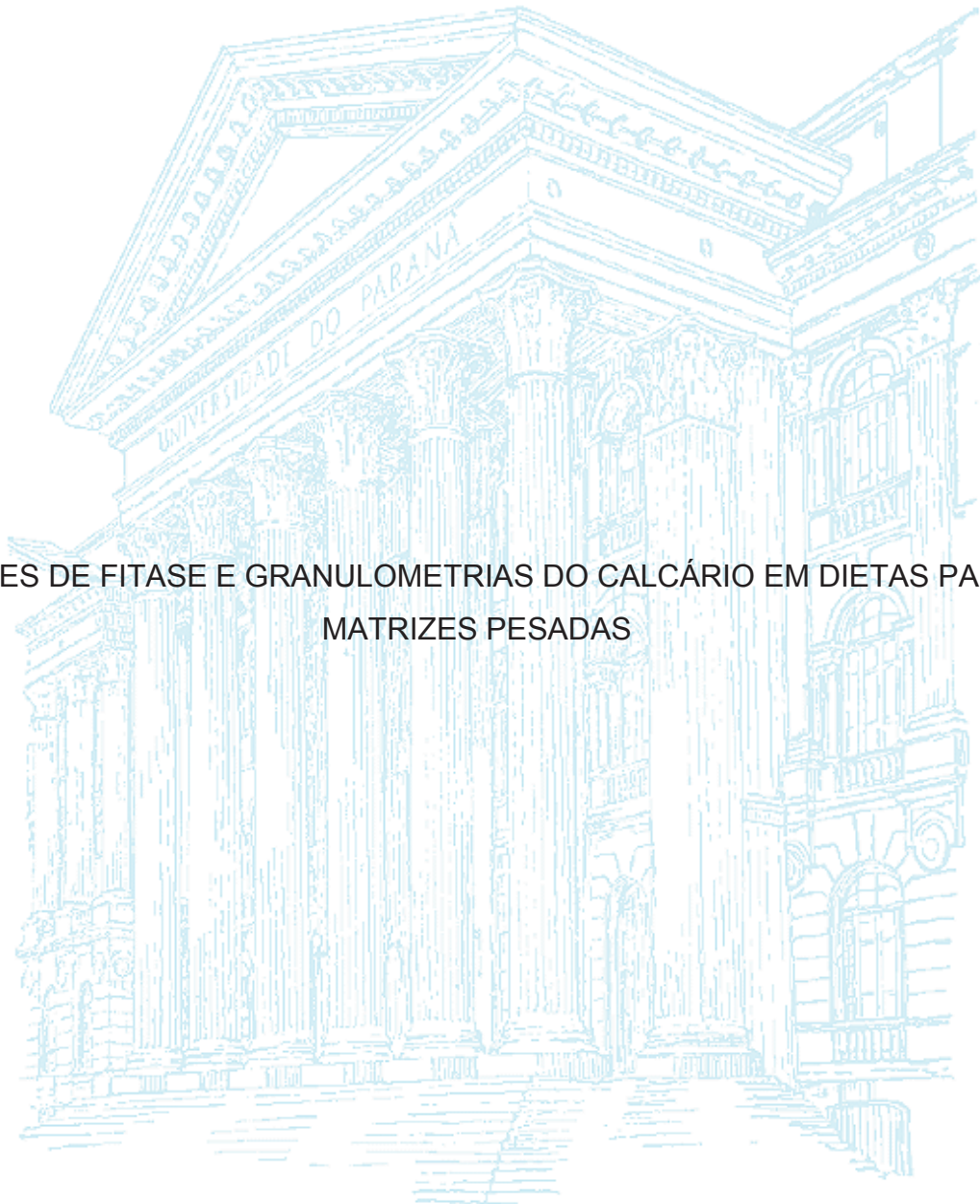


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JEAN FAGNER DURAU

DOSES DE FITASE E GRANULOMETRIAS DO CALCÁRIO EM DIETAS PARA
MATRIZES PESADAS



CURITIBA

2019

JEAN FAGNER DURAU

DOSES DE FITASE E GRANULOMETRIAS DO CALCÁRIO EM DIETAS PARA
MATRIZES PESADAS

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Doutor, na área de concentração de Nutrição e Produção Animal, no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

CURITIBA

2019

D952d

Durau, Jan Fagner

Doses de fitase e granulometrias do calcário em dietas para matrizes pesadas / Jan Fagner Durau. - Curitiba, 2019. 88 p.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Orientador: Alex Maiorka

1. Frangos de corte - produção. 2. Frangos de corte - alimentação e rações. 3. Cálcio na nutrição animal. 4. Ovos - qualidade. I. Maiorka, Alex (Orientador). II. Título. III. Universidade federal do Paraná.

CDU 636.5.084



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -
40001016082P0


TERMO DE APROVAÇÃO


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **JEAN FAGNER DURAU** intitulada: **Doses de fitase e granulometrias do calcário em dietas para matrizes pesadas**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

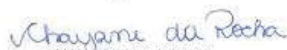
A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Fevereiro de 2019.


ALEX MAIORKA
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


EDSON GONÇALVES DE OLIVEIRA
Avaliador Externo (PE)


EVERTON LUIS KRABBE
Avaliador Externo (EMBRAPA)


CHAYANE DA ROCHA
Avaliador Interno (UFPR)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 093/2017, referente ao projeto “**Superdosing de fitase em dietas para matrizes pesadas contendo calcário em dois tamanhos de partícula**”, sob a responsabilidade de **Alex Maiorka** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 02/10/2017.

Vigência do projeto	Novembro/2017 até Agosto/2018
Espécie/Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> (ave) / Cobb 500
Número de animais	3096
Peso/Idade	Frangos: 45 g / 1 dia; matrizes: 3300 g / 217 dias
Sexo	Ambos (Frangos: 1152 machos e 1152 fêmeas; matrizes: 72 machos e 720 fêmeas)
Origem	Granja de matrizes BRF em Carambeí, Paraná

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 093/2017, regarding the project “**Phytase superdosing in diets for broiler breeders containing limestone in two particle sizes**” under **Alex Maiorka** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 10/02/2017.

Duration of the project	November/2017 until August/2018
Specie/Line	<i>Gallus gallus domesticus</i> (bird) / Cobb 500
Number of animals	3096
Wheight/Age	Broilers: 45 g / 1 day; broiler breeders: 3300 g / 217 days
Sex	Both (broilers: 1152 males and 1152 females; broiler breeders: 72 males and 720 females)
Origin	BRF broiler breeders farm in Carambei, Parana

Curitiba, 2 de outubro de 2017.

Chayane da Rocha

Coordenadora CEUA-SCA

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Vilson e Ana Lucia, pela educação e ajuda durante o período de estudos.

Ao meu irmão Jonathan e toda minha família.

A minha namorada Andréia, por todo apoio e companheirismo durante o tempo que estamos juntos, tanto na parte profissional quanto pessoal, tanto nos bons momentos como durante as dificuldades.

Aos pós-graduandos e graduandos do Laboratório de Estudos e Pesquisa em Produção e Nutrição de Animais Não-Ruminantes (LEPNAN).

Ao Professor Alex Maiorka pela orientação.

Ao Professor Edson Oliveira por todos os conselhos e ensinamentos transmitidos durante o período na Universidade.

Ao Professor Antônio João Scandolera, por toda convivência e apoio.

Aos colaboradores do Laboratório de Nutrição Animal e Fazenda Experimental do Canguiri, pelo auxílio na realização do experimento.

A todos que de alguma forma colaboraram na realização deste trabalho.

RESUMO

A produção de matrizes pesadas tem como objetivo o fornecimento de pintinhos de qualidade para a produção de frangos de corte. O ovo em boas condições para incubação está relacionado, além de outros fatores, também com a qualidade da casca, pois essa é a principal proteção do embrião contra o ambiente externo. Para matrizes pesadas o fornecimento de calcário com diferentes granulometrias na dieta, é realizado para melhorar a qualidade da casca do ovo, fornecendo cálcio para absorção de maneira mais uniforme durante todo o período de formação do ovo. Além da qualidade externa do ovo, a fertilidade é um dos pontos chave para matrizes pesadas. Ela possui influência direta na taxa de eclosão e número de pintinhos produzidos, tendo o macho grande importância para manter os índices reprodutivos adequados no plantel. A fitase exógena tem como principal função a liberação de cálcio e fósforo dos ingredientes vegetais para absorção durante o processo de digestão da ave. A inclusão de doses maiores dessa enzima na dieta, pode melhorar a digestibilidade de outros nutrientes e diminuir o efeito negativo do fitato no trato gastrointestinal, trazendo benefícios para as matrizes. Dessa forma, o objetivo geral desta tese foi tentar elucidar os motivos de como a granulometria do calcário e a inclusão de fitase em dietas para matrizes pesadas podem influenciar no desempenho produtivo, qualidade de ovos, variáveis de incubação e desempenho da progênie. Foram utilizadas matrizes pesadas de linhagem comercial de crescimento rápido, alojadas de 23 a 61 semanas de idade. Foi utilizado um delineamento em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de fitase (500 e 1500 FTU/kg) e duas granulometrias de calcário (fino com 419 e grosso com 2661 µm de DGM). Não ocorreu influência dos tratamentos na produção de ovos das fêmeas. A granulometria do calcário não alterou as variáveis de qualidade de ovos. No entanto, o resultado mais interessante foi quando houve a inclusão de maior de fitase na dieta para machos e fêmeas, melhorando assim a fertilidade e taxa de eclosão dos ovos. Porém, mesmo com a melhora na parte reprodutiva, o desempenho da progênie não foi alterado. A maioria dos estudos consultados demonstraram benefícios do uso de calcário grosso na qualidade de ovos, no entanto, o mesmo não ocorreu no presente estudo. Em grande parte dos trabalhos existe uma proporção de inclusão de calcário fino e grosso na dieta, normalmente metade de cada um, trazendo assim melhores resultados. Apenas a inclusão de calcário grosso na dieta não mostrou benefícios para a o desempenho produtivo e qualidade dos ovos, enquanto, a maior dose de fitase mostrou ser uma ferramenta promissora para melhorar os índices reprodutivos de matrizes pesadas.

