dieta com redução de 150 Kcal/kg suplementada com as enzimas, resultou em valores intermediários para ganho de peso.

O maior ($P < 0,05$) consumo de ração e melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar para essa fase também foram observados em aves do tratamento controle positivo em relação ao tratamento controle negativo. No entanto, todos os tratamentos que continham redução de EM, P, Ca e Na contendo fitase e xilanase resultaram em valores intermediários para essas variáveis.

Tabela 12. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase de crescimento (1 a 33 dias)

Redução de energia metabolizável (Kcal/kg)*	Enzimas	Variáveis**							
		GP (g/ave)	PM (g)	CR (g/ave)	CA (g/g)	CEM (Kcal/ave)	CPd (g/ave)	CPB (g/ave)	CLd (g/ave)
0	Sem	1202,2a	2361,3a	3365,0a	1,46b	10455,5a	12,54a	788,10a	40,04a
100	Sem	1035,2b	2086,3b	3100,2b	1,52a	9319,1b	6,93b	702,17b	36,94b
50	Com	1176,7a	2283,4a	3309,4ab	1,48ab	10114,8a	7,38b	756,88ab	39,40ab
100	Com	1159,0a	2257,8a	3327,9ab	1,51ab	10008,1ab	7,41b	764,84a	39,58ab
150	Com	1137,7ab	2257,5a	3322,5ab	1,51ab	9824,4ab	7,40b	771,25a	39,53ab
Média		1142,19	2249,26	3285,02	1,49	9944,2	8,33	756,65	39,10
CV(%) ¹		5,02	3,13	4,10	2,19	4,01	3,85	4,07	4,07
P-value ²		0,002	0,001	0,041	0,039	0,004	<0,001	0,003	0,044
		Contraste ortogonal ^{3***}							
	C1	0,003	0,001	0,015	0,449	0,014	0,030	0,011	0,016
	C2	0,016	0,001	0,153	0,008	0,005	<0,001	0,019	0,154
	C3	0,149	0,017	0,525	0,222	0,036	<0,001	0,151	0,520

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**GP: ganho de peso; PM: peso médio; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; CEM: consumo de energia metabolizável; CPd: consumo de fósforo disponível; CPB: consumo de proteína bruta; CLd: consumo de lisina digestível;

***C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹CV = coeficiente de variação; ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); ³P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer.

Esses resultados demonstraram que a redução energética associada à utilização de fitase e xilanase em dietas ajustadas para P, Ca e Na pode otimizar a produção durante a fase de crescimento. Ao considerar a redução de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM obtém-se economia de 55,6, 37,1 e 42,5 g de ração/ave, respectivamente, com ganho de peso similar à dieta controle positivo. Essa economia revertida em produções de grande escala, por exemplo, em um aviário (120 x 12 m) contendo capacidade para 14.400 aves (10 aves/m²), pode ser de aproximadamente 800 e 534 612 kg de ração, respectivamente, somente nesse período.

Um fato também a ser considerado nesse estudo é a redução do consumo de ração quando o nível de EM foi reduzido, evidenciado principalmente nas aves que foram alimentadas com a dieta controle negativo ($P < 0,05$). Várias pesquisas demonstraram que à medida que reduz a inclusão de energia nas dietas, aumenta o consumo de ração pelos frangos afim de compensar a deficiência energética (Dairo et al., 2010; Barbosa et al., 2012; Rahman et al., 2014), estes fatos não se sustentam com os dados encontrados nesse trabalho.

Possivelmente o resultado obtido pode estar relacionado à reduzida capacidade do trato gastrintestinal em função do menor crescimento da ave pela ingestão insuficiente de EM e nutrientes. Fato este também observado por Ghafari et al. (2008) ao analisarem níveis de EM (3175 a 2575 Kcal/kg) em frangos no período de 10 a 28 dias de idade.

Além disso, os frangos poderiam ter desenvolvido um quadro de hipofosfatemia, ou seja, níveis sanguíneos de fósforo abaixo dos considerados normais para aves (5 a 7 mg/dL) (Vieites et al., 2011; Manangi et al., 2018). Os frangos do tratamento controle negativo apresentaram níveis séricos de fósforo em torno de 2,38 e 1,92 mg/dL, aos 21 e 42 dias de idade, respectivamente (dados não publicados). A deficiência de fósforo reduz o apetite da ave e consequentemente o desempenho por distúrbios no metabolismo energético, por quantidades insuficientes de fósforo para formação de ATP (Moe, 2008).

Os maiores ($P < 0,05$) consumos de EM foram observados nos frangos alimentados com à dieta controle positivo e com redução de 50 Kcal/kg de EM contendo fitase e xilanase e ajustes para P, Ca e Na. As dietas contendo redução de 100 e 150 Kcal/kg com enzimas resultaram em valores intermediários para essa variável, sendo o menor consumo observado nas aves do tratamento controle negativo, provavelmente pelo pior consumo de ração observado nesse tratamento.

Os consumos de proteína bruta e lisina digestível dos frangos foram proporcionais ao consumo de ração. Dessa forma, o maiores e menores ($P < 0,05$) consumos foram observados no grupo controle positivo e negativo, respectivamente. O consumo de proteína bruta não diferiu

estatisticamente entre as aves do tratamento controle positivo com as dos tratamentos com dietas reduzidas em 50 e 150 Kcal/kg de EM contendo fitase e xilanase e ajustadas nutricionalmente. As aves que foram alimentadas com as dietas que continham enzimas, independentemente do nível de redução energética, apresentaram consumo intermediário ($P < 0,05$) de lisina digestível.

Possivelmente o maior ($P < 0,05$) consumo de proteína bruta e os valores intermediários nos consumo de ração e lisina digestível observados, podem ter favorecido o ganho de peso principalmente nos frangos alimentados com as dietas ajustadas nutricionalmente contendo fitase e xilanase e redução de 100 e 150 Kcal/kg de EM, evidenciando a eficiência de utilização dos nutrientes pelo organismo e sua conversão em músculo.

Por meio da análise de contrastes, o fornecimento da fitase e xilanase na dieta com redução de 100 Kcal/kg de EM e ajustada para P, Ca e Na melhorou ($P < 0,05$) o ganho de peso em 12% e o peso médio em 8,2% das aves em relação à dieta sem enzimas. Possivelmente as aves ao consumirem as dietas com as enzimas, apresentaram maior disponibilidade e aproveitamento dos nutrientes por consumirem maior ($P < 0,05$) quantidade de ração (7,3%), EM (689 Kcal), fósforo disponível (6,9%), proteína bruta (8,9%) e lisina digestível (7,1%) em relação às aves alimentadas com dietas sem enzimas (contraste C1).

Assim como na fase anterior, ao analisar o contraste C2, o grupo de frangos alimentados com redução de EM e níveis reduzidos de P, Ca e Na apresentou menor ($P < 0,05$) ganho de peso (6,2%) e peso médio (5,9%), conseqüentemente maior ($P < 0,05$) conversão alimentar (29,1%) e, menor consumo de EM (638,9 Kcal), fósforo disponível (41,9%) e proteína bruta (5,00%) em relação às aves do tratamento controle positivo.

Por outro lado, mesmo ao adicionar as enzimas nas dietas com redução de EM, P, Ca e Na, o peso médio dos frangos reduziu ($P < 0,05$) em 4,0% em relação à dieta controle positivo, porém foi suficiente para não alterar ($P > 0,05$) o ganho de peso das aves. Somente os consumos de EM (473 Kcal) e P (41,0%) foram menores nas dietas contendo enzimas (contraste C3).

Na fase pré abate (1 a 42 dias) (Tabela 13), semelhante às fases anteriores, os frangos alimentados com a dieta controle negativo demonstraram o pior ($P < 0,05$) desempenho por meio de todas as variáveis analisadas, com exceção da conversão alimentar e deposição corporal de proteína bruta que não apresentaram efeito ($P > 0,05$) em função dos tratamentos avaliados.

Todas as dietas que continham redução energética, fitase e xilanase e ajustadas para P, Ca e Na não diferiram ($P < 0,05$) da dieta controle positivo em relação ao ganho de peso, peso médio e nos consumos ração, EM, proteína bruta e lisina digestível das aves.

Tabela 13. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de EM, P, Ca e Na suplementadas com fitase e xilanase durante a fase pré abate (1 a 42 dias)

Redução de energia metabolizável (Kcal/kg)*	Enzimas	Variáveis**										VC (%)
		GP (g/ave)	PM (g)	CR (g/ave)	CA (kg/kg)	CEM (Kcal/ave)	CPd (g/ave)	CPB (g/ave)	CLd (g/ave)	DCPB (g/dia)	DCG (g/dia)	
0	sem	3431,3a	3480,0a	5436,3a	1,58	17085,0a	18,96a	1231,70a	62,00a	40,91	11,0a	100,00a
100	sem	2954,4b	3003,0b	4859,7b	1,64	14773,6b	9,74c	1069,11b	55,60b	37,54	7,83ab	84,00b
50	com	3361,4a	3410,0a	5356,3a	1,59	16562,3a	10,66b	1197,54a	61,10a	47,92	10,25ab	94,00ab
100	com	3311,0a	3359,4a	5442,9a	1,64	16564,5a	10,79b	1211,89a	62,0a	40,11	8,20ab	98,00ab
150	com	3306,6a	3355,2a	5367,9a	1,62	16063,8ab	10,68b	1204,56a	61,21a	39,34	6,76b	90,00ab
Média		3272,9	3321,5	5292,6	1,62	16209,4	12,17	1182,76	60,38	41,16	21,71	93,20
CV(%) ¹		3,71	3,66	4,45	2,73	4,45	4,12	4,39	4,40	16,26	8,81	8,72
P-value ²		<0,001	<0,001	0,004	0,127	0,001	<0,001	0,001	0,004	0,176	0,012	0,038
Contraste ortogonal ^{3***}												
C1		0,001	0,001	0,001	1,000	0,001	0,003	0,001	0,001	0,551	0,764	0,013
C2		0,004	0,004	0,143	0,075	0,006	<0,001	0,029	0,144	0,927	0,009	0,049
C3		0,109	0,110	0,702	0,137	0,079	<0,001	0,320	0,687	0,661	0,016	0,168

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**GP: ganho de peso; PM: peso médio; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; CEM: consumo de energia metabolizável; CPd: consumo de fósforo disponível; CPB: consumo de proteína bruta; CLd: consumo de lisina digestível; DCPB: deposição corporal de proteína bruta; DCG: deposição corporal de gordura; VC: viabilidade criatória;

***C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹CV = coeficiente de variação; ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); ³P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer.

Apesar de não ter sido realizado o ensaio de metabolizabilidade para essa fase, possivelmente esses resultados estejam relacionados ao melhor aproveitamento dos nutrientes pela ação enzimática, com restauração do nível energético e das concentrações de P, Ca e Na das dietas, o que proporcionou desempenho consistente e uniforme pelas aves.

O consumo de P disponível pelas aves foi intermediário ($P < 0,05$) em todos os tratamentos que receberam suplementação enzimática, porém foi significativamente baixo no tratamento controle negativo, devido ao baixo ($P < 0,05$) consumo de ração das aves.

Ao analisar a deposição corporal de gordura nos frangos, possivelmente a energia disponibilizada na dieta controle positivo ultrapassou as exigências dos frangos para manutenção e deposição proteica devido à maior quantidade de gordura depositada ($P < 0,05$), uma vez que a deposição de gordura é diretamente proporcional à quantidade de energia disponível para sua síntese (Sakomura et al., 2004; Mendonça et al., 2008; Sakomura et al., 2014). Por outro lado, os frangos alimentados com as dietas contendo redução de EM e ajustadas nutricionalmente e contendo enzimas, apresentaram valores intermediários.

A menor ($P < 0,05$) deposição corporal de gordura foi observada em frangos alimentados com a dieta reduzida em 150 Kcal/kg de EM, suplementada com fitase e xilanase e ajustada para os níveis de Ca, P, e Na. Esse fato evidenciou a eficiência da utilização da energia e dos nutrientes pela ave, uma vez que esse nível foi suficiente ($P < 0,05$) para manter o desempenho similar ao tratamento controle positivo e resultar em carcaças com pouca gordura. Esse resultado pode ser um diferencial para venda do produto final, uma vez que se nota crescente procura por alimentos saudáveis e com baixo teor de gordura pelos consumidores (Ferreira et al., 2015).

Em relação à pior ($P < 0,05$) viabilidade criatória registrada nos frangos do tratamento controle negativo, apesar do desempenho inferior e um possível quadro de hipofosfatemia, não foi observado ao longo do período experimental outros sintomas além da redução do consumo de ração ou qualquer alteração na saúde das aves.

Apesar do pior desempenho dos frangos com a utilização da dieta controle negativo, a redução em 100 Kcal/kg de EM e nos níveis de P, Ca e Na pode ser feita sem alterar o desempenho das aves, desde que suplementada com fitase e xilanase (contraste C1). O ganho de peso, o peso médio, o consumo de ração e os consumos de EM, P disponível, proteína bruta e lisina digestível, bem como a viabilidade criatória das aves aumentaram ($P < 0,05$) com a inclusão das enzimas em comparação à dieta controle negativo.

Resultados semelhantes também foram encontrados por Fortes et al. (2012), ao contrastar tratamentos ausentes da associação de carboidrases e fitase com tratamentos com inclusão do complexo enzimático para frangos de corte na fase de pré abate, em que relataram aumento no consumo de ração de 5,2% e melhoria no ganho de peso de 4,4% com o uso das enzimas.

Assim como nas fases anteriores, houve redução ($P < 0,05$) no ganho de peso, peso médio, nos consumos de EM, P disponível e proteína bruta e piora ($P < 0,05$) na conversão alimentar ao contrastar o grupo de aves alimentadas com dietas contendo redução energética, P, Ca e Na com as aves do tratamento controle positivo (contraste C2), bem como a redução ($P < 0,05$) deposição corporal de gordura e a viabilidade criatória, avaliadas nessa fase.

No entanto, as variáveis para o desempenho nessa fase, com exceção do consumo de P, não apresentaram efeito ($P > 0,05$) no contraste C3. Esse resultado ressalta que a inclusão da fitase e da xilanase torna-se necessária ao reduzir o conteúdo de EM, P, Ca e Na nas dietas para que não ocorra redução do desempenho das aves. Além disso, o contraste C3 também demonstrou que as aves alimentadas com as dietas ajustadas nutricionalmente com a inclusão de enzimas deixaram de depositar 23,6% de gordura na carcaça em relação às aves do tratamento controle positivo.

Apesar do melhor ganho de peso das aves observado aos 42 dias de idade em todos os tratamentos avaliados, com exceção do grupo controle negativo, os rendimentos de carcaça e cortes foram semelhantes ($P > 0,05$) entre todos os tratamentos. Apenas o peso absoluto da coxa e sobrecoxa, asas e dorso apresentaram efeito ($P < 0,05$) em função dos níveis energéticos e suplementação enzimática (Tabela 14).

Diversos estudos também demonstraram que o nível energético das dietas não possuem influência sobre o rendimento de carcaça (Oliveira Neto et al., 1999; Mendes et al., 2004; Barbosa et al., 2008a; Mendonça et al., 2008; Cardoso et al., 2011). Assim como para o rendimento de cortes, como relatado por Cardoso et al. (2011) ao avaliarem dietas contendo carboidrase de forma individual (300 g/t de amilase) ou associadas ao complexo enzimático (200 g/t contendo galactosidase, galactomananase, xilanase e β -glucanase), com redução de até 2.965 Kcal/kg de EM nas dietas.

Os frangos alimentados com a dieta controle positivo e com redução de 50 e 150 Kcal/kg de EM associada a fitase e xilanase apresentaram maior ($P < 0,05$) peso absoluto de coxa e sobrecoxa em relação aos demais tratamentos, com o menor peso observado em aves do tratamento controle negativo.

Os pesos absolutos das asas e dorso foram maiores ($P < 0,05$) em aves do grupo que receberam dieta controle positivo e com redução energética de 50 Kcal/kg em relação ao tratamento controle negativo. Os demais tratamentos não diferiram para ambos os resultados.

O efeito negativo sobre os pesos absolutos da coxa e sobrecoxa, asas e dorso pela alimentação dos frangos com o tratamento controle negativo, pode ser reduzido ao incluir a fitase e a xilanase na dieta com o mesmo nível de redução de EM, P, Ca e Na, como demonstrado pelo contraste C1. A inclusão das enzimas aumentou em 12,2% o peso da coxa e sobrecoxa, em 10,3% o peso das asas e em 16,7% o peso do dorso em relação à dieta sem enzima.

Tabela 14. Valores absolutos e rendimentos de carcaça e cortes de frangos com 42 dias de idade alimentados com fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (REM), P, Ca e Na

REM (Kcal/kg)*	Enzimas	Carcaça	Peito	CX +SC**	Asas	CX Asa**	Dorso	GAB*
0	sem	2414,7	982,50	716,10a	118,00a	123,70	448,00a	23,50
100	sem	2095,5	854,50	607,20b	104,40b	107,80	366,40b	16,00
50	com	2497,6	970,20	726,70a	120,00a	119,50	441,40a	15,00
100	com	2282,8	936,10	681,40 ab	115,20ab	104,00	427,70ab	15,80
150	com	2116,9	970,90	692,60a	114,60ab	105,30	411,40ab	17,20
Média		2281,44	942,84	684,80	114,48	112,06	418,98	17,50
CV (%) ¹		13,82	8,23	6,11	5,36	16,56	7,86	46,71
P-value ²		0,217	0,097	0,002	0,007	0,358	0,006	0,489
-----Contraste ortogonal ^{3***} -----								
C1		0,359	0,112	0,011	0,012	0,749	0,008	0,969
C2		0,303	0,216	0,076	0,167	0,133	0,069	0,081
C3		0,486	0,565	0,471	0,679	0,157	0,228	0,124
-----Rendimento (%)-----								
0	sem	71,13	40,70	29,65	4,89	5,11	18,55	0,97
100	sem	71,43	40,81	29,01	5,00	5,16	17,47	0,76
50	com	73,93	39,35	29,59	4,87	4,85	17,82	0,60
100	com	69,79	40,55	29,74	5,03	5,04	18,67	0,69
150	com	70,23	41,66	29,78	4,94	5,12	17,70	0,74
Média		71,30	40,61	29,55	4,94	5,06	18,04	0,75
CV(%) ¹		5,28	5,31	5,84	6,80	11,76	7,00	45,29
P-value ²		0,472	0,577	0,953	0,946	0,924	0,479	0,513
-----Contraste ortogonal ^{3***} -----								
C1		0,497	0,850	0,509	0,852	0,686	0,148	0,729
C2		0,909	0,924	0,891	0,696	0,147	0,321	0,118
C3		0,924	0,875	0,953	0,742	0,730	0,456	0,140

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**CX + SC: coxa + sobrecoxa; CX asa: coxinha da asa; GAB: gordura abdominal;

*** C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹ CV= coeficiente de variação; ² Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); ³ $P < 0,05$ é significativo ao teste de Scheffer.

A maior disponibilidade de fósforo observado nos tratamentos, seja pela exigência totalmente atendida ou pela liberação de fósforo com a adição das enzimas, principalmente a fitase, nos demais tratamentos, pode ter favorecido o maior peso da asa e dorso, uma vez que esses cortes são constituídos por elevada porção óssea e o fósforo está diretamente envolvido no crescimento ósseo.

O uso de fitase (1.000 FTU/kg) em dietas à base de milho e farelo de soja associadas à níveis de fósforo (7,7, 4,0 e 5,1 g/kg) favoreceu a maior retenção de cálcio e aumentou a densidade e o conteúdo mineral nas tíbias de frangos com 22 dias de idade, em relação à frangos alimentados com dietas contendo níveis abaixo da recomendação de fósforo (4,0 e 5,1 g/kg) (Onyango et al., 2004).

Tais resultados também foram confirmados por Vaz et al. (2013) que, ao utilizarem frangos de corte com 21 dias de idade, relataram maior mineralização óssea com adição da fitase (0 e 1.200 FTU/kg) associadas a níveis de fósforo (0,45 e 0,34%) e proteína bruta (22,5; 20,5 e 18,5%) em dietas à base de milho e farelo de soja.

Os pesos absoluto e relativo da gordura abdominal não foi alterado ($P>0,05$) pelos tratamentos. No entanto, as aves mostraram tendência em depositar maior quantidade de gordura quando alimentadas com dieta controle positivo, a qual possuía maior quantidade de EM. A variação individual na quantidade de deposição de gordura abdominal entre as aves, resultou em alto coeficiente de variação (46,71 e 45,29% para peso absoluto e relativo, respectivamente), dificultando a detecção de diferenças significativas entre os tratamentos avaliados.

Para os pesos absolutos e relativos dos órgãos dos frangos aos 42 dias de idade (Tabela 15), não foram constatados efeitos ($P>0,05$) nas variáveis em função dos tratamentos pela análise de variância.

No entanto, por meio do contraste C1, foi observado que ao adicionar a fitase e a xilanase nas dietas com redução de 100 Kcal/kg de EM, o peso absoluto do fígado das aves aumentou ($P<0,05$) em 12%. Possivelmente, esse fato está relacionado ao tamanho das aves, já que os órgãos possuem tendência a aumentar conforme o peso corporal, devido à maior metabolização em relação à maior ingestão de nutrientes e sua conversão em músculo. As aves que não receberam suplementação enzimática nesse nível de redução, apresentaram menor desempenho e peso corporal em relação às aves que receberam as enzimas por meio da dieta.

Tabela 15. Peso absoluto e relativo de órgãos de frangos de corte com 42 dias de idade alimentados com fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (REM), P, Ca e Na

REM (Kcal/kg)*	Enzimas	-----Peso absoluto (g)-----							
		Coração	Fígado	Moela	Baço	Pâncreas	Bolsa cloacal	Prov.**	Intes. ¹
0	Sem	17,50	53,70	39,40	2,70	5,00	5,20	11,10	86,50
100	Sem	15,40	51,60	39,60	2,70	5,70	4,40	9,60	80,20
50	Com	15,80	55,50	42,50	3,00	5,80	5,90	10,50	85,10
100	Com	16,60	57,80	41,10	2,90	5,60	5,50	10,00	88,80
150	Com	14,60	54,00	45,80	3,10	5,60	4,30	11,00	85,00
Média		15,98	54,52	41,68	2,88	5,54	5,06	10,44	85,12
CV (%) ²		10,55	8,29	10,62	17,36	15,10	27,06	10,02	13,06
<i>P-value</i>		0,108	0,305	0,178	0,640	0,601	0,308	0,152	0,806
-----Peso relativo (%)-----									
Contraste ortogonal ^{3***}									
C1		0,274	0,042	0,598	0,534	0,852	0,219	0,552	0,236
C2		0,356	0,655	0,212	0,379	0,122	0,801	0,130	0,760
C3		0,068	0,386	0,118	0,259	0,138	0,963	0,280	0,547
0	Sem	0,51	1,58	1,16	0,08	0,15	0,15	0,33	2,55
100	Sem	0,52	1,75	1,35	0,09	0,19	0,15	0,32	2,72
50	Com	0,47	1,64	1,26	0,08	0,17	0,17	0,31	2,52
100	Com	0,51	1,77	1,25	0,09	0,17	0,17	0,30	2,71
150	Com	0,44	1,63	1,39	0,09	0,17	0,13	0,33	2,57
Média		0,49	1,67	1,28	0,08	0,17	0,15	0,32	190,58
CV (%) ²		10,12	6,96	11,78	18,24	15,00	27,86	8,63	6,27
<i>P-value</i>		0,060	0,069	0,190	0,725	0,103	0,521	0,471	0,616
Contraste ortogonal ^{3***}									
C1		0,064	0,789	0,337	1,000	0,125	0,5176	0,223	0,248
C2		0,227	0,052	0,058	0,208	0,035	0,7669	0,500	0,654
C3		0,094	0,109	0,084	0,186	0,092	0,8329	0,511	0,232

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

** Prov: proventrículo; Intes: intestino;

*** C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹ Intes = intestino; ²CV = coeficiente de variação; ³P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer.

O aumento no peso do fígado de frangos com a utilização de complexo enzimático 50g/t - amilase, protease e xilanase) em dieta com nível energético de 2.820 Kcal/kg de EM, também foi relatado por Fernandes et al. (2017). Os autores descreveram que o aumento no peso do órgão foi devido à maior metabolização dos nutrientes liberados pela ação das enzimas sobre a digesta. Em dietas formuladas com alta concentração de PNAs, a hipertrofia do fígado e do pâncreas pode ser uma resposta adaptativa à necessidade de enzimas, uma vez que a viscosidade impede a ação enzimática endógena, e, a partir da hidrólise da maior parte dos PNAs por carboidrases os órgãos secretores podem regredir (Gao et al., 2008).