Palavras-chave: cálcio, fertilidade, fitato, fósforo, inositol, taxa de eclosão

ABSTRACT

The production of broiler breeders is aimed at supplying quality chicks for the production of broilers. The egg in conditions for incubation is linked to the quality of the shell, as this is the main protection of the embryo against the external environment. The diet with limestone with different particle sizes is to improve egg shell quality of laying females, providing calcium for absorption in a more uniform way throughout the period of egg formation. In addition to the external quality of the egg, fertility is one of the key points for broiler breeders. It has a direct influence on hatch rate and number of chicks produced, with the male being very important to maintain adequate reproductive indexes in the flock. Exogenous phytase has the function to release the calcium and phosphorous for absorption. The inclusion of higher doses of this enzyme in the diet, also called superdosing, may improve the digestibility of other nutrients and decrease the negative effect of phytate in the gastrointestinal tract, bringing benefits to birds. The aim of this study was to evaluate the limestone particle size and phytase superdosing in diets for broiler breeders in the variables of production, egg quality, incubation and progeny performance. It were used broiler breeders of fast growing commercial lineage, housed from 23 to 61 weeks of age. It was used a 2 x 2 factorial design with two levels of phytase (500 and 1500 FTU / kg) and two limestone particle size (fine with 419 and coarse with 2661 μm of DGM). There was no influence of the treatments on the egg production of the females. The limestone particle size did not change egg quality variables. However, the most interesting result was the improvement in fertility and egg hatching rate, when included phytase superdosing in the diet for males and females. However, despite the improvement in the reproductive part, progeny performance was not influenced. Although the majority of the studies consulted showed benefits of the use of coarse limestone in egg quality, the same did not occur in the present study. In most of the studies there is a proportion of fine and coarse limestone inclusion in the diet, usually half of each, thus bringing better results. Only the inclusion of coarse limestone in the diet showed no benefit to egg quality. Phytase superdosing has been shown to be a promising tool to improve the reproductive indices of broiler breeders.

Keywords: calcium, fertility, hatching rate, inositol, phosphorus, phytate

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS E NÍVEIS NUTRICIONAIS CALCULADOS.....48

TABELA 2 - PORCENTAGEM DE POSTURA (PP), NÚMERO DE OVOS TOTAIS POR FÊMEA (OT) E VIABILIDADE (VIAB) DE MATRIZES NO PERÍODO DE 30 A 61 SEMANAS DE IDADE RECEBENDO DIETAS COM DOIS DGM DE CALCÁRIO (FINO 419 OU GROSSO 2661 μm) E DOSES DE FITASE (500 OU 1500 FTU/KG).....49

TABELA 3 - PORCENTAGEM DE OVOS APROVEITÁVEIS (A), QUEBRADOS (Q), TRINCADOS (T), DEFORMADOS (D), SEM CASCA (SC), CASCA FINA (CF) E SUJOS (S) DE MATRIZES NO PERÍODO DE 30 A 61 SEMANAS DE IDADE RECEBENDO DIETAS COM DOIS DGM DE CALCÁRIO (FINO 419 OU GROSSO 2661 μm) E DOSES DE FITASE (500 OU 1500 FTU/KG).....50

TABELA 4 - PESO DE OVO (PO), GEMA (PG), ALBÚMEN (PA), CASCA (PC) E DENSIDADE ESPECÍFICA (GE) DE OVOS DE MATRIZES DE 30 A 61 SEMANAS DE IDADE RECEBENDO DIETAS COM DOIS DGM DE CALCÁRIO (FINO 419 OU GROSSO 2661 μm) E DOSES DE FITASE (500 OU 1500 FTU/KG).....51

CAPÍTULO III

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS E NÍVEIS NUTRICIONAIS CALCULADOS.....63

TABELA 2 - PERDA DE PESO NA INCUBAÇÃO (PPI), PESO DE OVO (PO), PESO DE PINTINHO (PP), RELAÇÃO ENTRE PESO DE OVO E PINTINHO (RE), PESO DE FÍGADO (PF), TRATO GASTROINTESTINAL (PT) E GEMA (PG) DA INCUBAÇÃO DE OVOS DE MATRIZES PESADAS RECEBENDO DIETAS COM DOIS DGM DE CALCÁRIO (FINO 419 OU GROSSO 2661 μm) E DOSES DE FITASE (500 OU 1500 FTU/KG).....66

TABELA 3 - FERTILIDADE (FERT), TAXA DE ECLOSÃO (TE), ECLODIBILIDADE (ECLO) E MORTALIDADE PRECOCE (MP), MÉDIA (MM) E TARDIA (MT) DA INCUBAÇÃO DE OVOS DE MATRIZES PESADAS RECEBENDO DIETAS COM DOIS DGM DE CALCÁRIO (FINO 419 OU GROSSO 2661 μm) E DOSES DE FITASE (500 OU 1500 FTU/KG).....67

TABELA 4 - CONSUMO DE RAÇÃO (CR, G), GANHO DE PESO (GP, G) E TAXA DE CONVERSÃO ALIMENTAR (CA, G/G) DE PINTINHOS ADVINDOS DA INCUBAÇÃO DE OVOS DE MATRIZES PESADAS RECEBENDO DIETAS COM DOIS DGM DE CALCÁRIO (FINO 419 OU GROSSO 2661 μm) E DOSES DE FITASE (500 OU 1500 FTU/KG).....67

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

°C – graus Celsius
ANOVA - análise de variância
CA - conversão alimentar
CR - consumo de ração
CV - coeficiente de variação
d - dia
DGM - diâmetro geométrico médio
DPG - desvio padrão geométrico
EE - extrato etéreo
EMA - energia metabolizável aparente
FTU – unidade de atividade de fitase
h - hora
HCl - ácido clorídrico
g - grama
GP - ganho de peso
kcal - kilocaloria
kg - kilograma
m² - metro quadrado
mg - miligrama
ml - mililitro
mm - milímetro
NaCl - cloreto de sódio
P - probabilidade
pH - potencial hidrogeniônico
PB - proteína bruta
TGI - trato gastrintestinal
UI - unidade internacional
α - alfa
% - porcentagem
μm - micrometro

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 GRANULOMETRIA DO CALCÁRIO PARA MATRIZES PESADAS.....	16
2.1.1 CALCÁRIO COMO FONTE DE CÁLCIO.....	16
2.1.2 PARTICIPAÇÃO DO CÁLCIO NA QUALIDADE DA CASCA.....	20
2.2 FITASE E FITATO.....	22
2.2.1 INTERAÇÃO ENTRE FITASE E CÁLCIO.....	25
2.2.2 DOSES DE FITASE.....	28
2.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
CAPÍTULO II – FITASE E GRANULOMETRIA DO CALCÁRIO EM DIETAS PARA MATRIZES PESADAS SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E QUALIDADE DE OVOS.....	44
RESUMO.....	44
ABSTRACT.....	45
1. INTRODUÇÃO	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES	47
2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS	48
2.3 DESEMPENHO PRODUTIVO.....	49
2.4 QUALIDADE DE OVOS	50
2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
3. RESULTADOS.....	52
3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO.....	52
3.2 QUALIDADE DE OVOS.....	53
4. DISCUSSÃO.....	54
5. CONCLUSÕES.....	57
6. REFERÊNCIAS.....	57

CAPÍTULO III - FITASE E GRANULOMETRIA DO CALCÁRIO EM DIETAS PARA MATRIZES PESADAS SOBRE VARIÁVEIS DE INCUBAÇÃO E DESEMPENHO DA PROGÊNIE	60
RESUMO.....	60
ABSTRACT.....	61
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAL E MÉTODOS	63
2.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES.....	64
2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS DAS MATRIZES.....	65
2.3 VARIÁVEIS DE INCUBAÇÃO	66
2.4 DESEMPENHO DA PROGÊNIE	67
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	68
3. RESULTADOS.....	69
3.1 VARIÁVEIS DE INCUBAÇÃO	69
3.2 DESEMPENHO DA PROGÊNIE	70
4. DISCUSSÃO	71
5. CONCLUSÃO	74
6. REFERÊNCIAS.....	75
CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS.....	81

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Na produção de matrizes pesadas é essencial a qualidade da casca dos ovos férteis, objetivando reduzir a perda com o transporte até o incubatório, e durante o processo de incubação. Tendo condições de chegarem viáveis e resultarem em maior taxa de eclosão e pintinhos de qualidade.

A casca é a principal proteção do embrião, devendo ser suficientemente resistente desde a postura até o final da incubação (KUSSAKAWA et al., 1998). Ela é formada em sua maior parte por carbonato de cálcio (CaCO_3), demonstrando ser grande a necessidade diária desse nutriente para fêmeas em postura. O calcário é a fonte de cálcio (Ca) mais utilizada nas dietas para aves, possuindo diversas granulometrias, que possivelmente terão impacto na solubilidade do Ca (KIM et al., 2018) e na qualidade da casca de ovos (EKMAY e COON, 2010).