Como o observado com o uso dietas à base de trigo e farelo de soja contendo níveis crescentes de carboidrases (1.256 a 6.220 BXU/kg de xilanase e 640 a 3.225 U/kg de β -

glucanase) sobre os pesos relativos do fígado e do pâncreas em frangos com 21 e 42 dias de idade (Wang et al., 2005). Assim como a inclusão de 1g/t de um complexo enzimático composto por xilanase (300 BXU/kg), amilase (400 U/kg) e protease (4.000 UI/kg) em dietas contendo milho, farelo de soja, sorgo e glutenose para frangos na fase final de criação (Santos et al., 2006).

Por outro lado, ao avaliar a inclusão *on top* de um complexo enzimático (500 mg/kg) contendo 2.250 U/g de xilanase e 700 U/g β -glucanase na dieta de frangos durante a fase final de criação, Hajati (2010) não observou efeito significativo das enzimas sobre o peso relativo dos órgãos. Assim como outros estudos ao avaliarem complexos enzimáticos contendo carboidrases na alimentação de frangos sobre os pesos do fígado e moela (Nunes et al., 2015; Andrade et al., 2017).

Por meio do contraste C2, foi observado que os pesos relativos do fígado, moela e pâncreas dos frangos foram superiores ($P < 0,05$) com a redução de EM, P, Ca e Na em relação ao grupo alimentado com a dieta controle positivo, o pode estar relacionado ao tamanho dos animais. A média encontrada para peso de carcaça dos frangos alimentados com a dieta controle positivo foi de 2,414 kg, enquanto a média do grupo alimentado com a redução de EM, P, Ca e Na foi de 2,248 kg.

No entanto, estudos demonstraram que níveis crescentes de EM variando entre 2.575 a 3.250 Kcal/kg na dieta de frangos de corte no período final de criação, não apresentaram efeito sobre os pesos relativos de fígado e moela (Oliveira Neto et al., 1999; Barbosa et al., 2008b; Ghafari et al., 2008; Meza et al., 2013).

Além disso, pela ausência de efeitos significativos dos tratamentos sobre os pesos absoluto e relativo do intestino pode-se deduzir que a viscosidade da digesta não foi expressiva ao ponto de reduzir a motilidade intestinal e, por atividade microbiana patogênica, estimular o crescimento do epitélio intestinal e aumentar o peso do intestino. Em dietas sem xilanase (1.000 BXU/kg) e fitase (500 PU/kg) e com alta concentração de PNAs pelo uso do trigo na formulação, Wu et al. (2004) observaram aumento no peso intestinal de frangos com 21 dias de idade.

CONCLUSÃO

Com a inclusão de fitase (500 FTU/kg) e xilanase (16.000 BXU/kg) nas dietas de frangos de corte é possível reduzir em até 150 Kcal/kg a EM, 0,15% o P disponível, 0,165% o Ca e em 0,035% o Na e, melhorar a metabolizabilidade dos nutrientes sem prejudicar o desempenho e os rendimentos de carcaça e principais cortes nobres.

REFERENCIAS

AFTA U. Exogenous carbohydrases in corn-soy diets for broilers. 2012. *World's Poultry Sci J* 68: 447- 464.

ANDRADE TS. 2015. Enzimas em dietas com redução nutricional para frangos de corte. Marechal Cândido Rondon: Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do oeste do Paraná, 2015.

ANDRADE TS, NUNES RV, SILVA IM, WACHHOLZ L, FASCINA VB. 2017. Desempenho e parâmetros fisiológicos de frangos de corte alimentados com diferentes programas de enzimas. *Semina* 38: 2765-2774.

AUGSPURGER NR, WEBEL DM, LEI XG, BAKER DH. 2003. Efficacy of an E. coli phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. *J Anim Sci* 81: 474-483

BARBOSA FJV, LOPES JB, FIGUERÊDO AV, ABREU LMT, DOURADO, LRB, FARIAS LA, PIRES JEP. 2008a. Níveis de energia metabolizável em rações para frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura. *Rev Bras Zootec* 37: 849-855.

BARBOSA NAA, BONATO MA, SAKOMURA NK, DOURADO LRB, FERNANDES JBK, KAWAUCHI IM. 2014. Digestibilidade ileal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas. *Comunicata Sci* 5: 361-369.

BARBOSA NAA, SAKOMURA NK, BONATO MA. 2012. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. *Cienc Rural* 42: 1497-1502.

BARBOSA NAA, SAKOMURA NK, FERNANDES JBK, DOURADO LRB. 2008a. Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. *Pesq Agropec Bras* 43: 755-762.

BARROS VRSMD. 2016. Avaliação nutricional da fitase e suas interações para frangos de corte. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 94f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2016.

BEDFORD MR, PARTRIDGE GG. 2010. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2. ed. Cambridge: CABI, 329p.

- CARDOSO DM, MACIEL MP, PASSOS DP, SILVA FV, REIS ST, AIURA FS. 2011. Efeito do uso de complexo enzimático em rações para frangos de corte. *Arch Zootec* 60: 1053-1064.
- CARRÉ, B. Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. 2004. *Poultry Sci* 60: 76-89.
- CHOCT M. 1997. Non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. *Feed Mill Intern* june: 13-26.
- COBB-VANTRESS. 2008. Guia de manejo para frangos de corte cobb 500. 70p.
- COWIESON, AJ. 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Anim Feed Sci Technol* 119: 293–305, 2005.
- COWIESON, AJ, BEDFORD MR, RAVINDRAN V, SELLE PH. 2011. Increased dietary sodium chloride concentrations reduce endogenous amino acid flow and influence the physiological response to the ingestion of phytic acid by broiler chickens. *British Poultry Sci* 52: 613-624.
- COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. 2005. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poult Sci* 84: 1860-1867.
- DAIRO FAS, ADESEHINWA AOK, OLUWASOLA TA. 2010. High and low dietary energy and protein levels for broiler chickens. *African J Agric Res* 5: 2030-2038.
- DONATO DCZ, ALBUQUERQUE R, GARCIA PDSR, BALIEIRO JCC. 2011. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio suplementadas com fitase. *R Bras Zootec* 40: 2161-2166.
- FERNANDES JIM, CONTINI JP, PROKOSKI K, GOTTARDO ET, CRISTO AB, PERINI R. 2017. Desempenho produtivo de frangos de corte e utilização de energia e nutrientes de dietas iniciais com milho classificado ou não e suplementadas com complexo enzimático. *Arq Bras Med Vet Zootec* 69: 181-190.
- FERNANDES JIM, OUTUTUMI M, FERREIRA LK, MACORIM PW, TRIQUES F. 2010. Efeito da adição de enzimas em dietas a base de milho e soja para frangos de corte. *Arq Cienc Vet Zool Unipar* 13: 25-31.
- FERREIRA GS, PINTO MF, GARCIA NETO M, PONSANO EHG, GONÇALVES CA, BOSSOLANI ILC, PEREIRA AG. 2015. Ajuste preciso do nível de energia na dieta de frangos de corte para controle do desempenho e da composição lipídica da carne. *Cienc Rural* 45: 104-110.
- FORTES BDA, CAFÉ MB, STRINGHINI JH, BRITO JAG, REZENDE PLP, SILVA RD. 2012. Avaliação de programas nutricionais com a utilização de carboidrases e fitase em rações de frangos de corte. *Cien Anim Bras* 13: 24-32.
- FRANCESCH M, GERAERT PA. 2009. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybeanbased diets. *Poult Sci* 88: 1915–1924.

FUKAYAMA EH, SAKOMURA NK, DOURADO LRB, NEME R, FERNANDES JBK, MARCATO SM. 2008. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. R Bras Zootec 37: 629-635

GAO F, JIANG Y, ZHOU GH, HAN ZK. 2008. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diet. Anim Feed Sci Technol, v.142, n.1-2, p.173-84, 2008.

GHAFARI M, SHIVAZAD M, ZAGHARI M, SEYFI E. 2008. Determination of the Best Level of Dietary Energy with Two Diet Formulation Methods Based on Total and Digestible Amino Acid on Broiler Diet. Pak J Biol Sci 11: 1461-1466.

GHAYOUR-NAJAFABADI P, KHOSRAVINIA H, GHEISARI A. 2018. Productive performance, nutrient digestibility and intestinal morphometry in broiler chickens fed corn or wheat-based diets supplemented with bacterial- or fungal-originated xylanase. Ital J Anim Sci 17: 165-174.

GUO S, LIU D, ZHAO X, LI C, GUO Y. 2014. Xylanase supplementation of a wheat-based diet improved nutrient digestion and mRNA expression of intestinal nutrient transporters in broiler chickens infected with *Clostridium perfringens*. Poult Sci 93: 94-103.

HAJATI H. 2010. Effects of Enzyme Supplementation on Performance, Carcass characteristics, Carcass Composition and Some Blood Parameters of Broiler Chicken. Am J Anim Vet Sci 5: 221-227.

JIA W, SLOMINSKI BA, BRUCE HL, BLANK G, CROW G, JONES O. 2009. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. Poult Sci 88: 132-140.

LELIS GR, BRITO CO, TAVERNARI FC, ALBINO LFT. 2009. Metabolismo de carboidratos e lipídeos em aves. Nutrime 6: 980-990.

LELIS GR, ALBINO LFT, SILVA CR, ROSTAGNO HS, GOMES PC, BORSATTO CG. 2010. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. R Bras Zootec 39: 1768-1773.

LI Y, CHEN X, CHEN Y, LI Z, CAO Y. 2010. Effects of β -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. Anim Feed Sci Technol 159: 59-67.

LIU JR, LAIA SF, YU B. 2007. Evaluation of an intestinal *Lactobacillus reuteri* strain expressing rumen fungal xylanase as a probiotic for broiler chickens fed on wheat-based diet. British Poultry Sci 48: 507-514.

MANANGI, MK, MAHARJAN P, COON CN. 2018. Effect of different concentrations of dietary P and Ca on plasma inorganic P and urinary P excretion using noncolostomized and colostomized broilers. Poult Sci 522-530.

- MENDES AA, MOREIRA J, OLIVEIRA EG, GARCIA EA, ALMEIDA MIM, GARCIA RG. 2004. Efeitos da Energia da Dieta sobre Desempenho, Rendimento de Carcaça e Gordura Abdominal de Frangos de Corte. R Bras Zootec 33: 2300-2307.
- MENDONÇA MO, SAKOMURA NK, SANTOS FR, FREITAS ER, FERNANDES, JBK, BARBOSA NAA. 2008. Níveis de energia metabolizável para machos de corte de crescimento lento criados em semiconfinamento. R Bras Zootec 37: 1433-1440.
- MENEGUETTI C, BERTECHINI AG, RODRIGUES PB, FASSANI EJ, BRITO JAG, REIS MP, GARCIA JR, AAP. 2011. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. Arq Bras Med Vet Zootec 63: 624-632.
- MENG X, SLOMINSKI BA. 2005. Nutritive value of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. Poult Sci 84: 1242-1251.
- MEZA SKL, NUNES RV, TSUTSUMI CY, SCHERER C, SAVOLDI TL. 2013. Efeito dos níveis de energia metabolizável e lisina digestível sobre o rendimento de carcaça de frangos de corte com 42 dias. Sci Agrar Parana 1: 420-424.
- MOE, S.M. 2008. Disorders involving calcium, phosphorus, and magnesium. Prim Care Clin Office Pract 35: 215-237.
- MUNIR K, MAQSOOD SA. 2013. Review on role of exogenous enzyme supplementation in poultry production. Emirates J Food Agric 25: 66-80.
- NIAN F, GUO YM, RU YJ, LI FD, PÉRON A. 2011. Effect of Exogenous Xylanase Supplementation on the Performance, Net Energy and Gut Microflora of Broiler Chickens Fed Wheat-based Diets. Asian-Aust. J. Anim. Sci 24: 400-406.
- NOVAK CL, YAKOUT HM, REMUS J. 2008. Response to varying dietary energy and protein with or without enzyme supplementation on leghorn performance and economics. 2. Laying Period. J Applied Poultry Res 17: 17-33.
- NUNES JO, ABREU RD, BRITO JAG, SILVA RF, OLIVEIRA LS, JESUS NA. 2015. Enzyme Supplementation of Broiler Feeds with Reduced Mineral and Energy Levels. Rev Bras Cienc Avic 17:15-21.
- OLIVEIRA NETO AR, OLIVEIRA RFM, DONZELE JL, ALBINO LFT, VALERIO SR, CARMO HM. 1999. Níveis de Energia Metabolizável para Frangos de Corte no Período de 22 a 42 Dias de Idade Mantidos em Condições de Estresse de Calor. R Bras Zootec 28: 1054-1062.
- OLUKOSI OA, COWIESON A.J, ADEOLA O. 2007. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. Poult Sci 86: 77-86.
- ONYANGO EM, BEDFORD MR, ADEOLA O. 2004. The yeast production system in Which *Escherichia coli* phytase is expressed may affect growth performance, bone ash, and nutrient use in broiler chicks. Poult Sci 83: 421-427.

- QIAN H, KORNEGAY ET, DENBOW DM. 1997. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. *Poult Sci* 76: 37-46.
- RAHMAN A, PASHA TN, YOUNUS M. 2014. Effect of multi-enzymes supplementation on growth performance of broiler. *Pakistan J Zoology* 46: 417-422.
- RAVINDRAN V, BRYDEN WL. 1997. Influence of dietary phytic acid and available phosphorus levels on the response of broilers to supplemental natuphos \O . In: Short course on feed technology, Korea: Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, Korea, p. 1-56.
- RAVINDRAN V, CABAUG S, RAVINDRAN G, BRYDEN L. 1999. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. *Poult Sci* 78: 699-706.
- RAVINDRAN V, SELLE PH, RAVINDRAN G, MOREL PCH, KIES AK, BRYDEN WL. 2001. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. *Poult Sci* 80: 338- 344.
- ROCHA PT, STRINGHINI JH, ANDRADE MA, LEANDRO NSM, ANDRADE ML, CAFÉ MB. 2003. Desempenho de Frangos de Corte Alimentados com Rações Pré-iniciais Contendo Diferentes Níveis de Proteína Bruta e Energia Metabolizável. *R Bras Zootec* 32: 162-170.
- ROSTAGNO HS, ALBINO LFT, DONZELE JL, GOMES PC, OLIVEIRA RF, LOPES DC, FERREIRA AS, BARRETO SLT, EUCLIDES RF. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais). 3ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235p.
- ROSTAGNO HS, ALBINO LFT, HANNAS MI, DONZELE JL, SAKOMURA NK, PERAZZO FG, SARAIVA A, ABREU MLT, RODRIGUES PB, OLIVEIRA RT, BARRETO SLT, BRITO CO. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais). 4.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2017. 488p.
- RUIZ US, THOMAZ MC, HANNAS MI, FRAGA AL, WATANABE PH, SILVA SZ. 2008. Complexo enzimático para suínos: digestão, metabolismo, desempenho e impacto ambiental. *R Bras Zootec* 37: 458-468.
- SAKOMURA NK, LONGO FA, RABELLO CB, WATANABE K, PELÍCIA K, FREITAS ER. 2004. Efeito do Nível de Energia Metabolizável da Dieta no Desempenho e Metabolismo Energético de Frangos de Corte. *R Bras Zootec* 33: 1758-1767.
- SAKOMURA VK, SILVA JHV, COSTA FGP, FERNANDES JBK, HAUSCHILD L. 2014. Nutrição de não ruminantes. 1 ed. Jaboticabal: Funep, 678p.
- SANTOS MSV, ESPÍNDOLA GB, FUENTES MFF, FREITAS ER, CARVALHO LE. 2006. Utilização de complexo enzimático em dietas à base de sorgo-soja para frangos de corte. *R Bras Zootec* 35: 811-817.
- SCHOULTEN NA, TEIXEIRA AS, FREITAS RTF, BERTECHINI AG, CONTE AJ, SILVA HO. 2003. Níveis de cálcio em rações de frangos de corte na fase inicial suplementadas com fitase. *R Bras Zootec* 32: 1190-1197.

SCHRAMM VG, DURAU JF, BARRILLI LNE, SOBARA JOB, COWIESON AJ, FÉLIZ AP, MAIORKA A. 2017. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. *Poult Sci* 96: 1204–1211.

SILVA DJ, QUEIROZ AC. 2006. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa: UFV, 235p.

SLOMINSKI BA, MENG X, CAMPBELL LD, GUENTER W, JONES O. 2006. The use of enzyme technology for improved energy utilization from full-fat oilseeds. Part II: Flaxseed. *Poult Sci* 85: 1031-1037.

STEFANELLO C, VIEIRA SL, CARVALHO OS, SOBARA JOB, COWIESON AJ. 2016. Energy and nutrient utilization of broiler chickens fed corn-soybean meal and corn-based diets supplemented with xylanase. *Poult Sci* 95: 1881-1887.

TAVERNARI FC, CARVALHO TA, ASSIS AP, LIMA HJD. 2008. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. *Nutritime* 5: 673-689.

VAZ ACN, ALBUQUERQUE R, BRISOLA ML, DONATO DCZ, GARCIA PDSR. 2013. Parâmetros ósseos de frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta. *Arq Bras Med Vet Zootec* 65: 1831-1835.

VIEITES FM, FRAGA AL, MORAES GHK, VARGAS JÚNIOR JG, NALON RP, CORRÊA GSS, NUNES RV. 2011. Cálcio, fósforo e proteína total no sangue de frangos de corte em função de níveis de balanço eletrolítico da ração. *Arq Bras Med Vet Zootec* 63: 887-894.

WANG ZR, QIAO SY, LU WQ, LI DF. 2005. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. *Poult Sci* 84: 875–881.

WU YB, RAVINDRAN V, THOMAS DG, BIRTLES MJ, HENDRIKS WH. 2004. Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *British Poultry Sci* 45: 76-84.

XAVIER SAG, STRINGHINI JH, BRITO AB, ANDRADE MA, LEANDRO NSM, CAFÉ MB. 2008. Níveis de energia metabolizável em rações pré-iniciais para frangos de corte. *R Bras Zootec* 37: 109-115.

YU B, CHUNG TK. 2004. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broilers fed corn-soybean meals diets. *J Applied Poultry Res* 13: 178-182.

Fitase e xilanase em dietas com ajustes nutricionais e seus efeitos sobre o perfil bioquímico sérico, morfometria e saúde intestinal de frangos de corte

RESUMO: Esse estudo foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a associação entre a fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (EM), P, Ca e Na sobre a morfometria e microbiologia intestinal e séricas de frangos de corte. Foram utilizados 250 frangos de corte distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições de 10 aves cada. Os tratamentos foram: dieta controle positivo – exigência nutricional completa e sem fitase e xilanase, dieta controle negativo - redução de 100 Kcal/kg de EM, 0,15% de P, 0,165% de Ca e 0,035% de Na sem fitase e xilanase e dietas com reduções de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM, P (0,15%), Ca (0,165%) e Na (0,035%) com xilanase e fitase. Não houve efeito significativo dos tratamentos avaliados sobre a morfologia da mucosa intestinal, exceto para o tamanho do vilão do íleo que reduziu ao adicionar as enzimas nas dietas com redução energética em 100 Kcal/kg. A associação das enzimas com a redução energética não alterou contagem bacteriana total, sendo identificadas as enterobactérias *E. coli*, *K. ozaenae* e *P. mirabilis* na microbiota intestinal para todos os tratamentos. Aos 21 dias de idade, a concentração de colesterol, P e triglicerídeos séricos foram alterados pelos tratamentos avaliados, sendo que aos 42 dias apenas os níveis de P foram prejudicados pela redução energética sem suplementação de enzimas. Conclui-se que a inclusão de fitase (500 FTU/kg) e xilanase (16.000 BXU/kg) em dietas com redução de EM em 150 Kcal/kg, 0,15% de P digestível, 0,165% de Ca e 0,035% de Na, não altera a morfometria e microbiota intestinal e o perfil bioquímico sérico de frangos de corte. A redução de EM em 100 Kcal/kg e de 0,15% de P digestível, 0,165% de Ca e 0,035% de Na sem fitase e xilanase prejudica o perfil bioquímico sérico de frangos de corte.

PALAVRAS-CHAVE: Contagem bacteriana total. Enzima exógena. Fósforo sérico. Mucosa intestinal. Polissacarídeo não amiláceos.

Phytase and xylanase in diets with nutritional adjustments and their effects on serum biochemical, morphometry and intestinal health of broilers

ABSTRACT: The objective of this study was to assess the association between phytase and xylanase in diets with reduced metabolizable energy (ME), phosphorus (P), calcium (Ca) and sodium (Na) on intestinal and serum morphometry and microbiology of broilers. 250 broilers were used, distributed in a completely randomized design with five treatments and five replications of 10 broiler each. The treatments were: positive control diet - complete nutritional requirement and no phytase and xylanase, negative control diet - reduction of 100 Kcal/kg of ME, 0.15% P, 0.165% Ca and 0.035% Na without phytase and xylanase and diets with reductions of 50, 100 and 150 Kcal/kg of MS, P (0.15%), Ca (0.165%) and Na (0.035%) with phytase and xylanase. There was no significant effect of the evaluated treatments on the morphology of the intestinal mucosa, except for the size of the villi of the ileum that reduced when adding the enzymes in the diets with energy reduction in 100 Kcal/kg. The association of the enzymes with the energetic reduction did not alter the total bacterial count, and the enterobacteria *E. coli*, *K. ozaenae* and *P. mirabilis* were identified in the intestinal microbiota for all treatments. At 21 days of age, the concentration of cholesterol, P and serum triglycerides were altered by the evaluated treatments, and at 42 days only the levels of P were impaired by energy reduction without enzyme supplementation. It was concluded that the inclusion of phytase (500 FTU/kg) and xylanase (16.000 BXU/kg) in diets with a reduction of ME at 150 Kcal/kg, 0.15% digestible P, 0.165% Ca and 0.035% Na, does not alter intestinal morphometry and microbiota and the serum biochemical profile of broiler chickens. The reduction of ME at 100 Kcal/kg and 0.15% digestible P, 0.165% Ca and 0.035% Na without phytase and xylanase impairs the serum biochemical profile of broilers.

KEYWORDS: Exogenous enzyme. Intestinal mucosa. Non-starch polysaccharide. Serum phosphorus. Total bacterial count.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a metabolizabilidade de dietas à base de milho e farelo de soja está sendo maximizada, refletindo positivamente sobre o desempenho dos frangos devido a utilização de enzimas exógenas altamente especializadas, particularmente, a fitase e a xilanase que atuam sobre fitatos e polissacarídeos não amiláceos (PNAs), respectivamente (Cardoso et al., 2011; Vaz et al., 2013; Schramm et al., 2017), os quais estão entre os principais fatores antinutricionais presentes nos grãos (Liu et al., 2008; Tavernari et al., 2008; Rostagno et al., 2017).

A melhora observada no desempenho das aves está relacionada à melhor utilização dos nutrientes e da energia liberada pelas enzimas (Fortes et al., 2012; Masey-o Neill et al., 2014; Rahman et al., 2014; Ghayour-Najafabadi et al., 2018). A quebra das moléculas de fitato liberam fósforo (P), minerais, proteínas, aminoácidos e amido (Ravindran et al., 1999). Por sua vez, as xilanases disponibilizam maior energia para a ave por atuarem na hidrolização de carboidratos da parede celular vegetal e liberam amido, lipídios e proteínas (Cowieson, 2005), encapsulados dentro da matriz celular insolúvel ou de nutrientes que foram englobados pela viscosidade dos PNAs durante sua passagem pelo intestino da ave (Carré, 2004).

No entanto, o melhor desempenho observado com o uso das enzimas não está relacionado somente com a melhor utilização dos nutrientes, mas também à integridade da mucosa e equilíbrio da microbiota intestinal das aves (Woyengo et al., 2011), uma vez que, as propriedades morfofuncionais do sistema digestório podem ser moduladas pela alimentação (Boleli et al., 2008) e assim melhorar a saúde intestinal dos frangos de corte, a qual pode ser monitorada por meio do perfil bioquímico sérico das aves (Schmidt et al., 2007; Minafra et al., 2010).

A microbiota intestinal das aves é formada por aproximadamente 400 espécies que convivem em equilíbrio com o hospedeiro, aderidas ao epitélio ou livres na luz intestinal, e a quantidade e as espécies variam ao longo do trato conforme alterações de pH. A colonização do intestino por bactérias benéficas contribuem na digestão do amido, recuperação de nitrogênio endógeno, síntese de vitaminas e metabolismo de lipídeos e minerais (Praxedes, 2012).

Estudos sugerem efeitos positivos sobre o equilíbrio da microbiota e morfologia ao utilizar xilanase na dietas de frangos de corte (Nian et al., 2011; Liu e Kim, 2016). Os xilooligossacarídeos (XOS) produzidos por exo-xilanases e ou β -xilosidases (Cai et al., 1997),

podem atuar como prebióticos (Manning e Gibson, 2004; Barreto et al., 2015) com capacidade de estimular o crescimento e atividade de microrganismos benéficos no sistema digestório de frangos de corte (Lafond et al., 2011; Masey-o Neill et al., 2014; Liu e Kim, 2016) e produção de ácidos graxos voláteis de cadeia curta (Kiarie et al., 2014).