Existe uma perda natural do peso do ovo durante a incubação, basicamente sendo vapor de água e também de gás carbônico resultante do metabolismo do embrião. A partir dos 12 primeiros dias de incubação a espessura e porosidade da casca afetam esse processo, sendo essas características potencialmente influenciadas pela granulometria do calcário na dieta das fêmeas. Quando a moela retém as partículas da fonte de Ca por um período maior, tornará o Ca mais disponível durante a formação da casca (EKMAY e COON, 2011), o que irá contribuir com a melhor deposição de Ca na casca, possivelmente beneficiando a sua resistência. Porém, a retenção na moela para melhorar a qualidade, além da granulometria, pode depender de outros fatores, como porosidade da fonte de Ca e sobretudo da solubilidade *in vivo* (ZHANG e COON, 1997).

Devido a necessidade de inclusão de Ca na dieta de matrizes pesadas durante a fase de produção de ovos, em torno de 3%, essas quantidades podem modificar o pH, tornando o trato digestivo mais alcalino, reduzindo a ação da fitase. Essa enzima tem como função catalisar a quebra do complexo fitato, melhorando o aproveitamento do Ca e fósforo (P) das dietas, reduzindo a inclusão de calcários e fosfatos na formulação.

A fitase também aumenta o aproveitamento de outros nutrientes, incluindo aminoácidos (AA) e vários cátions como ferro, magnésio, potássio e manganês (KIARIE et al., 2015), sendo esses benefícios extra fosfóricos interessantes do ponto de vista nutricional. O uso de fitase pode reduzir os custos de alimentação, principalmente referentes a inclusão de P, e melhorar a eficiência da utilização de nutrientes em ingredientes de origem vegetal, resultando em benefícios econômicos e ambientais (DERSJANT-LI et al., 2014).

O uso de níveis mais elevados de fitase nas dietas de animais tem ganhado mais atenção, especialmente para as aves. Uma dose maior de fitase, pode melhorar a utilização de P e outros nutrientes em dietas fornecidas a frangos de corte (COWIENSON et al., 2016). O fitato é um potente fator anti-qualitativo e representa um obstáculo significativo nas dietas para aves (COWIESON e RAVINDRAN, 2007). A maior inclusão de fitase na dieta tem como objetivo maximizar a destruição do fitato, sendo a liberação do inositol depois da completa desfosforilação, um dos benefícios (WALK et al., 2014).

Segundo Skřivan et al. (2018) um grande problema das dietas para fêmeas em postura é a alta concentração de Ca, em torno de quatro vezes comparado a frangos de corte, possivelmente tendo efeitos negativos a ação da fitase. São limitadas as informações de produção de ovos para fêmeas em postura alimentadas com dietas contendo doses mais altas de fitase, embora a utilização de Ca e P em poedeiras seja mais importante do que em frangos de corte (KIM, 2017), considerando a complexidade de formação dos ovos.

Considerando a qualidade da casca, índices reprodutivos e a produção de pintinhos viáveis, são importantes pesquisas relacionadas a influência da granulometria do calcário e da inclusão de fitase em dietas para matrizes pesadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Granulometria do calcário para matrizes pesadas

2.1.1 Calcário como fonte de cálcio

O Ca é o mineral utilizado com a maior inclusão nas dietas para aves de corte e postura, tendo papel fundamental na formação do sistema esquelético e na composição da casca do ovo.

Em torno de 99% do Ca do organismo está depositado no sistema ósseo, no entanto, além de função estrutural, possui relevância em vários processos bioquímicos-fisiológicos, especialmente relacionado à transferência de informação entre neurônios, diferenciação celular e secreção hormonal (HURWITZ et al., 1987). A nutrição óssea desbalanceada durante a fase de crescimento terá como consequência um desenvolvimento ósseo inadequado da ave (ALVES et al., 2002) e pode ter efeito na produção de carne e ovos.

Para aves de postura, além da calcificação dos ossos, a formação da casca do ovo também tem importante relação com o Ca. A casca é formada por 98% de carbonato de Ca, dos quais 60% são constituídos por CaCO_3 e 38% por Ca (ETCHES, 1998), demonstrando ser necessária uma grande quantidade de Ca para a formação do ovo. O apetite específico dos animais pelo Ca se deve basicamente para manter a homeostase na corrente sanguínea (LOBAUGH et al., 1981). O organismo promove a manutenção de uma concentração adequada de Ca nos fluidos do corpo, utilizando processos destrutivos como reabsorção óssea, sendo os ossos o reservatório desse mineral (HURWITZ et al., 1987). O ossos são um importante sistema de fornecimento de Ca para a formação da casca do ovo.

O Ca é um nutriente essencial, tornando-se necessário para as aves seu fornecimento via dieta. Os ingredientes de maior participação nas fórmulas normalmente utilizadas nas agroindústrias brasileiras, milho e farelo de soja, possuem pouca quantidade de Ca. O milho (7,8%) e o farelo de soja (45%) possuem 0,02% e 0,34% de Ca total, respectivamente (ROSTAGNO et al., 2017). Os ingredientes vegetais são incapazes em fornecer a quantidade necessária de Ca

para o melhor desempenho em cada situação, tornado necessária a inclusão de outras fontes desse mineral na dieta.

Existem diferentes fontes de Ca que são utilizadas na nutrição animal. As mais utilizadas podem ser advindas do mar (farinha de ostra, casca de carangueijo) ou extraído de minas no solo (calcários), que são passíveis de utilização nas dietas de aves em postura. Porém, essas fontes apresentam diferenças em relação a solubilidade de Ca para granulometria e origem desse ingrediente (SAFAMER et al., 2013).

Algumas fontes de Ca inorgânico utilizadas são o calcário calcítico (37,7%), dolomítico (18,6%), carbonato de Ca (40,0%) e a farinha de ostras (36,4%) (ROSTAGNO et al., 2017). O calcário é a fonte de Ca predominante para aves em todo o mundo, podendo ter diferentes tamanhos de partícula que irão impactar na solubilidade do Ca (KIM et al., 2018). Além do tamanho da partícula, a solubilidade do Ca para fêmeas em postura também é influenciada por fatores como fonte, tempo de retenção na moela e interação com outros ingredientes (AJAKAIYE et al., 1997).

Dentre os fatores que interferem na absorção destaca-se a solubilidade de cada substância, pode ser definida como sendo a quantidade máxima que um solvente consegue dissolver um soluto. Já, o coeficiente de solubilidade de um soluto é a quantidade máxima em que ele se dissolve em 100 mL de água a 25 °C. (MACARI E MAIORKA, 2017). A solubilidade é afetada pelas condições fisiológicas no intestino, especialmente pelo pH (HAMDI et al., 2015). Altos níveis de cálcio na dieta aumenta o pH da digesta e podem afetar negativamente a absorção do fósforo e de outros minerais (MANANGI e COON, 2008).

As poedeiras solubilizam menores quantidade de Ca conforme o nível de Ca na dieta aumenta, e solubilizam maior porcentagem de Ca de partículas grossas. Esse fato aparentemente está relacionado ao maior tempo de retenção de partículas grossas na moela (RAO e ROLAND, 1989). Em trabalho de Safamer et al. (2013) é descrito uma menor solubilidade *in vitro* de uma fonte de Ca com partículas grossas, classificadas como fina (<500 µm), média (>1000 até <1410 µm) e grossa (>1410 até <2830 µm), porém, o autor desse estudo ressalta que no trato gastrointestinal a solubilidade pode ocorrer de forma diferente.

Segundo Anwar et al. (2017), partículas grossas de calcário aumentam a quantidade de Ca na moela, e essa maior concentração tem correlação com aumento de retenção e digestibilidade desse mineral. Em trabalho de Saunders-Blades et al. (2009), houve melhora na qualidade óssea quando fornecido calcário com DGM (Diâmetro geométrico médio) entre 500 a 4000 μm , reduzindo a incidência de problemas ósseos causados pela alta demanda de Ca pelas fêmeas, podendo ser um indicativo para melhora do bem-estar das aves.

O Ca disponível da fonte menos solúvel, normalmente com maior tamanho de partícula, pode ser absorvido melhor devido à sua liberação de Ca mais lenta. O Ca de partículas grossas ($> 800 \mu\text{m}$) pode passar pelo trato mais lentamente, e devido à maior retenção na moela, permite que o calcário permaneça em um ambiente ácido por um período mais longo (ZHANG e COON, 1997). A acidez aumenta a oportunidade de dissociar o carbonato de cálcio em Ca iônico, resultando em mais mineral disponível para absorção (GUINOTTE et al., 1995).

O metabolismo do Ca envolve vários hormônios: estrógeno, paratormônio, calcitonina e 1,25-diidroxicolecalciferol (1,25 (OH)₂-D₃). O estrógeno promove a deposição do Ca no osso, enquanto o paratormônio é responsável pela reabsorção de Ca do sistema ósseo. A calcitonina provoca a inibição da reabsorção óssea e a 1,25 (OH)₂-D₃ estimula a absorção de Ca pelo intestino. Para a formação da casca há a necessidade de um suprimento adequado de íons Ca no útero e a presença de íons carbonato em seu fluido, em quantidades suficientes para formar o CaCO₃. O suprimento de Ca vem do do alimento e o íon carbonato é advindo do dióxido de carbono produzido pelo metabolismo da ave (MACARI e MENDES, 2005)

Em aves no período de postura, a disponibilidade do Ca para formação da casca serve como um parâmetro de controle para Ca urinário e padrões de excreção de P. A excreção aumenta ou diminui quando o Ca do osso deve ser solubilizado para apoiar a calcificação da casca do ovo. No entanto, a excreção de Ca aumenta e de P diminui quando a ingestão dietética de Ca excede a taxa de utilização pela glândulas formadoras de casca (WIDEMAN, 1987). A relação do Ca com o P na alimentação das aves, é uma variável que afeta a deposição de minerais no esqueleto (AL-MASRI, 1995).