Por outro lado, a utilização da fitase isoladamente pode não exercer efeitos sobre as vilosidades (Pirgozliev et al., 2007; Pirgozliev et al., 2008) mas, a associação entre a fitase e a xilanase pode possuir efeito aditivo, uma vez que, a eficiência da fitase adicionada à dieta pode ser melhorada pelo acesso ao substrato liberado pela hidrólise dos PNAs. Da mesma forma, a insuficiência de fitase pode reduzir a ação das carboidrases em nutrientes que possam estar ligados à molécula de fitato (Cowieson e Adeola, 2005, Olukosi et al., 2007, Schramm et al., 2017).

Desta forma, a utilização de aditivos que melhoram o desempenho e favorecem a saúde da ave em relação à dietas convencionais, torna-se um fator em potencial para a maior rentabilidade do setor avícola. No entanto, com a utilização de enzimas exógenas é necessário manter a relação ideal entre os nutrientes para que não ocorra antagonismo e a ação enzimática seja silenciada.

Níveis elevados de cálcio (Ca) e sódio (Na) podem interagir com outros minerais (ferro, magnésio e zinco) e aminoácidos endógenos, respectivamente, indisponibilizando-os para absorção, ocultando o efeito da fitase (Qian et al., 1997; Cowieson et al, 2011). Assim, esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a associação entre a fitase e xilanase em dietas com redução de energia metabolizável (EM), P, Ca e Na sobre a morfometria e microbiologia intestinal e séricas de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório Experimental em Ciência Aviária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMS) protocolado com o número 737/2015.

Foram utilizados 250 frangos da linhagem Cobb 500 de um a 42 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições de 10 aves cada. As aves foram padronizadas por peso ($\pm 10\%$ do peso médio do lote), de forma que todas as unidades experimentais possuíssem pesos semelhantes.

Os frangos foram alojados em galpão convencional, coberto por telha de fibrocimento e dividido em 25 boxes de 2,5 m² com piso de terra batida, sendo utilizada maravalha (lascas de madeira não tratada) como cama nova e equipados com campânulas elétricas contendo duas lâmpadas incandescentes de 100 W para o aquecimento das aves, comedouro tubular e bebedouro pendular. As dietas e água foram fornecidas à vontade.

O programa de iluminação adotado foi o de 24 horas por dia (natural + artificial) durante todo o período experimental. Diariamente foram verificadas a ocorrência de mortalidade e as temperaturas, máxima e mínima, e a umidade relativa do ar, às 07 e 17h.

Os tratamentos foram: dieta controle positivo com exigência nutricional completa e sem fitase e xilanase, dieta controle negativo com redução de 100 Kcal/kg de EM sem fitase e xilanase e dietas com reduções de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM com fitase e xilanase. Para todas as dietas reduzidas em EM foi considerada a matriz nutricional da fitase com redução de P (0,15%), Ca (0,165%) e Na (0,035%).

A fitase utilizada foi proveniente do microrganismo *Escherichia coli* e a xilanase do *Trichoderma reesei*, com inclusão fixada em 500 FTU e 16.000 BXU/kg de ração, respectivamente. Ambas as enzimas foram obtidas de empresas comerciais.

As dietas experimentais foram fareladas e formuladas a base de milho e farelo de soja, de forma a atenderem as exigências nutricionais das aves segundo as recomendações de Rostagno et. al. (2011) para cada fase de criação: pré inicial – 1 a 7 dias (Tabela 16), inicial – 8 a 21 dias (Tabela 17), crescimento - 22 a 33 dias (Tabela 18) e pré abate – 34 a 42 dias (Tabela 19), exceto para energia metabolizável, fósforo disponível, cálcio e sódio.

Aos 21 dias de idade foi selecionada uma ave por repetição (cinco aves por tratamento) por meio do peso corporal médio da unidade experimental ($\pm 10\%$). As aves foram identificadas por anilhas plásticas e submetidas a jejum alimentar de seis horas e, posteriormente insensibilizadas por deslocamento cervical e abatidas por meio de sangria completa entre os ossos occipital e atlas.

Após o abate, foi realizada a laparotomia, e coletadas amostras de aproximadamente três centímetros de comprimento dos segmentos do intestino delgado (jejuno e íleo), considerando o jejuno da porção distal da alça duodenal ao divertículo de *Meckel* (divertículo vitelino) e íleo a porção anterior aos cecos.

Tabela 16. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase pré inicial (1 a 7 dias de idade)

Ingredientes %	Controle positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%	54,05	54,05	54,05	54,05	54,05
Farelo de soja, 46%	38,82	38,82	38,82	38,82	38,82
Óleo de soja	2,57	1,42	1,99	1,42	0,85
Fosfato bicálcico	1,90	1,09	1,09	1,09	1,09
Calcário calcítico	0,91	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal comum	0,51	0,42	0,42	0,42	0,42
Suplemento min-vit. ¹	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL- Metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L- Lisina HCl	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
L- Treonina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Inerte	0,10	2,05	1,48	2,05	2,62
Xilanase	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,00	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2.960	2860	2910	2860	2810
Proteína bruta (%)	22,71	22,71	22,71	22,71	22,71
Arginina dig. (%)	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43
Lisina dig. (%)	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32
Metionina+cistina dig. (%)	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Treonina dig. (%)	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
Triptofano dig. (%)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Cálcio (%)	0,92	0,75	0,75	0,75	0,75
Potássio (%)	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
Fósforo disp. (%)	0,47	0,32	0,32	0,32	0,32
Cloro (%)	0,35	0,30	0,30	0,30	0,30
Sódio (%)	0,22	0,18	0,18	0,18	0,18
Número de Mogin (mEq/kg)	217,56	217,16	217,56	217,16	217,56

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

Tabela 17. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase inicial (8 a 21 dias de idade)

Ingredientes %	Controle positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%		58,16	58,16	58,16	58,16
Farelo de soja, 46%	34,75	34,75	34,75	34,75	34,75
Óleo de soja	2,62	1,48	2,05	1,48	0,91
Fosfato bicálcico	1,49	0,67	0,67	0,67	0,67
Calcário calcítico	0,91	1,01	1,01	1,01	1,01
Sal comum	0,50	0,39	0,39	0,39	0,39
Suplemento min-vit ¹	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL- Metionina	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
L- Lisina HCl	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
L- Treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Inerte	0,52	2,47	1,88	2,45	3,02
Xilanase	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,00	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3.050	2.950	3.000	2.950	2.900
Proteína bruta (%)	21,20	21,20	21,20	21,20	21,20
Arginina dig. (%)	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31
Lisina dig. (%)	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
Metionina+cistina dig. (%)	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Treonina dig. (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Triptofano dig. (%)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Cálcio (%)	0,84	0,68	0,68	0,68	0,68
Potássio (%)	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Fósforo disp. (%)	0,40	0,25	0,25	0,25	0,25
Cloro (%)	0,33	0,27	0,27	0,27	0,27
Sódio (%)	0,21	0,17	0,17	0,17	0,17
Número de Mogin (mEq/kg)	206,78	206,32	206,32	206,32	206,32

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantotênico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina

Tabela 18. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de crescimento (22 a 33 dias de idade)

Ingredientes %	Controle Positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%	60,44	60,44	60,44	60,44	60,44
Farelo de soja, 46%	31,63	31,63	31,63	31,63	31,63
Óleo de soja	4,17	3,03	3,60	3,03	2,46
Fosfato bicálcico	1,34	0,53	0,53	0,53	0,53
Calcário calcítico	0,89	0,98	0,98	0,98	0,98
Sal comum	0,46	0,37	0,37	0,37	0,37
Suplemento min-vit ¹	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DL- Metionina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L- Lisina HCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
L- Treonina	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Inerte	0,15	2,10	1,53	2,10	2,67
Xilanase	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3.150	3.050	3.100	3.050	3.000
Proteína bruta (%)	19,82	19,82	19,82	19,82	19,82
Arginina dig. (%)	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
Lisina dig. (%)	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
Metionina+cistina dig. (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Treonina dig. (%)	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Triptofano dig. (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cálcio (%)	0,76	0,59	0,59	0,59	0,59
Potássio (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Fósforo disp. (%)	0,35	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,32	0,27	0,27	0,27	0,27
Sódio (%)	0,20	0,16	0,16	0,16	0,16
Número de Mogin (mEq/kg)	188,29	187,89	187,89	187,89	187,89

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

Tabela 19. Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de pré abate (34 a 42 dias de idade)

Ingredientes %	Controle positivo	Controle negativo	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg) com fitase e xilanase		
			50	100	150
Milho, 7,88%	63,30	63,30	63,30	63,30	63,30
Farelo de soja, 46%	28,96	28,96	28,96	28,96	28,96
Óleo de soja	4,36	3,21	3,78	3,21	2,64
Fosfato bicálcico	1,12	0,31	0,31	0,31	0,31
Calcário calcítico	0,79	0,88	0,88	0,88	0,88
Sal comum	0,44	0,36	0,36	0,36	0,36
Suplemento min-vit. ¹	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DL- Metionina	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
L- Lisina HCl	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
L- Treonina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Inerte	0,15	2,11	1,54	2,11	2,68
Xilanase	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,00	0,0075	0,0075	0,0075
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3.200	3.100	3.150	3.100	3.050
Proteína bruta (%)	18,78	18,78	18,78	18,78	18,78
Arginina dig. (%)	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14
Lisina dig. (%)	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06
Metionina+cistina dig. (%)	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Treonina dig. (%)	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
Triptofano dig. (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cálcio (%)	0,66	0,50	0,50	0,50	0,50
Potássio (%)	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
Fósforo disp. (%)	0,31	0,16	0,16	0,16	0,16
Cloro (%)	0,32	0,26	0,26	0,26	0,26
Sódio (%)	0,19	0,16	0,16	0,16	0,16
Número de Mogin (mEq/kg)	177,77	177,36	177,36	177,36	177,36

¹Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico final: 1.104 mg Ácido Pantoténico; 4,5 mg Biotina; 3.000 mg Cobre; 43,48 g Colina; 10 g Ferro; 333,33 mg Iodo; 20 g Iodo; 20 g Manganês; 301,95 g Metionina; 1.500 mg Niacina; 60 mg Selênio; 900.000 UI Vitamina A; 90 mg Vitamina B1; 900 mcg Vitamina B12; 300 mg Vitamina B2; 120 mg Vitamina B6; 150.000 UI Vitamina D3; 1.500 UI Vitamina E; 150 mg Vitamina K3; 20 g Zinco.

As amostras de intestino foram lavadas com solução salina para retirada do conteúdo intestinal e fixadas em solução de formol 10% e, posteriormente, desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina conforme metodologia descrita por Beçak e Paulete (1976). Foram obtidos cortes histológicos longitudinais e semiseriados com sete μm de espessura e, posteriormente, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina.

A captura das imagens para análise de morfometria foi realizada por meio de microscopia (Leica DMI8). As imagens foram capturadas em objetiva de 4x e analisadas utilizando sistema de imagens computadorizado (LAS X). A morfometria do intestino delgado foi realizada mensurando o comprimento dos vilos, profundidade de criptas e a relação vilo: cripta de cada repetição por segmento e desses valores foi obtida a média.

A análise da microbiologia intestinal foi realizada a cada sete dias a partir do primeiro dia de idade das aves até o final do experimento. A amostragem foi realizada em *pool* constituído por uma ave de cada repetição. As amostras foram coletadas por *swab* cloacal e acondicionados em frascos contendo água peptonada a 0,1%.

Para a análise quantitativa foi realizada a contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, por meio da técnica de *pour-plate* em agar para contagem em placa (PCA). Para isso, foram realizadas diluições seriadas do líquido de acondicionamento dos *swabs*, que posteriormente foram dispensados em placas estéreis (100 μL), sobre os quais foram vertidos 10 mL de agar PCA fundido. As placas foram mantidas em estufa a 37°C por 24 horas.

O número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi obtido após contagem e obtenção da média das placas que continham colônias. Também foi realizada análise qualitativa para identificação dos principais gêneros/espécies de bactérias entéricas. Esta etapa foi realizada por meio da semeadura de uma alíquota do líquido de acondicionamento dos *swabs* em agar Mac Conkey.

Após incubação a 37°C, por 24 horas, as amostras foram identificadas pelas características morfotintoriais e por meio de reações bioquímicas em meios específicos para identificação de enterobactérias. Todas as análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as técnicas preconizadas por Winn-Jr et al. (2008).

Para avaliação do perfil bioquímico sérico, foi coletado sangue de duas aves por unidade experimental com 21 e 42 dias de idade, após degola durante o abate das aves. O sangue foi disposto em tubo identificado e levado para centrifugação a 6.000 rpm por 10 minutos, para obtenção do soro. Foram analisados as concentrações de Ca (mg/dL), P (mg/dL), colesterol total

e triglicérides por meio de *kits* comerciais Cobas 111®, fundamentado nos princípios da espectrofotometria.

Os dados referentes à análise de morfometria intestinal e perfil bioquímico sérico foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e também por contrastes ortogonais pelo Teste de Scheffer ($P < 0,05$). As análises foram realizadas por meio do programa estatístico SAS (versão University). Os contrastes testados foram:

C1 – tratamento com redução de 100 Kcal/kg de EM, P, Ca, Na com fitase e xilanase x tratamento com redução de 100 Kcal/kg de EM, P, Ca e Na sem fitase e xilanase, indicando o efeito da suplementação enzimática sobre a redução de 100 Kcal/kg de EM;

C2 – controle positivo x demais tratamentos, o qual demonstra o efeito da redução de EM, P, Ca e Na em relação à dieta controle positivo;

C3 – controle positivo x tratamentos contendo redução de 50, 100 e 150 Kcal/kg de EM, P, Ca e Na com fitase e xilanase, indicando o efeito da redução de EM, seus ajustes nutricionais e a suplementação enzimática em relação à dieta controle positivo. Para a análise quantitativa e qualitativa microbiológica foi utilizada estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de temperatura e umidade relativa do ar (UR) observadas durante todo o período experimental (Tabela 8) demonstraram que as aves foram mantidas dentro da zona de conforto térmico considerada para a linhagem (fase pré inicial: 29-33°C e 30-60% UR, demais fases: 18-26°C e 50-70% UR) (Cobb Vantres, 2008).

Tabela 20. Valores mínimos, máximos e médios de umidade e temperatura ambiental registrados durante o período experimental

Fase de criação	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)		
	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima	Média
1 a 7 dias	24,4	31,6	28,0	59,3	80,9	70,1
8 a 21 dias	19,7	27,0	23,3	66,5	78,3	72,4
22 a 33 dias	19,3	27,0	23,1	54,7	77,1	65,9
34 a 42 dias	19,8	27,8	23,8	43,6	68,0	55,8

A morfometria do jejuno e íleo dos frangos de corte aos 21 dias de idade não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos tratamentos avaliados conforme o teste de médias. No entanto, por meio do contraste C1 foi observado que a adição da fitase e da xilanase reduziu ($P < 0,05$) o

comprimento do vilão do íleo em dietas contendo redução de 100 Kcal/kg de EM e ajustadas para os níveis de P, Ca e Na (Tabela 21).

Tabela 21. Morfometria intestinal de frangos de corte com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo redução energética (REM), P, Ca e Na e suplementadas com fitase e xilanase (FX)

REM (Kcal/kg)*	FX	Jejuno			Íleo		
		Altura do vilão	Profundidade de cripta	Vilão:cripta	Altura do vilão	Profundidade de cripta	Vilão:cripta
		----- µm -----			----- µm -----		
0	Sem	821,56	125,39	6,71	760,02	131,42	5,88
100	Sem	726,09	99,79	7,31	787,23	146,07	5,63
50	com	764,21	111,03	7,27	819,37	105,09	7,89
100	com	816,05	109,94	7,76	618,13	118,65	5,24
150	com	706,82	91,34	7,78	723,85	155,80	4,85
Média		763,84	106,21	7,43	737,14	134,77	5,68
CV (%) ¹		12,21	21,41	21,79	14,66	22,21	21,07
<i>P-value</i>		0,306	0,336	0,889	0,173	0,261	0,099
Contraste ortogonal ^{2**}							
C1		0,169	0,515	0,687	0,034	0,192	0,634
C2		0,255	0,132	0,423	0,692	0,999	0,975
C3		0,330	0,157	0,393	0,521	0,773	0,870

¹CV = coeficiente de variação; ²P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer;

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

Resultado semelhante foi observado por Wu et al. (2004) que, ao suplementarem xilanase (1.000 BXU/kg) e fitase (500 FTU/kg) de forma associada em dietas contendo trigo, relataram redução no tamanho dos vilos duodenais de frangos de corte com 21 dias de idade. Os autores relataram que este resultado é inesperado e de difícil explicação, assim como o observado nesse estudo.

A ausência de efeitos dos tratamentos sobre as demais variáveis, possivelmente, está relacionada à alta metabolizabilidade que o milho e o farelo de soja possuem, tornando as dietas pouco agressivas à mucosa intestinal. Este resultado torna-se relevante, pois a energia destinada para o *turnover* proteico do epitélio intestinal que não foi utilizada pode aumentar a energia líquida destinada para a deposição de carne magra, tornando possível o aumento do ganho de peso e a melhoria da conversão alimentar.

Os vilos intestinais são responsáveis pela absorção dos nutrientes no lúmen intestinal e constantemente renovados pelas células que migram da cripta (Leser e Molbak, 2009). A inflamação do intestino, seja por ingredientes agressivos à mucosa, como no casos dos PNAs

ou pela densa população de microrganismos patogênicos, reduzem a quantidade de enterócitos na extremidade apical dos vilos e hiperplasia da cripta, reduzindo a relação vilo: cripta, o que não é desejado (Wu et al., 2004; Domeneghini et al., 2006; Leser e Molbak, 2009).

Dietas formuladas com ingredientes que possuem alto conteúdo de PNAs, como por exemplo o trigo, podem alterar de forma significativa a mucosa intestinal (Shakouri et al., 2009; Teirlynck et al., 2009) reduzindo o tamanho dos vilos por apoptose epitelial pela inibição do contato efetivo entre o nutriente e as vilosidades (Liu e Kim, 2016).

Ao suplementar fitase (250; 500 e 2.500 FTU/kg) em dietas contendo milho, farelo de soja e glúten para frangos de corte com 21 dias de idade, Pirgozliev et al. (2008) não observaram alterações na altura e espessura de vilo do íleo. Assim como Fernandes et al. (2017) ao avaliarem o efeito da adição de 50 g/t de um complexo enzimático (xilanase, amilase e protease) em dietas iniciais (21 dias) associada ou não à redução energética (2.970 e 2.820 Kcal/kg, respectivamente) sobre a altura de vilo e profundidade de cripta do duodeno e jejuno de frangos de corte.

Ao avaliar dietas à base de milho, farelo de soja e glúten contendo 0, 1.875; 3.750 e 5.625 BXU/kg de xilanase para frangos de corte com 35 dias de idade, Liu e Kim (2016) observaram aumento linear na altura do vilo e relação vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo com a inclusão de xilanase.

Para a contagem bacteriana total presente na porção final do trato gastrintestinal das aves, observou-se que as quantidades de colônias mensuradas foram baixas e próximas entre os tratamentos, o que não resultou em alterações na saúde das aves (Tabela 22).

Esse resultado respalda a ausência de efeitos dos tratamentos sobre a mucosa intestinal, uma vez que as modificações na microbiota pela presença de PNAs baseiam-se principalmente na migração de bactérias presentes no ceco para o intestino pela redução do peristaltismo e maior substrato para aderência dessas bactérias (Wang et al., 2005).

No 1º dia de vida das aves não foi observada a formação de colônias em nenhum dos tratamentos avaliados. Esse resultado já era esperado, uma vez que, a presença de microrganismos no trato gastrintestinal durante a fase embrionária é praticamente nula (Van der Wielen et al., 2002) e, devido ao pouco tempo decorrido entre a análise e o nascimento não ocorreu colonização, uma vez que as aves ainda não tinham se alimentado e não estavam em contato com a cama.

Tabela 22. Contagem bacteriana total (CBT) e bactérias intestinais encontradas em frangos de corte alimentados com dietas contendo redução energética, P, Ca e Na e suplementadas com fitase e xilanase

Idade aves (dias)	Redução de energia metabolizável (Kcal/kg)									
	0 – Controle positivo		100 – Controle negativo		50 + fitase e xilanase		100 + fitase e xilanase		150 + fitase e xilanase	
	CBT (UFC/ml) x10 ⁴	Bactéria	CBT (UFC/ml) x10 ⁴	Bactéria	CBT (UFC/ml) x10 ⁴	Bactéria	CBT (UFC/ml) x10 ⁴	Bactéria	CBT (UFC/ml) x10 ⁴	Bactéria
1	Negativo	-	Negativo	-	Negativo	-	Negativo	-	Negativo	<i>Serratia rubidae</i>
7	8,57	<i>E.coli</i> <i>K.ozaenae</i>	0,50	<i>E. coli</i> <i>K.ozaenae</i>	4,10	<i>E.coli</i> <i>K.ozaenae</i>	2,17	<i>E. coli</i> <i>K.ozaenae</i>	1,50	<i>E.coli</i> <i>K.ozaenae</i> <i>Actinomyces viscosus</i>
14	18,00	<i>E. coli</i>	12,15	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	7,50	<i>E. coli</i>	8,00	<i>E. coli</i>	4,00	<i>E. coli</i> <i>Enterobacter agglomerans</i>
21	9,83	<i>E. coli</i> <i>K.ozaenae</i> <i>P.mirabilis</i>	5,63	<i>E. coli</i> <i>K.ozaenae</i>	1,30	<i>E.coli</i> <i>K.ozaenae</i>	14,07	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	4,80	<i>E. coli</i> <i>K.ozaenae</i>
28	18,90	<i>E. coli</i>	46,40	<i>E. coli</i>	8,20	<i>E. coli</i>	109,60	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	3,20	<i>E. coli</i>
35	13,77	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	22,63	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	11,03	<i>E. coli</i>	6,50	<i>E. coli</i>	3,60	<i>E. coli</i>
42	12,33	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	17,97	<i>E. coli</i>	137,90	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	240,33	<i>E. coli</i> <i>P.mirabilis</i>	55,50	<i>E. coli</i>

A ausência de microrganismos intestinais durante essa primeira fase de vida da ave, pode aumentar as chances por colonização de bactérias patogênicas e inibição do crescimento de bactérias benéficas por exclusão competitiva (Oliveira et al., 2004), caso as aves não sejam mantidas em ambiente com correto manejo sanitário, principalmente nesse período que o trato gastrintestinal ainda está imaturo.

Ainda no 1º dia de vida das aves, verificou-se que apenas no grupo alimentado com a dieta contendo fitase e xilanase com redução de 150 Kcal/kg de EM e ajustada para P, Ca e Na foi identificada a presença de uma espécie de enterobactéria – *Serratia rubidaea*.

No entanto, essa espécie é comumente encontradas no trato gastrointestinal dos frangos. O fato de não ter sido observado a formação de colônias por meio da contagem bacteriana total (CBT), porém, identificado a presença de enterobactéria para este tratamento, deve-se ao meio de cultura utilizado para cada análise. O método qualitativo utilizado para identificação de bactérias gram negativas é realizado em ágar MacConkey, com alta concentração de sais biliares que propicia rápido crescimento de enterobactérias, possivelmente estimulando o crescimento da espécie encontrada.

A partir do 7º dia foi constatada a presença de bactérias gram-negativas das espécies *Escherichia coli*, *Klebsella ozaenae* e *Proteus mirabilis* para todas as dietas com redução de até 100 Kcal/kg de EM e de *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae* e *Enterobacter agglomerans* em frangos alimentados com redução de 150 Kcal/kg de EM em dieta associada à fitase e xilanase.

Apesar de pertencerem à família *Enterobacteriaceae* e serem potencialmente patogênicas, principalmente em animais imunossuprimidos (Kariyawasam et al., 2006; Nian et al., 2011; Liu e Kim, 2016) ao se alojarem em regiões fora do intestino, estas bactérias são comumente encontradas na microbiota das aves (Oliveira et al., 2004; Praxedes et al., 2012), o que pode justificar a presença no trato gastrointestinal das aves, independentemente do tratamento utilizado.

As espécies de enterobactérias encontradas nesse estudo, estão naturalmente presentes em grande quantidade na matéria orgânica, solo, água e até mesmo na superfície interna e externa do *Alphitobius diaperinus* conhecido popularmente como “cascudinho” (Segabinazi et al., 2005), que representa uma das principais pragas da avicultura.

Apenas no 7º dia e em uma ave foi identificada a presença de *Actinomyces viscosus* no tratamento constituído pela redução de 150 Kcal/kg de EM com enzimas. A *A. viscosus* é uma actinobactéria de prevalência humana (Brailsford et al., 1999; Figueroa-Gordon et al., 2009) que não é comum no TGI das aves. Possivelmente por estar dispersa no ar, essa actinobactéria

pode ter sido inalada pela ave e ter parado no trato gastrointestinal via sistema respiratório e eliminado. Como as aves estavam saudáveis e submetidas a um correto manejo sanitário, não foi verificado sintomas ou proliferação dessa espécie bacteriana.