O uso de um DGM mais grosso da fonte de Ca na dieta pode ser benéfico, pois o Ca será solubilizado mais lentamente no trato gastrointestinal, possivelmente interferindo menos com a absorção de outros minerais e beneficiando a formação da casca. A absorção intestinal de P diminui com o aumento de Ca na dieta (HURWITZ e BAR, 1969) e segundo Lonnerdal (2000) o Ca pode se ligar ao zinco (Zn) e tornar esse mineral insolúvel, além de causar antagonismo durante a absorção de outros minerais (SELLE et al., 2009).

Em trabalho de Hurwitz e Bar (1971) observaram-se resultados em que houve maior absorção de Ca na dieta de baixa inclusão de fosfato. A associação química no lúmen intestinal seria mais relevante para a interação entre Ca e P, em comparação a competição com o local de absorção, sendo que esse efeito associativo ocorreria principalmente no duodeno (HURWITZ e BAR, 1969).

Outro fator que pode ser influenciado pelo tamanho de partícula do calcário é a composição da tibia, principalmente pelos níveis de Ca na dieta e a solubilidade. No entanto, deve ser considerado que a idade da ave pode alterar sua capacidade de balanço de minerais no organismo (PELICIA et al., 2009). Em matrizes é comum usar duas ou mais dietas na fase de produção, de forma geral, quanto mais velha é a fêmea maior é a quantidade de Ca necessário pela ave. A formulação da dieta é realizada de maneira a fornecer a quantidade ideal de Ca, sem ocorrer deficiências que afetem a postura ou qualidade dos ovos.

A primeira resposta a uma redução na ingestão ou disponibilidade de Ca é uma redução imediata na quantidade de casca que é depositada em cada ovo. Em curto prazo há uma diminuição acentuada no número de ovos produzidos e mantendo esse declínio por várias semanas, o nível de produção será reduzido proporcionalmente ao Ca disponível na dieta (GILBERT, 1983). É importante monitorar além da produção diária, também o peso e a incidência de ovos fora do padrão de incubação, como quebrados, trincados, deformados, com casca fina e sem casca.

2.1.2 Participação do cálcio na qualidade da casca

A qualidade da casca é uma das variáveis mais importantes para a integridade do ovo. Entre as funções, estão a proteção do embrião contra efeitos ambientais, a regulação da troca de dióxido de carbono (CO_2), oxigênio (O_2) e água e o fornecimento de Ca para o desenvolvimento embrionário (NARUSHIN e ROMANOV, 2002). Ela é influenciada por fatores internos e externos, incluindo genótipo, idade, horário de postura, sistema de alojamento e também pelo fornecimento adequado de Ca, P e outros minerais de menor inclusão na dieta (KETTA e TUMOVÁ, 2016).

O fornecimento de calcário com um tamanho de partícula grossa, normalmente acima de 2000 μm , está relacionado à manutenção da qualidade da casca dos ovos. A melhora da qualidade pode ser resultado do aumento da massa da casca ou por uma mudança da ultra-construção da casca, sendo o mais provável, por ambas situações ocorrendo concomitante (GUO e KIM, 2012).

Segundo Molnár et al. (2017), a melhor opção para beneficiar a qualidade da casca seria fornecer dois calcários com tamanho de partícula diferentes para as fêmeas, pela manhã (antes de acender a iluminação) o fino (250 μm), disponibilizando Ca para finalizar a calcificação, enquanto a tarde o grosso (2050 μm), auxiliando a formação da casca durante a noite. A mistura de calcários com dois tamanhos de partícula pode ser mais eficiente comparado apenas à fonte grossa, e tanto a mistura como apenas a fonte grossa na dieta trazem mais benefícios que apenas a fonte fina para poedeiras (GUO e KIM, 2012).

Em trabalho de Ekmay e Coon (2010) o fornecimento de calcário grosso (3489 μm) em comparação ao fino (185 μm) resultou em maior teor de cinza na tíbia de poedeiras e gravidade específica (GE) dos ovos, não havendo melhora no desempenho produtivo. Resultado semelhante foi descrito no estudo de Guo e Kim (2012), no qual a produção de ovos não foi afetada em poedeiras, porém o calcário de tamanho de partícula maior (moído para passar em peneira de 4750 μm) aumentou o peso de ovo (PO), GE e espessura da casca. Em trabalho de Ekmay e Coon (2011) realizado com matrizes pesadas, o calcário grosso (3489 vs 185 μm) fornecido na dieta resultou em maior PO, mas não melhorou qualidade da casca,

resistência da tíbia, retenção de Ca e número de ovos por ave alojada. Por outro lado, Bueno et al. (2016) observaram que o fornecimento de calcário de diferentes DGM (200, 1000, 2000 e 3000 μm) não influenciou a porcentagem de postura e incidência de ovos trincados ou quebrados, PO e GE de ovos de matrizes pesadas de 74 a 83 semanas pós muda.

A substituição de 25 a 50% do calcário fino (200 a 600 μm) por grosso (1000 a 1400 μm) não mostrou benefícios nas características da tíbia, fêmur e retenção de Ca em estudo de Swiatkiewicz et al. (2015), apesar que os autores ressaltam que são resultados inconsistentes comparado a outros trabalhos consultados. Enquanto que Wang et al. (2014), concluíram que calcário de tamanho de partícula grossa (1180 a 2000 μm) é melhor como fonte de Ca para marrecas em produção de ovos. Saafa et al. (2008) observaram uma influência benéfica da suplementação dietética com calcário grosso (3360 vs 337 μm) na densidade da casca do ovo, no entanto, nem o peso, espessura da casca e porcentagem de ovos quebrados e sem casca foram afetados.

A granulometria da fonte de Ca é importante para a produção de ovos, todavia, pode influenciar também o desenvolvimento do pintinho por meio de alteração da casca. A disponibilidade do Ca, devido o tamanho de partícula do calcário, poderia alterar a porosidade e permeabilidade da casca, influenciando troca gasosa entre o embrião e o ambiente. Esses fatores mencionados têm grande influência no desenvolvimento embrionário e qualidade dos pintinhos (NARUSHIN e ROMANOV, 2002).

A casca do ovo tem que ser grossa e forte o suficiente para proteger o embrião de adversidades externas, mas também, suficientemente fina e frágil para não atuar como uma barreira completa no processo de incubação. Além disso, embora a casca deva ter poros suficientes para permitir a passagem de O_2 para o embrião, a alta concentração de poros não deve permitir que microrganismos patogênicos penetrem no ovo (NARUSHIN e ROMANOV, 2002).

Grandes perdas de peso dos ovos podem causar desidratação e alta mortalidade inicial durante a incubação, no entanto, perdas pequenas podem promover aumento na mortalidade tardia, devido aos embriões não serem capazes de inflarem seus pulmões devido ao acúmulo de água (SANTOS et al., 2009). Até o

18º dia de incubação a perda ideal de peso deve estar próximo a 12% (COBB-VANTRESS, 2013). No entanto, de acordo com Zakaria et al. (2009) a perda de peso é maior em ovos de matrizes mais velhas (67 semanas) comparado as mais jovens (42 semanas), sendo, talvez, uma indicação de perda na qualidade da casca conforme a idade das fêmeas.

Dois terços da fonte de Ca devem ser fornecidos na forma de partículas grossas, principalmente no período final de postura, para garantir uma boa qualidade da casca de ovo. Porém, maior retenção de Ca pela ave ou concentração na dieta, não significa necessariamente melhor qualidade da casca (LICHOVNIKOVA, 2007).

2.2 Fitase e fitato

O fósforo (P) é um nutriente essencial, e junto com o Ca, são os minerais que possuem as maiores participações em dietas para frangos de corte, poedeiras e matrizes.

Em ingredientes de origem vegetal cerca de 60% do P faz parte da molécula denominada fitato, que possui uma baixa disponibilidade para animais não ruminantes como aves e suínos (BROZ et al., 1994). A eficiência na utilização de P é baixa, em torno de 40%, contribuindo com possíveis problemas ambientais (KEBREAB et al., 2012), como a excreção de P no meio ambiente.

O fitato também é denominado como ácido fítico (mio-inositol hexafosfato - IP6), ocorrendo naturalmente nas plantas e serve como reserva de P. O principal sitio de deposição de fitato são os grãos, os principais ingredientes da indústria avícola (TAMIM et al., 2004).

O milho, o ingrediente com maior inclusão nas dietas utilizadas no Brasil, possui 0,24 % de P total (Pt), sendo 0,18 % de P fítico (Pf) e 0,06 % de P disponível (Pd), enquanto o farelo de soja (45%) possui 0,55 % de Pt, 0,36 % de Pf e 0,19 % de Pd (Rostagno et al., 2017). Para compensar um nível limitado de Pd a partir de ingredientes vegetais, fosfatos inorgânicos (fosfato bicálcico e monocálcico) são normalmente incluídos nas dietas para aves de corte e postura (BROZ et al., 1994).

A fitase aumenta a disponibilidade de P e reduz a necessidade de suplementação de fosfatos inorgânicos na dieta. Em torno de 50% de aumento na digestibilidade de P fítico pode ser esperada com a inclusão correta de fitase na

dieta de não ruminantes, sendo o fitato convertido em esteres menores de inositol (IP5, IP4, IP3, IP2 e IP1) ou P livre (KEBREAB et al., 2012).

As fitases são capazes de hidrolisar um ou mais grupos fosfato da molécula do ácido fitico, originando fosfatos de mio-inositol, inositol e P inorgânico (TAMIM et al., 2004). A suplementação da fitase na dieta dos animais foi estudada inicialmente devido à preocupações ambientais sobre fosfatos nos resíduos produzidos pelos animais (BROZ et al., 1994). Na formulação de dietas buscando o fornecimento ideal de P para as aves, deve ser considerado tanto a relação econômica como a ambiental (DERSJANT-LI et al., 2014; SUMMERS, 1997).

A utilização de fitase aumenta a disponibilidade P contido nos ingredientes vegetais, diminui a inclusão de fosfatos de rocha na dieta e conseqüentemente reduz a eliminação de P nas excretas das aves. Segundo Tamim et al. (2004), seria possível diminuir a quantidades de P inorgânico incluídos nas dietas sem reduzir o desempenho das aves, resultando em menores custos da ração, níveis inferiores de excreção de P e diminuição do impacto ambiental. É descrito por Broz et al. (1994), que dependendo das condições, a suplementação com fitase em dietas de frangos de corte permitiria a redução ou mesmo ausência de fontes de fosfatos inorgânicos. Segundo Berry et al. (2003), a inclusão de 300 FTU/kg de fitase na dieta de matrizes com 0,1% de P disponível é suficiente para manter o nível de produção de ovos.

A fitase já está bem estabelecida como ferramenta para disponibilizar Ca e P presentes nos ingredientes vegetais da dieta, diminuindo a inclusão de calcários e fosfatos na formulação. Em frangos de corte, a utilização de fitase hidrolisando o fitato e reduzindo os efeitos anti qualitativos melhoram o desempenho, principalmente em dietas com níveis deficientes de P (SANTOS et al., 2013).

O fitato é um componente natural dos ingredientes vegetais, sendo um potente fator anti-qualitativo e representando um obstáculo significativo nas dietas para aves (COWIESON e RAVINDRAN, 2007). O desempenho das aves sofre interferência do fitato, reduzindo a digestibilidade dos aminoácidos (AA), a absorção de minerais e aumentando as perdas endógenas da mucosa do trato gastrointestinal.

É sugerido por Santos et al. (2013) que o desempenho no crescimento do frango moderno está deprimido devido ao fitato. Segundo Selle e Ravindran (2007) é

devido ao tempo de trânsito e limitações de pH do trato gastrointestinal das aves, as principais causas que não permitem a completa desfosforilação do ácido fítico a mio-inositol e porções de P inorgânico.

A hidrólise de fitato e, conseqüentemente, a redução dos efeitos anti-qualitativos, pode melhorar o desempenho das aves particularmente a eficiência alimentar, principalmente pelo fator de eliminação dos efeitos anti-qualitativos do fitato (SANTOS et al., 2013). Segundo Ravindran et al. (2000), a complexação de fitato e proteína é de grande impacto na nutrição de frangos de corte e pode ser reduzido com a utilização de fitase, melhorando a digestibilidade protéica. O alto teor de Ca na dieta pode influenciar o pH gastrointestinal e reduzir diretamente a digestão da proteína através da redução da eficácia da pepsina ou indiretamente influenciar a precipitação do fitato-Ca (WALK et al., 2012).

Os autores Cowieson e Ravindran (2007), descrevem que o fluxo de nitrogênio e AA endógenos é marcadamente aumentado com a ingestão de Pf, conseqüentemente a renovação celular é maior, porém, a presença de fitase exógena é eficaz na redução desses efeitos sobre a mucosa intestinal. Esses mesmos autores encontraram que a inclusão de fitase melhorou a digestibilidade ileal aparente de AA, sendo atribuído parte desse resultado a redução nas perdas endógenas da mucosa.

Em revisão realizada por Khan et al. (2013), é descrito que a suplementação de fitase tem efeitos positivos sobre o desempenho, eficiência alimentar, digestibilidade de proteína/AA, utilização da energia, retenção mineral e crescimento ósseo de frangos de corte. Ravindran et al. (2000) encontraram resultados de aumento do coeficiente de digestibilidade de P, nitrogênio e AA de frangos alimentados com dietas com inclusão de fitase.

Em trabalho de Ravindran et al. (2001), adição de fitase em uma dieta deficiente em lisina melhorou significativamente não só a digestibilidade ileal de lisina, mas também de outros AA. A adição de fitase melhorou a digestibilidade de todos os AA avaliados em trabalho realizado por Amerah et al. (2014), indicando forte correlação entre digestibilidade dos AA e o grau de degradação do fitato.

2.2.1 Interação entre fitase e cálcio

Altos níveis de Ca na dieta podem prejudicar o benefício da fitase, diminuindo a degradação do fitato no trato digestivo (SOMMERFELD et al., 2018^A). Para a ação da fitase um dos principais problemas nas dietas de fêmeas em postura é a alta quantidade de Ca, em torno de quatro vezes maior comparado a dieta de frangos, prejudicando a atuação da enzima (SKŘIVAN et al., 2018).

A ação da fitase também pode variar dependendo da concentração de Ca e P da dieta. Em trabalho de Mutucumarana et al. (2014), é sugerido que em dietas deficientes em Ca e P, é provável ocorrer a superestimação da digestibilidade de P. Quanto maior a deficiência da ave para P, mais proeminente será a ação da fitase (DRIVER et al., 2005). Em trabalho de Kim et al. (2018) a adição de 1000 FTU/kg de fitase na dieta de frangos de corte, melhorou a digestibilidade do P apenas quando foi usado a fonte de calcário com DGM de 402 μm , comparado a fonte com menos de 75 μm .

A quantidade ótima de fitase microbiana para adicionar a uma dieta para aves vai depender da resposta e custo da enzima, e também do preço da fonte de P (KORNEGAY et al., 1996). A resposta de fitase é influenciada pelo nível de inclusão e a liberação de P por unidade de enzima, e diminui à medida que aumenta a quantidade de fitase na dieta. Uma unidade de fitase é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μmol de P inorgânico/min de uma fonte de fitato de sódio a 37°C (WALK et al., 2012).

A eficácia da fitase microbiana para melhorar a utilização do fósforo fítico (Pf) e Ca por frangos de corte é influenciada pela relação Ca e P, além do nível de vitamina (Vit) D na dieta. A inclusão da fitase pode melhorar o ganho de peso, consumo de ração, teor de cinza, retenção de Ca e P de frangos de corte, porém estas melhorias são influenciados negativamente por uma alta relação Ca e P. Altos níveis de Vit D adicionados às dietas resultam em aumento da retenção de Ca e P, sendo independente de fitase (QIAN et al., 1997).

A suplementação de fitase pode ser eficaz para compensar, pelo menos, alguns dos efeitos negativos da redução do nível de P alimentar, no entanto, deve-se tomar cuidado ao impor valores de equivalência P rígidas para uma fitase

(KARIMI et al., 2011). Essa enzima tem um papel importante no desenvolvimento de uma nova compreensão da nutrição mineral. É importante que a fonte de P e níveis de Ca, P, fitase e micro minerais sejam considerados em conjunto com um nível confiável de Vit D (ATIA et al., 2000).

A dose máxima eficaz de fitase difere em dietas variando em teor de fitato, fósforo não fitico, Ca ou relação Ca:P. A capacidade de tamponamento da dieta pode influenciar a eficácia da fitase e taxas de solubilização de Ca, alterando o tempo de retenção gástrica (KARIMI et al., 2013). Em trabalho de Amerah et al. (2014) aumentando a relação Ca e P (1,43, 2,14, 2,86 e 3,57) em dietas para frangos, aumentou linearmente o pH da moela. Segundo Walk et al. (2012), tanto o fitato como o Ca tem influência no pH gastrointestinal, e essas relações podem afetar a atuação da fitase exógena.

O tempo de trânsito e as limitações de pH do trato digestivo das aves não permite a completa desfosforilação do fitato para mio-inositol e P livres (SELLE e RAVINDRAN, 2007). A fitase pode eficientemente degradar o fitato (IP6) em esterres menores e aumentar a disponibilidade do P, porém, a eficácia pode ser afetada pelas concentrações de Ca e P dietético (LI et al., 2017).

Altos níveis de Ca podem prejudicar o benefício da fitase, diminuindo a degradação do fitato no trato digestivo (SOMMERFELD et al., 2018^B). O fitato pode se ligar com o cátion Ca^{2+} no intestino delgado, reduzindo a solubilidade e o acesso da enzima a esse substrato, normalmente quando o pH é maior que 5 (DERSJANTLI et al., 2014). O pH da moela e ileal podem ser influenciados pelo Ca, indicando que o calcário da dieta pode atuar como um antiácido na moela e também nas porções distais do íleo (WALK et al., 2012). Devido a quantidade de Ca na dieta de matrizes em produção, essa interferência no pH se torna muito maior comparado a frangos de corte.

Em trabalho de Kim et al. (2017) a inclusão de 20.000 FTU/kg de fitase em dietas pode restaurar o equilíbrio entre Ca e P disponível, aumentando a utilização de P, levando a uma melhoria na taxa de produção de ovos. No entanto, a inclusão de 10.000 ou 30.000 FTU/kg de fitase em dietas não induziria o equilíbrio ideal de Ca e Pd para poedeiras, possivelmente sendo influenciado pela quantidade de Ca na dieta. Em trabalho de Nusairat et al. (2017), uma dose de 1200 FTU/Kg de fitase

não alterou a produção de ovos, peso de ovo e casca de matrizes de 28 a 43 semanas de idade.