Ao avaliar em dietas formuladas à base de trigo e associadas ou não a um complexo enzimático (1 g/t – xilanase 1.218 U/g, glucanase - 63 U/g, celulose 40 U/g e pectinase 61 U/g), Gao et al. (2008) não encontraram alterações significativas na contagem de lactobacilos e coliformes no ceco de frangos com 21 dias de idade (Gao et al., 2008). Da mesma forma, Leite et al. (2012), ao avaliarem um complexo enzimático composto por amilase, pectinase, betaglucanase, celulase, protease e fitase, na proporção de 200g/t em dietas contendo sorgo, milho e farelo de soja para frangos de corte com 14 e 28 dias de idade.

Por outro lado, ao testarem a inclusão de xilanase (0, 1.875, 3.750 e 5.625 BXU/kg) em dietas para frangos de corte contendo trigo, Liu e Kim (2016) observaram aumento linear na contagem de *Lactobacillus* ($6,34 \times 10^8$ até $7,22 \times 10^8$) no íleo e redução linear na contagem de *E. coli* ($7,12 \times 10^8$ até $6,31 \times 10^8$) no ceco das aves, atribuída à redução dos PNAs.

A ação da xilanase pode reduzir a incidência de doenças intestinais por acelerar a velocidade de passagem da digesta e reduzir a fermentação intestinal, por diminuir o tamanho da molécula a ser digerida, inibindo a incidência e proliferação de microrganismos patogênicos, principalmente em dietas contendo trigo (Nian et al., 2011).

A proporção de microrganismos no intestino também pode ser constatada por alterações na concentração de ácidos graxos voláteis fermentados no íleo e no ceco, como demonstrado por Wang et al. (2005) com níveis crescentes de carboidrases (1.256 a 6.220 U/kg de xilanase e 640 a 3.225 U/kg de β -glucanase) em dietas contendo trigo para frangos com 42 dias. Os autores relataram que devido à grande quantidade de bactérias que migraram para o íleo, ocorreu maior fermentação quando os nutrientes foram liberados pelas enzimas, da mesma forma, a quebra do PNAs liberou carboidratos de baixo peso molecular passíveis de fermentação no ceco.

A maior CBT observada ao final do período de criação (42 dias) pode estar relacionada ao contato contínuo das aves com a cama que continha excretas, restos de rações que caíram dos comedouros e que foram acumuladas ao longo do período experimental. No entanto, o correto manejo de bebedouros possibilitou baixa umidade de cama e baixa proliferação de microrganismos patogênicos.

Para os níveis bioquímicos séricos dos frangos aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 23), apenas a concentração de fósforo foi alterada ($P < 0,05$) em ambas as idades.

Tabela 23. Perfil bioquímico sérico de frangos de corte alimentados com dietas contendo redução energética (REM), P, Ca e Na e suplementadas com fitase e xilanase (FX)

REM Kcal/kg*	FX	21 dias**				42 dias**			
		P	Ca	Colesterol	TRG	P	Ca	Colesterol	TRG
		-----mg/dL-----							
0	Sem	5,44a	7,53	89,00	20,37	6,16a	8,54	90,40	16,32
100	Sem	2,38b	7,64	119,60	31,40	1,92b	6,39	83,80	24,17
50	Com	5,64a	7,88	111,80	32,94	5,34a	7,96	78,20	12,82
100	Com	2,68ab	7,27	74,00	30,10	6,31a	7,34	97,80	20,97
150	Com	4,23ab	7,94	118,00	33,26	5,33a	8,29	88,60	19,03
Média		4,07	7,65	102,64	29,61	5,01	7,70	87,76	18,66
CV (%) ¹		38,90	33,19	29,84	38,87	27,72	21,87	24,94	50,67
P-value ²		0,009	0,993	0,108	0,398	0,001	0,301	0,692	0,405
		Contraste ortogonal ^{3***}							
C1		0,774	0,820	0,029	0,860	<0,001	0,381	0,324	0,598
C2		0,043	0,905	0,279	0,058	0,052	0,230	0,766	0,543
C3		0,139	0,900	0,437	0,062	0,492	0,448	0,848	0,795

*Redução de 0 Kcal/kg – controle positivo; Redução de 100 Kcal/kg sem enzimas – controle negativo;

**Ca: cálcio; P: fósforo;

***C1: 100 Kcal/kg com fitase e xilanase x 100 Kcal/kg sem fitase e xilanase; C2: controle positivo x demais tratamentos; C3: dieta controle positivo x tratamentos com redução de 50, 100 e 150 Kcal, P, Ca e Na com fitase e xilanase;

¹CV = coeficiente de variação; ²Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); ³P<0,05 é significativo ao teste de Scheffer.

Aos 21 dias de idade os frangos alimentados com a dieta controle positiva e com redução de 50 Kcal/kg de EM, P, Ca e Na e associada com fitase e xilanase apresentaram maior concentração de fósforo sérico, com o menor valor obtido em frangos que consumiram a dieta controle negativo. No entanto, ambos os tratamentos não diferiram estatisticamente das dietas com redução de 100 e 150 Kcal/kg de EM, ajustadas para P, Ca e Na e acrescidas de fitase e xilanase.

Esses resultados refletiram a concentração de fósforo absorvido e disponível para utilização no metabolismo da ave e, evidenciaram que a suplementação enzimática, em especial, a fitase, foi efetiva na quebra das moléculas de fitato, por meio de reações sequenciais de desfosforilação, produzindo moléculas menores de ésteres de fosfato de mio-inositol e fósforos inorgânicos aptos para absorção no lúmen intestinal (Bedford e Partridge, 2010).

Aos 42 dias de idade, a utilização das dietas contendo redução energética, independentemente do nível, mas suplementadas com fitase e xilanase resultaram em níveis séricos de fósforo semelhantes (P>0,05) ao das aves que receberam dieta controle positivo. A menor (P<0,05) concentração de P também foi observada no soro sanguíneo dos frangos alimentados com a dieta controle negativo.

Em ambas as idades, a concentração de fósforo presente no soro sanguíneo das aves estava dentro da faixa considerada normal para frangos de corte (5 a 7 mg/dL) (Vieites et al., 2011; Manangi et al., 2018), com exceção das aves do tratamento controle negativo. A baixa concentração de P sérico observada nos frangos do controle negativo, indicaram que as aves estavam com hipofosfatemia devido à baixa ingestão de fósforo e provavelmente favorecida pela redução de EM.

Aves com deficiência de P apresentam redução no consumo de ração devido à perda do apetite e, conseqüentemente, o desempenho é prejudicado, principalmente por distúrbios no metabolismo energético devido à quantidade insuficiente de fósforo para formação de ATP (Moe, 2008).

Por meio da análise de contraste C1, somente no período final de criação, a concentração de P sérico dos frangos alimentados com dietas contendo redução de 100 Kcal/kg e ajustadas para os níveis de P, Ca e Na aumentou ($P < 0,05$) ao adicionar fitase e xilanase à formulação. No entanto, pelo contraste C2 foi observado que a redução de EM, P, Ca e Na nas dietas reduziu ($P < 0,05$) o nível sérico de fósforo em ambas as idades. Este resultado demonstrou que a redução de nutrientes só pode ser feita quando associada à suplementação enzimática, fato esse respaldado pela ausência de diferenças no contraste C3.

Em dieta contendo 2.955 Kcal/kg de EM suplementada com fitase (500 UFT/kg) e levando em consideração sua matriz nutricional (0,36% proteína bruta; 0,1% cálcio; 0,13% fósforo; 45 Kcal EM e 0,010% lisina digestível) para frangos de corte com 25 dias, Lelis et al. (2010) relataram melhora de 29,47% no coeficiente de metabolizabilidade ileal do P e de 39,42% na quantidade de fósforo retido em relação ao tratamento controle, ou seja, uma maior quantidade de P foi absorvida e enviada para a corrente sanguínea para ser prontamente utilizado, seja para deposição óssea ou para manutenção dos níveis plasmáticos.

Da mesma forma, frangos alimentados com níveis crescentes de fitase (0, 400, 800 e 1.200 FTU/kg) com dietas contendo farelo de arroz integral apresentaram aumento linear (3,60; 5,35; 6,46 e 7,32 mg/dL, respectivamente) de fósforo plasmático (Conte et al., 2002).

Somente aos 21 dias de idade e por meio do contraste C1, foi observado que o colesterol dos frangos alimentados com dietas reduzidas em 100 Kcal/kg de EM contendo fitase e xilanase, reduziu ($P < 0,05$) em 45,60 mg/dL em relação aos frangos alimentados com dietas contendo o mesmo nível de redução de EM e sem enzimas. Os níveis de colesterol encontrados nos diferentes tratamentos estão próximos da faixa de normalidade - 125 a 200 mg/dL de sangue (Kaneko et al., 2008; Santos et al., 2014).

Para a mesma idade, o nível de triglicerídeos aumentou ($P < 0,05$) no grupo das aves alimentadas com redução de EM, P, Ca e Na em relação ao grupo controle positivo (contraste C2). O maior consumo de energia pela ave foi na forma de carboidratos, possivelmente a redução do fornecimento de EM pode ter estimulado a síntese de ácidos graxos pelo fígado (Xavier et al., 2008), que são transportados pela corrente sanguínea sobre a forma de triglicerídeos para serem depositados no tecido adiposo após sofrerem hidrólise pela lipase lipoprotéica (Leeson e Summers, 2001) e serem reesterificados como triglicerídeos novamente (Ros, 2000).

Além disso, diferenças nas concentrações de triglicerídeos podem ser observadas ao avançar da idade da ave. Aves jovens necessitam de maior demanda energética para o crescimento e conseqüentemente maior utilização de triglicerídeos para liberação de ácidos graxos em relação à aves no período final de criação (Teixeira, 2015), o que numericamente foi observado nesse estudo.

A concentração de Ca não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos tratamentos avaliados em ambas as idades e considerada normal (5 a 10 mg/dL) para frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja (González et al., 2001; Minafra et al., 2010; Vieites et al., 2011, Santos et al., 2014).

CONCLUSÃO

A inclusão de fitase (500 FTU/kg) e xilanase (16.000 BXU/kg) em dietas com redução de EM em 150 Kcal/kg, 0,15% de P digestível, 0,165% de Ca e 0,035% de Na, não altera a morfometria e microbiota intestinal e o perfil bioquímico sérico de frangos de corte.

A redução de EM em 100 Kcal/kg e de 0,15% de P digestível, 0,165% de Ca e 0,035% de Na sem fitase e xilanase prejudica o perfil bioquímico sérico de frangos de corte.

REFERÊNCIAS

- BARRETO AR, ZANCAN LR, MENEZES CR. 2015. Obtenção de Xilooligossacarídeos por resíduos lignocelulósicos: alternativa para produção de compostos funcionais para alimentos. *Rev Elet Gestão educ Tecn Amb* 19: 821-836.
- BEÇAK W, PAULETE J. 1976. Técnicas de citologia e histologia. 1 ed. Rio de Janeiro: Ltc, 574p.
- BEDFORD MR, PARTRIDGE GG. 2010. Enzymes in farm animal nutrition. 2. ed. Cambridge: CABI, 329p.

BOLELI IC, MAIORKA A, MACARI M. 2008. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2. ed. Jaboticabal: Funep, p. 75-95.

BRAILSFORD SR, TREGASKIS RB, LEFTWICH HS, BEIGHTON D. 1999. The Predominant Actinomyces spp. Isolated from Infected Dentin of Active Root Caries Lesions. J Dent Res 78(9): 1525-1534.

CAIJ, HUANG S, ZENG S. 1997. Studies on Conversion Corncobs Into Xylo-oligosaccharides by Fungi. Weishengwuxue Tongbao 24: 91-94.

CARDOSO DM, MACIEL MP, PASSOS DP, SILVA FV, REIS ST, AIURA FS. 2011. Efeito do uso de complexo enzimático em rações para frangos de corte. Arch Zootec 60: 1053-1064.

CARRÉ, B. Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. 2004. Poult Sci. 60: 76-89.

CONTE AJ, TEIXEIRA AS, FIGUEIRÊDO AV, VITTI DMS, SILVA FILHO JC. 2002. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo do farelo de arroz em frangos de corte. Pesq Agrop Bras 37: 547-552.