A possibilidade de elevadas inclusões de fitase devem considerar os ajustes nos níveis de Ca e P e a relação entre eles. Um fator importante é que a avaliação *in vitro* sugere que o fitato se liga a cinco átomos de Ca, porém, isso pode não ser totalmente aplicado durante a passagem no intestino de aves, onde cátions com grande afinidade com o fitato também estão presentes. Para facilitar a ação da fitase, o mínimo de Ca deve ser incluído na dieta, sem comprometer a integridade óssea e desempenho (SELLE et al., 2009).

A ação da fitase no trato gastrointestinal é muito complexa, e vai além de simplesmente liberação de P. A suplementação de 350 FTU/Kg de fitase em dietas com baixo P aumentou a digestibilidade de minerais e causou uma mudança na microbiota do trato gastrointestinal de poedeiras (ENGLMAIEROVÁ et al., 2015; PTAK et al., 2015). Segundo Cowieson et al. (2016) um aumento no consumo de água por aves que receberam suplementação de fitase na dieta, pode estar ligada a mudanças na retenção e balanço de íons minerais, afetando o equilíbrio osmótico dentro do trato gastrointestinal.

A fitase tem efeito na reabsorção de sódio (Na) no intestino delgado, e pode ter uma ação relevante na absorção de glicose, aumentando a disponibilidade do Na para co-transporte de nutrientes pela bomba de Na (TRUONG et al., 2017). A degradação do fitato é influenciada pela localização nos grãos (milho, trigo e sorgo), sendo que a relativa baixa concentração de Na em dietas baseadas em milho, pode contribuir para respostas mais robustas da fitase (1000 FTU/Kg), obtendo maior degradação do fitato no íleo terminal de frangos (TRUONG et al., 2014).

Segundo Nusairat et al. (2017) a inclusão de 1200 FTU/Kg de fitase na dieta de matrizes pesadas aumentou a porção líquida das excretas, podendo influenciar negativamente a limpeza dos ovos para incubação e qualidade dos pintinhos. Esse mesmo autor comenta que é importante uma melhor compreensão da atividade da fitase *in vivo*, usando doses que maximizem a utilização de nutrientes sem aumentar a porção líquida das excretas.

Em trabalho de Dersjant-Li et al. (2014) é descrito que o método para a medição da atividade da fitase é feito em pH 5,5, o que não representa o pH do trato

digestivo onde essa enzima deveria ter a maior atuação. Esse mesmo autor descreve que seria importante desenvolver um novo método, simulando o pH do estômago de aves. Também é mencionado que a medição de atividade é utilizando o fitato de sódio como substrato, sendo que o fitato na dieta é advindo de diferentes ingredientes vegetais, sugerindo o uso nas análises de uma fonte natural, como o fitato da soja.

2.2.2 Doses de fitase

A maior inclusão de fitase na dieta tem como objetivo maximizar os benefícios da enzima. A maior desfosforilação do fitato ocasiona vários aspectos positivos, como maior liberação do inositol, além de disponibilizar mais P e melhorar a digestibilidade de outros nutrientes (SOMMERFELD et al., 2018^A; WALK et al., 2014), incluindo AA, nitrogênio (N) e minerais (KIARIE et al., 2015).

O fluxo de perdas endógenas de N e AA é elevada com a ingestão de fitato, mas, a presença de fitase é eficiente na redução desses efeitos adversos na mucosa (COWIESON e RAVINDRAN, 2007). Altas doses de fitase hidrolisam o fitato, que pode ser acidogênico, levando o pH gástrico mais próximo do pH ideal de ação da pepsina, melhorando a sua eficácia, reduzindo a pepsina endógena secretada e melhorando a digestibilidade ileal de AA (WALK et al., 2012).

Segundo Lee et al. (2017), cerca de 30 a 35% do benefício de uma dose maior de fitase (1500 FTU/Kg) para frangos de corte está relacionado ao inositol, sendo a taxa de conversão alimentar a variável mais sensível em obter resultados positivos. Em trabalho de Sommerfeld et al. (2018^B) a suplementação de 1500 FTU/Kg de fitase aumentou a concentração de inositol no trato digestivo e no sangue, além de aumentar o desaparecimento de AA no conteúdo ileal de frangos de corte.

A liberação do inositol depende da inclusão de fitase na dieta, indicando que doses maiores são mais eficientes em aumentar a concentração desse composto comparado a doses consideradas normais. A quantidade de inositol nas excretas é menor que no íleo terminal, sugerindo que parte do inositol é absorvido pelas aves nesse segmento, ou é metabolizado por microrganismos no ceco (BEESON et al., 2017).

A dose de fitase que apresenta os melhores resultados sobre a quebra do fitato diverge na literatura: dependendo de fatores experimentais, como os ingredientes da dieta, idade das aves e tipo de fitase. Segundo Dersjant-Li et al. (2014) a inclusão de 500 FTU/kg de fitase pode hidrolisar cerca de 45 a 60% do fitato até o final do intestino delgado de frangos de corte. Segundo Shirley e Edwards (2003) o uso de 12.000 FTU/kg de fitase ocasiona o desaparecimento de aproximadamente 95% do fitato, possivelmente anulando os efeitos anti-qualitativos para frangos de corte. Enquanto Manangi e Coon (2008), descrevem que a quase completa hidrólise do P fitico (99.45%) é obtido com inclusão de 5.000 FTU/kg.

A supedosing de fitase pode auxiliar o sistema antioxidante, considerando a destruição parcial do fitato, liberação de inositol, aumento na disponibilidade de minerais e diminuição dos fatores anti-qualitativos advindos da dieta. Essas consequências da ação da enzima melhorando o sistema anti-oxidante, podem ocasionar melhora no status de saúde da ave, e no caso de matrizes pesadas beneficiar a reprodução.

A produção de pintinhos de um dia é influenciada pela fertilidade e eclodibilidade dos ovos, sendo afetados tanto pela genética, como também pelo ambiente e nutrição (KING'ORI, 2011). Quando consideramos que a proporção entre machos e fêmeas é em torno de 8 a 10 em um galpão, podendo variar conforme a idade das aves, o benefício nas características reprodutivas, principalmente dos galos, poderia ser de grande impacto na fertilidade dos ovos.

A deficiência na dieta dos minerais precursores das enzimas antioxidantes pode levar a quadros de estresse oxidativo, ocasionando lesões nas células e membranas pelos radicais livres (SURAI, 2006). Desta forma, os antioxidantes desempenham papel importante na reprodução de aves por meio da manutenção de defesas antioxidantes dos espermatozoides e nos tecidos embrionários (SURAI et al., 2006).

Com o passar da idade a qualidade espermática dos galos diminui, devido a isso, existem pesquisas para buscar alternativas para melhorar ou manter a fertilidade. Dar suporte ao sistema anti-oxidante dos animais, com inclusão na dieta de substâncias com esse propósito ou que podem potencializar esse sistema, podem ser alternativas. Os machos de matrizes pesadas parecem ser mais sensíveis ao

estresse oxidativo comparado aos de matrizes leves, basicamente por ter menor capacidade anti-oxidante no organismo (FAURE et al., 2017).

De acordo com Makker et al. (2009), o plasma seminal e os espermatozoides contêm enzimas e vitaminas antioxidantes que protegem a membrana espermática da peroxidação. A composição lipídica do sêmen das aves é rica em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (PUFA) na fração fosfolipídica de espermatozoides, fundamental para manter as propriedades de membrana como flexibilidade e fluidez, tornando, entretanto, o espermatozoide suscetível à peroxidação (SURAI et al., 2006). A presença de inositol no epidídimo de suínos, sugerem que essa substância pode desempenhar um papel na maturação e proteção de esperma, atuando possivelmente como um anti-oxidante (STEWART et al., 2018).

Considerando o inositol com um antioxidante, ou um composto que auxilia esse sistema, podemos fazer um paralelo com outros estudos encontrados na literatura. A adição de um composto antioxidante natural (Gengibre - *Zingiber officinale*) melhorou algumas características seminais em galos (66 semanas de idade), sugerindo que seu uso tem potencial para atenuar a redução da subfertilidade em machos de matrizes pesadas em final de produção (AKHLAGHI et al., 2011).

O estresse oxidativo pode diminuir a produtividade dos galos, no entanto, a suplementação de antioxidantes como Vit E, Vit C podem reduzir o impacto negativo na fertilidade (MIN et al., 2016). Além das vitaminas, outras substâncias como os carotenóides executam da mesma maneira atividade antioxidante, de forma a proteger as células da ação dos radicais livres (SURAI, 2006), reforçando a importância da presença destes nutrientes na alimentação. Em trabalho de Murakami et al. (2013), houve melhora linear na fertilidade de matrizes pesadas com 51 semanas de idade, incluindo 0, 150, 250 ou 350 mg/kg de Vit E na dieta de machos e fêmeas, porém sem efeito na mortalidade embrionária e variáveis de qualidade espermática.

A adição de altos níveis de Vit E (120 a 160 mg/kg) na dieta das matrizes pode aumentar a capacidade antioxidante dos pintinhos, e conseqüentemente reduzir os efeitos do estresse oxidativo na progênie (LIN et al., 2005). Porém, em trabalho de Rocha et al. (2016) a adição de compostos com ação antioxidante na

dieta, como a citranaxantina, cantaxantina ou Vit E, não foram capazes de alterar positivamente as características reprodutivas de galos entre 51 e 55 semanas de idade. Em estudo de Andi et al. (2006), a suplementação de Vit E (0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 IU/Kg) na dieta de fêmeas de matrizes pesadas não melhorou a fertilidade de 30 a 35 semanas de idade.

Existem vários antioxidantes sintetizados no organismo das aves, mas que precisam de precursores, especialmente minerais, como Zn, selênio (Se), cobre (Cu), manganês (Mn) e ferro (Fe), para a síntese de enzimas de função antioxidante, como a glutathione peroxidase, tiredoxina redutase, superóxido dismutase, catalase (SURAI, 2006). A adição de antioxidantes na dieta melhora a resposta imune de frangos (KARADAS et al., 2016), e Saleh et al. (2018) sugerem que o Zn possui esses efeitos positivos no organismo das aves. Até 850 FTU/Kg de fitase na dieta, a suplementação de 1 mg de Zn, na forma de sulfato, pode ser compensada por uma inclusão de 100 FTU/Kg da enzima. Exemplificando para frangos de corte, com a inclusão de 60 mg/Kg de Zn na dieta, é possível considerar a substituição de 5 mg de Zn por 500 FTU/Kg de fitase, podendo reduzir a excreção de Zn em 10% (JONDREVILLE et al., 2007).

Em trabalho de Sharideh et al. (2016) a inclusão de Zn (30, 60, 90 e 120 mg/Kg) e fitase (0 ou 300 U/Kg) na dieta das fêmeas de matrizes pesadas, melhorou a fertilidade no período de 66 a 71 semanas de idade. Segundo Amen e Al-Daraji (2011), a adição de Zn na dieta (de 50 a 100 mg/kg) pode melhorar o desempenho reprodutivo de matrizes pesadas, baseando-se nos resultados que a inclusão de Zn aumentou a concentração de testosterona no sangue dos machos e estrogênio e progesterona no das fêmeas.

O Se, como selenocisteína, é outro mineral essencial para manter o sistema antioxidante, compondo a enzima glutathione peroxidase (ZELENKA et al., 2005), podendo resultar em benefícios reprodutivos. A suplementação de antioxidantes (Vit E e Se) ocasiona efeito positivo na fertilidade de matrizes mais velhas, sendo um exemplo, o aumento da capacidade das fêmeas na retenção dos espermatozóides nos túbulos de armazenamento (BRÉQUE et al., 2003), melhorando a fertilidade

Em trabalho de Urso et al. (2015) a associação de dois níveis de Vit E na dieta (30 e 120 mg/Kg) e Se de fonte orgânica ou selenito de Na, não melhorou a

fertilidade de matrizes com 29, 33, 36 e 48 semanas de idade, no entanto a maior dose de Vit E melhorou a eclodibilidade as 29 semanas. Sendo que, em trabalho de Han et al. (2017), foi observado que a adição de Se melhorou o status antioxidante de poedeiras, e a fonte orgânica desse mineral foi mais eficiente em acumular Se no fígado e ovos.

Considerando o processo de nascimento como um período de grande estresse oxidativo, o aumento da capacidade de defesa do sistema anti-oxidante poderia melhorar a eclodibilidade. A maior concentração de Se no ovo, pode auxiliar o sistema anti-oxidante dos pintinhos, melhorando o nascimento e desempenho. Assim, no momento da bicagem externa e do nascimento, etapas que se caracterizam pela presença do oxigênio, do alto metabolismo e da elevada presença dos ácidos graxos poliinsaturados nos tecidos do embrião, são uma fase crítica para o controle pelo sistema antioxidante (SURAI, 2006).

Em trabalho de Abbasi et al. (2015) a adição de fitase aumentou a concentração de Fe no sangue e na gema dos ovos de poederias entre 62 e 68 semanas de idade, possivelmente aumentando a disponibilidade das reservas de Fe para os pintinhos. Segundo Zhu et al. (2015), a suplementação de Mn (120 mg/Kg) em dietas para matrizes pesadas, beneficiou o sistema antioxidante em aves submetidas a estresse por calor (32°C).

O fornecimento de maior dose de fitase em animais em crescimento mostra melhora na utilização de AA, energia e minerais, sendo esses fatores potencialmente benéficos para a produção de sêmen (Stewart et al., 2018), sendo possivelmente os principais fatores que podem melhorar os índices reprodutivos de matrizes pesadas.

2.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ovo fértil é o produto de um galpão de matrizes pesadas, e deve ter condições adequadas para o processo de incubação até o nascimento dos pintinhos. A nutrição e alimentação para os reprodutores devem fornecer os nutrientes suficientes para as aves, além de suprir as necessidades nutricionais para a progênie até o nascimento.

O Ca é o mineral com maior inclusão nas dietas para matrizes pesadas, sendo o calcário a principal fonte para fornecimento desse nutriente. As diferentes granulometrias desse ingrediente têm impacto na disponibilidade do Ca, sendo que a solubilidade é principalmente influenciada pelo tamanho de partícula. Devido ao maior tempo de retenção na moela, as partículas grossas permanecem em ambiente ácido por um período mais longo, aumentando sua solubilidade e conseqüentemente melhorando a absorção pela ave, beneficiando o processo de formação do ovo.

A casca do ovo é a principal proteção do embrião, e tem importante relação com a incubação e nascimento. A inclusão de calcário de granulometria grossa na dieta das matrizes pode trazer alguns benefícios para os ovos, principalmente a manutenção da qualidade da casca. A casca deve ser resistente o suficiente para proteger o embrião de choques físicos e não permitir quebra ou rachaduras nos ovos, porém, ela também deve permitir a adequada troca de gases advindo do metabolismo do embrião e não dificultar o nascimento.

A fitase é a enzima mais utilizada nas dietas para frangos de corte, poedeiras e matrizes, possuindo como principal objetivo melhorar o aproveitamento de Ca e P dos ingredientes vegetais, principalmente milho e farelo de soja. A maior disponibilidade dos minerais é devido a destruição do fitato, o qual é um fator anti qualitativo relevante nas dietas para aves de produção, e pode representar uma influência negativa no trato gastrointestinal, diminuindo a absorção de nutrientes e maior agressão a mucosa.

A grande quantidade de Ca nas dietas para matrizes pesadas pode afetar o pH do trato, tornando menos ácido, prejudicando a ação da fitase. A utilização de calcário de fonte grossa, acima de 2000 μm , vai solubilizar o Ca de maneira mais lenta, afetando menos o pH. É esperado que a fitase tenha uma melhor resposta quando adicionado uma fonte grossa de calcário na dieta das fêmeas.

A inclusão de fitase em doses mais altas nas dietas para aves, além do objetivo de liberação de Ca e P, possui aspectos promissores para a nutrição e produção de matrizes. A maior destruição do fitato é a principal razão do uso de maiores doses da enzima, resultando em aumento de aproveitamento de energia, aminoácidos, minerais e inositol.

O inositol é uma substância liberada após a completa desfosforilação do fitato, sendo que maiores doses de fitase resultam em maior liberação desse composto. O inositol possui a capacidade de auxiliar o sistema anti oxidante da ave, e no caso de matrizes pesadas beneficiar os índices reprodutivos. Além do inositol, minerais como o Zn e Se liberados com doses maiores de fitase, podem melhorar a fertilidade na produção de matrizes pesadas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, M.; ZAGHARI, M.; GANJKHANLO, M.; KHALAJI, S. Is dietary iron requirement of broiler breeder hens at the late stage of production cycle influenced by phytase supplementation? **Journal of Applied Animal Research**, v.43, p.166-176, 2015.

AJAKAIYE, A.; ATTEH, J. O.; LEESON, S. Effects of calcium source, particle size and time on in-vitro calcium solubility of some indigenous Nigerian mineral ingredients for poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.65, p.293-298, 1997.

AKHLAGHI, A.; AHANGARI, Y. J.; NAVIDSHAD, B.; PIRSARAEI, Z. A.; ZHANDI, M.; DELDAR, H.; REZVANI, M. R.; DADPASAND, M.; HASHEMI, S. R.; POURESLAMI, R.; PEEBLES, E. D. Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). **Poultry Science**, v.93, p.1236–1243, 2011.

AL-MASRI, M. R. Absorption and endogenous excretion of phosphorus in growing broiler chicks, as influenced by calcium and phosphorus ratios in feed. **British Journal of Nutrition**, v.74, p.407-415, 1995.

ALVES, E. L.; TEIXEIRA, A. S.; BERTECHINI, A.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, A. I. G. Efeito dos níveis de cálcio em duas fontes sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, p.1305-1312, 2002.

AMEN, M. H. M.; AL-DARAJI, H. J. Influence of Dietary Supplementation with Zinc on Sex Hormones Concentrations of Broiler Breeder Chickens. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.10, p.1089-1093, 2011.

AMERAH, A. M.; PLUMSTEAD, P. W.; BARNARD, L. P.; KUMAR, A. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. **Poultry Science**, v.93, p.906–915, 2014.

ANDI, M. A.; SHIVAZAD, M.; POURBAKHSH, S. A.; AFSHAR, M.; ROKNI, H.; SHIRI, N.E.; MOHAMMADI, A.; SALAHI, Z. Effects of Vitamin E in Broiler Breeder Diet on Hatchability, Egg Quality and Breeder and Day Old Chick Immunity. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.9, p.789-794, 2006.

ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MORELA, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.224, p.39–45, 2017.

ATIA, F. A.; WAIBEL, P. E.; HERMES, I.; CARLSON, C. W.; WALSER, M. M. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. **Poultry Science**, v.79, p.231-239, 2000.

BEESON, L. A.; WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; OLUKOSI, O. A. Hydrolysis of phytate to its lower esters can influence the growth performance and nutrient utilization of broilers with regular or super doses of phytase. **Poultry Science**, v. 96, p.2243-2253, 2017.