COBB-VANTRESS. 2008. Guia de manejo para frangos de corte cobb 500. 70p.
COWIESON, A.J. 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. Anim Feed Sci Tech 119: 293-305.

COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. 2005. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. Poult Sci 84: 1860-1867.

COWIESON, AJ, BEDFORD MR, RAVINDRAN V, SELLE PH. 2011. Increased dietary sodium chloride concentrations reduce endogenous amino acid flow and influence the physiological response to the ingestion of phytic acid by broiler chickens. British Poultry Sci 52: 613-624.

DOMENEGHINI C, DI GIANCAMILLO A, ARRIG S, NOSI G. 2006. Gut-tropic feed additives and their effects upon the gut structure and intestinal metabolism. State of the art in the pig, and perspectives towards humans. Histology Histop 21: 273-283.

FERNANDES JIM, CONTINI JP, PROKOSKI K, GOTTARDO ET, CRISTO AB, PERINI R. 2017. Desempenho produtivo de frangos de corte e utilização de energia e nutrientes de dietas iniciais com milho classificado ou não e suplementadas com complexo enzimático. Arq Bras Med Vet Zootec 69: 181-190.

FIGUEROA-GORDON M, ACEVEDO AM, ALONSO G. 2009. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. Acta Odontol Venez 47: 227-240.

FORTES BDA, CAFÉ MB, STRINGHINI JH, BRITO JAG, REZENDE PLP, SILVA RD. 2012. Avaliação de programas nutricionais com a utilização de carboidrases e fitase em rações de frangos de corte. Cien Anim Bras 13: 24-32.

GAO F, JIANG Y, ZHOU GH, HAN ZK. 2008. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diet. *Anim Feed Sci Tech* 142: 173-84.

GHAYOUR-NAJAFABADI P, KHOSRAVINIA H, GHEISARI A. 2018. Productive performance, nutrient digestibility and intestinal morphometry in broiler chickens fed corn or wheat-based diets supplemented with bacterial- or fungal-originated xylanase. *Ital J Anim Sci* 17: 165-174.

GONZÁLEZ FHD, HAIDA KS, MAHL D, GIANNESI D, KRONBAUER G. 2001. Incidência de doenças metabólicas em frangos de corte no Sul do Brasil e uso do perfil bioquímico sanguíneo para o seu estudo. *Rev Bras Cienc Avic* 3: 141-147.

KANEKO JJ, HARVEY JW, BRUSS ML. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6. ed. California: Elsevier Inc., 918p.

KARIYAWASAM S, JOHNSON TJ, DEBROY C, NOLAN LK. 2006. Occurrence of Pathogenicity Island IAPEC-O1 Genes Among *Escherichia coli* Implicated in Avian Colibacillosis. *Avian Disease* 50:405–410.

KIARIE E, ROMERO LF, RAVINDRAN V. 2014. Growth performance, nutriente utilization, and digesta characteristics in broiler chickens fed corn or wheat diets without or with supplemental xylanase. *Poult Sci* 93: 1186-1196.

LAFOND M, TAUZIN A, DESSEAUX V, BONNIN E, AJANDOUZ H, GIARDINA T. 2011. GH10 xylanase D from *Penicillium funiculosum*: biochemical studies and xylooligosaccharide production. *Microb Cell Fact* 10:1-8.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. *Nutrition of the chicken*. 4.ed. Ontario: University Books, 2001. 413p.

LEITE PRSC, LEANDRO NSM, STRINGHINI JH, SOUZA ES, CAFÉ MB, CARVALHO FB, ANDRADE MA. 2012. Microbiota intestinal e desempenho de frangos alimentados com rações elaboradas com sorgo ou milho e complexo enzimático. *Arq Bras Med Vet Zootec* 64: 1673-1681.

LELIS GR, ALBINO LFT, SILVA CR, ROSTAGNO HS, GOMES PC, BORSATTO CG. 2010. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. *R Bras Zootec* 39: 1768-1773.

LESER TD and MØLBAK L. 2009. Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Environ. Microbiol.* 11: 2194-2206.

LIU N, RU Y, COWIESON A, LI FD, CHENG X. 2008. Effects of phytate and phytase on the performance and immune function of broilers fed nutritionally marginal diets. *Poult Sci* 87: 1105-1111.

LIU W, KIM I. 2016. Effects of dietary xylanase supplementation on performance and functional digestive parameters in broilers fed wheat-based diets. *Poult Sci* 0: 1-8.

MANANGI, MK, MAHARJAN P, COON CN. 2018. Effect of different concentrations of dietary P and Ca on plasma inorganic P and urinary P excretion using noncolostomized and colostomized broilers. *Poult Sci* 522-530.

MANNING TS; GIBSON GR. 2004. Microbial gut interactions in health and disease. Prebiotics. *Best Practice Res Clin Gast* 18: 287-298.

MASEY-O NEILL HV, SINGH M, COWIESON AJ. 2014. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility, volatile fatty acid production and digestive tract thermal profiles of broilers fed on wheat-or maize-based diet. *British Poultry Sci* 55: 351–359.

MINAFRA CS, MARQUES SFF, STRINGHINI JH, ULHOA CJ, REZENDE CSM, SANTOS JS, MORAES GHK. 2010. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. *Ver Bras Zootec* 39: 2691-2696.

MOE, S.M. 2008. Disorders involving calcium, phosphorus, and magnesium. *Prim Care Clin Office Pract* 35: 215-237.

NIAN F, GUO YM, RU YJ, LI FD, PÉRON A. 2011. Effect of Exogenous Xylanase Supplementation on the Performance, Net Energy and Gut Microflora of Broiler Chickens Fed Wheat-based Diets. *Asian-Aust. J. Anim. Sci* 24: 400-406.

OLIVEIRA WF, CARDOSO WM, MARQUES LCL, SALLES RPR, AGUIAR FILHO JLC, TEIXEIRA RSC, ROMÃO JM, LIMA ACP. 2004. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frangos de corte procedentes de explorações industriais do Estado do Ceará, Brasil. *Rev Port Cienc Vet* 99: 211-214.

OLUKOSI OA, COWIESON A.J, ADEOLA O. 2007. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. *Poult Sci* 86: 77-86.

PIRGOZLIEV V, ODUGUWA O, ACAMOVIC T, BEDFORD MR. 2007. Diets containing *Escherichia coli* – Derived phytase on young chickens and turkeys: effects on performance, metabolizable energy, endogenous secretions, and intestinal morphology. *Poult Sci* 86: 705-713.

PIRGOZLIEV V, ODUGUWA O, ACAMOVIC T, BEDFORD MR. 2008. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. *British Poultry Sci* 49: 144-154.

PRAXEDES CIS. 2012. Avaliação da sensibilidade de *Enterobacteriaceae* da microbiota intestinal de frangos de corte submetidos à dieta com nitrofuranos. Niterói: Universidade Federal Fluminense. 123f. Tese (Doutorado em Medicina veterinária) - Universidade Federal Fluminense, 2012.

PRAXEDES CIS, ZÚNIGA NOC, BASTOS PAMB, FRANCO RM, MANO SB. 2012. Identificação de *Enterobacteriaceae* da microbiota intestinal de frangos de corte submetidos a dieta com nitrofuranos. *Rev Bras Cienc Vet* 19: 46-49.

QIAN H, KORNEGAY ET, DENBOW DM. 1997. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. *Poult Sci* 76: 37-46.

RAHMAN A, PASHA TN, YOUNUS M. 2014. Effect of multi-enzymes supplementation on growth performance of broiler. *Pakistan J Zoology* 46:417-422.

RAVINDRAN V, CABAUG S, RAVINDRAN G, BRYDEN L. 1999. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. *Poult Sci* 78: 699-706.

ROS E. 2000. Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 151: 357–379.

ROSTAGNO HS, ALBINO LFT, DONZELE JL, GOMES PC, OLIVEIRA RF, LOPES DC, FERREIRA AS, BARRETO SLT, EUCLIDES RF. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais). 3ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235p.

ROSTAGNO HS, ALBINO LFT, HANNAS MI, DONZELE JL, SAKOMURA NK, PERAZZO FG, SARAIVA A, ABREU MLT, RODRIGUES PB, OLIVEIRA RT, BARRETO SLT, BRITO CO. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais). 4.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2017. 488p.

SANTOS FR, SANTANA RO, CARVALHO EA, COSTA NA, MINAFRA CS, OLIVEIRA PR. 2014. Desempenho e perfil sérico bioquímico de frangos de corte alimentados com rações contendo produtos homeopáticos. *Rev Bras Saúde Prod Anim* 15: 394-405.

SCHMIDT EMS, LOCATELLI-DITTRICH R, SANTIN E, PAULILLO AC. 2007. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade AVÍCOLA – REVISÃO. *Arch Vet Sci* 12: 9-20.

SCHRAMM VG, DURAU JF, BARRILLI LNE, SORBARA JOB, COWIESON AJ, FÉLIX AP, MAIORKA A. 2017. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. *Poult Sci* 96: 1204–1211.

SEGABINAZI SD, FLÔRES ML, BARCELOS AS, JACOBSEN G, ELTZ RD. 2005. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. *Acta Scie Vet* 33: 51- 55.

SHAKOURI MD, IJI PA, MIKKELSEN LL, COWIESON AJ. 2009. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. *J Animal Phys Animal Nut* 93:647-658.

TAVERNARI FC, CARVALHO TA, ASSIS AP, LIMA HJD. 2008. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. *Revista Eletr Nutri* 5: 673-689.

TEIRLYNCK E, BJERRUM L, EECKHAUT V, HUYGEBART G, PASMANS F, HAESBROUCK F, DEWULF J, DUCATELLE R, IMMEERSEEL FV. 2009. The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. *British J Nutr* 102: 1453-1461.

TEIXEIRA MPF. 2015. Níveis de energia metabolizável em rações para frangos de corte em ambiente de conforto térmico ou sob estresse por calor. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 111f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

VAN DER WIELEN PWJJ, KEUZENKAMP DA, PILMAN LJA, VAN KNAPEN F, BIESTERVELD S. 2002. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microb Ecol* 44: 286-293.

VAZ ACN, ALBUQUERQUE R, BRISOLA ML, DONATO DCZ, GARCIA PDSR. 2013. Parâmetros ósseos de frangos de corte alimentados com rações contendo fitase e baixos níveis de fósforo disponível e proteína bruta. *Arq Bras Med Vet Zootec* 65: 1831-1835.

VIEITES FM, FRAGA AL, MORAES GHK, VARGAS JÚNIOR JG, NALON RP, CORRÊA GSS, NUNES RV. 2011. Cálcio, fósforo e proteína total no sangue de frangos de corte em função de níveis de balanço eletrolítico da ração. *Arq Bras Med Vet Zootec* 63: 887-894.

XAVIER SAG, STRINGHINI JH, BRITO AB, ANDRADE MA, LEANDRO NSM, CAFÉ MB. 2008. Níveis de energia metabolizável em rações pré-iniciais para frangos de corte. *R Bras Zootec* 37: 109-115.

WANG ZR, QIAO SY, LU WQ, LI DF. 2005. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. *Poult Sci* 84: 875-881.

WINN-JÚNIOR W, ALLEN S, JANDA W, KONEMAN E, PROCOP G, SCHRECKENBERGER P, WOODS G. 2008. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1465p.

WOYENGO TA, KIARIE E, NYACHOTI CM. 2011. Growth performance, organ weights, and blood parameters of broilers fed diets containing expeller-extracted canola meal. *Poult Sci* 90: 2520-2527.

WU YB, RAVINDRAN V, THOMAS DG, BIRTLES MJ, HENDRIKS WH. 2004. Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *British Poultry Sci* 45: 76-84.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio desse estudo, foi possível evidenciar que a associação entre a fitase e a xilanase pode ser utilizada como ferramenta nutricional para restaurar o valor nutritivo das dietas ajustadas para o nível de EM, P, Ca e Na e melhorar a metabolizabilidade das dietas formuladas com milho e farelo de soja para frangos de corte.

Apesar da redução de 150 Kcal/kg de EM na dieta dos frangos ser considerada como desafiadora, a inclusão das enzimas nos níveis de 500 FTU/kg de fitase e 16.000 BXU/kg de xilanase desencadearam respostas interessantes com o aumento da metabolizabilidade dos nutrientes dietéticos sem alterar o desempenho, rendimento de carcaça e cortes, morfometria e saúde intestinal das aves.

Nesse sentido, novos estudos devem ser conduzidos para a avaliação de maiores reduções de EM em dietas para frangos de corte, associados ao mesmo nível de inclusão de fitase e xilanase utilizados nesse estudo, com a finalidade de estabelecer uma matriz nutricional para essa associação enzimática.