BERRY, W. D.; HESS, J. B.; LIEN, R. J.; ROLAND, D. A. Egg Production, Fertility, and Hatchability of Breeder Hens Receiving Dietary Phytase. **Journal Applied of Poultry Research**, v.12, p.264-270, 2003.

BRÉQUE, C.; SURAI, P.; BRILLARD, J. P. Roles of Antioxidants on Prolonged Storage of Avian Spermatozoa In Vivo and In Vitro. **Molecular Reproduction and Development**, v.66, p.314-323, 2003.

BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN VOLTZ, A. H.; RYCHEN, G.; SCHULZE, J.; SIMOES NUNES, C. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilisation in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **British Poultry Science**, v.35, p.273-280, 1994.

BUENO, I. J. M.; SUREK, D.; ROCHA, C.; SCHRAMM, V. G.; MURAMATSU, K.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A. Effects of different limestone particle sizes in the diet of broiler breeders post molting on their performance, egg quality, incubation results, and pre-starter performance of their progeny. **Poultry Science**, v.95, p.860-866, 2016.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Supplementation of Corn–Soy-Based Diets with a *Escherichia coli*-Derived Phytase: Effects on Broiler Chick Performance and the Digestibility of Amino Acids and Metabolizability of Minerals and Energy. **Poultry Science**, v.85, p.1389-1397, 2016.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.745-752, 2007.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, p.878-896, 2014.

DRIVER, J. P.; PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I.; EDWARDS, H. M. Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficacy in broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p.1406-1417, 2005.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. The Effect of Limestone Particle Size on the Performance of Three Broiler Breeder Purelines. **International Journal of Poultry Science**, v.9, p.1038-1042, 2010.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. An Examination of the P Requirements of Broiler Breeders for Performance, Progeny Quality and P Balance 2. Ca Particle Size. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.760-765, 2011.

ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVAN, M.; SKŘIVANOVÁ, E.; BUBANCOVÁ, I.; ČERMÁK, L.; VLČKOVÁ, J. Effects of a low-phosphorus diet and exogenous phytase on performance, egg quality, and bacterial colonisation and digestibility of minerals in the digestive tract of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.60, p.542-549, 2015.

ETCHES, R. J. **Reproduction in poultry**. Reproducción aviar. p.348, 1998.

FAURE, M.; GUIBERT, E.; CROCHET, S.; CHARTIN, P.; BRILLARD, J. P.; COLLIN, A.; FROMENT, P. Differential proliferation and metabolic activity of Sertoli cells in the testes of broiler and layer breeder chickens. **Poultry Science**, v.96, p.2459-2470, 2017.

GILBERT, A. B. Calcium and reproductive function in the hen. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.42, p.195-212, 1983.

GUINOTTE, F.; GAUTRON, J.; NYS, Y. Calcium solubilization and retention in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus domesticus*) as a function of gastric acid secretion inhibition and of calcium carbonate particle size. **British Journal of Nutrition**, v.73, p.125-139, 1995.

GUO, X. Y.; KIM, I. H. Impacts of Limestone Multi-particle Size on Production Performance, Egg Shell Quality, and Egg Quality in Laying Hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p.839-844, 2012.

HAMDI, M.; SOLÀ-ORIOL, D.; DAVIN, R.; PEREZ, J. F. Calcium sources and their interaction with the different levels of non-phytate phosphorus affect performance and bone mineralization in broiler chickens. **Poultry Science**, v.0, p.1-8, 2015.

HAN, X. J.; QIN, P.; LI, W. X.; MA, Q. G.; JI, C.; ZHANG, J. Y.; ZHAO, L. H. Effect of sodium selenite and selenium yeast on performance, egg quality, antioxidant capacity, and selenium deposition of laying hens. **Poultry Science**, v.96, p.3973-3980, 2017.

HURWITZ, S.; BAR, A. Relation between the lumen-blood electrochemical potential difference of calcium, calcium absorption and calcium-binding protein in the intestine of the fowl. **Journal of Nutrition**, v.99, p.217-224, 1969.

HURWITZ, S.; BAR, A. Calcium and phosphorus interrelationships in the intestine of the fowl. **Journal of Nutrition**, v.101, p.677-685, 1971.

HURWITZ, S.; FISHMAN, S.; TALPAZ, H. Calcium Dynamics: A Model System Approach. **American Institute of Nutrition**, 1987.

JONDREVILLE, C.; LESCOAT, P.; MAGNIN, M.; FEUERSTEIN, D.; GRUENBERG, B.; NYS, Y. Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soya-bean meal diets for chickens. **Animal**, v.1, p.804-811, 2007.

KARADAS, F.; ERDOGAN, S.; KOR, D.; OTO, G.; ULUMAN, M. The Effects of different Types of Antioxidants (Se, Vitamin E and Carotenoids) in Broiler Diets on the Growth Performance, Skin Pigmentation and Liver and Plasma Antioxidant Concentrations. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.18, p.101-106, 2016.

KARIMI, A.; BEDFORD, M. R.; SADEGHI, G. H.; GHOBADI, Z. Influence of dietary non-phytate phosphorous levels and phytase supplementation on the performance and bone characteristics of broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.13, p.43-51, 2011.

KARIMI, A.; COTO, C.; MUSSINI, F.; GOODGAME, S.; LU, C.; YUAN, J.; BEDFORD, M. R.; WALDROUP, P. W. Interactions between phytase and xylanase enzymes in male broiler chicks fed phosphorus-deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science**, v.92, p.1818-1823, 2013.

KEBREAB, E.; HANSEN, A. V.; STRATHE, A. B. Animal production for efficient phosphate utilization: from optimized feed to high efficiency livestock. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, p.872-877, 2012.

KETTA, M.; TUMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, v.61, p.299-309, 2016.

KING'ORI, A. M. Review of the Factors That Influence Egg Fertility and Hatchability in Poultry. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.483-492, 2011.

KHAN, S. A.; CHAUDHRY, H. R.; BUTT, Y. S.; JAMEEL, T.; AHMAD, F. The Effect of Phytase Enzyme on the Performance of Broiler Flock (A-Review). **Poultry Science Journal**, v.2, p.117-125, 2013.

KIARIE, E.; WOYENGO, T.; NYACHOTI, C. M. Efficacy of New 6-Phytase from *Buttiauxella* spp. on Growth Performance and Nutrient Retention in Broiler Chickens Fed Corn Soybean Meal-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.28, p.1479-1487, 2015.

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

KIM, S. W.; LI, W.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, v.0, p.1-9, 2018.

KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M.; YI, Z.; RAVINDRAN, V. Response of broilers to graded levels of microbial phytase added to maize-soyabean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. **British Journal of Nutrition**, v.75, p.839-852, 1996.

KUSSAKAWA, K. C. K.; MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Combinações de fontes de cálcio em rações de poedeiras na fase final de produção e após muda forçada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.572-578, 1998.

LEE, S. A.; NAGALAKSHMI, D.; RAJU, M. V. L. N.; RAMA RAO, S. V.; BEDFORD, M. R. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralisation in broilers. **Animal Nutrition**, v.3, p.247-251, 2017.

LI, W.; ANGEL, R.; KIM, S. W.; BRADY, K.; YU, S.; PLUMSTEAD, P. W. Impacts of dietary calcium, phytate, and phytase on inositol hexakisphosphate degradation and inositol phosphate release in different segments of digestive tract of broilers. **Poultry Science**, v.96, p.3626-3637, 2017.

LICHOVNIKOVA, M. The effect of dietary calcium source, concentration and particle size on calcium retention, eggshell quality and overall calcium requirement in laying hens. **British Poultry Science**, v.48, p.71-75, 2007.

LIN, Y. F.; TSAI, H. L.; LEE, Y. C.; CHANG, S. J. Maternal Vitamin E Supplementation Affects the Antioxidant Capability and Oxidative Status of Hatching Chicks. **Journal of Nutrition**, v.135, p.2457-2461, 2005.

LONNERDAL, B. Dietary Factors Influencing Zinc Absorption. **Journal of Nutrition**, v.130, p.1378-1383, 2000.

LOBAUGH, B.; JOSHUA, I. G.; MUELLER, W. J. Regulation of Calcium Appetite in Broiler Chickens. **Journal of Nutrition**, v.111, p. 298-306, 1981.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Fisiologia das Aves Comerciais. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2017.

MACARI, M.; MENDES, A. A. Manejo de Matrizes de Corte. Campinas: FACTA, 2005.

MAKKER, K.; AGARWAL, A.; SHARMA, R. Oxidative stress & male infertility. **Indian Journal of Medical Research**, v.129, p.357-367, 2009.

MANANGI, M. K.; COON, C. N. Phytate Phosphorus Hydrolysis in Broilers in Response to Dietary Phytase, Calcium, and Phosphorus Concentrations. **Poultry Science**, v.87, p.1577-1586, 2008.

MIN, Y.; SUN, T.; NIU, Z.; LIU, F. Vitamin C and vitamin E supplementation alleviates oxidative stress induced by dexamethasone and improves fertility of breeder roosters. **Animal Reproduction Science**, v.171, p.1-6, 2016.

MOLNÁR, A.; MAERTENS, L.; AMPE, B.; BUYSE, J.; ZOONS, J.; DELEZIE, E. Supplementation of fine and coarse limestone in different ratios in a split feeding system: Effects on performance, egg quality, and bone strength in old laying hens. **Poultry Science**, v.96, p.1659-1671, 2017.

MURAKAMI, A. E.; SANTOS, T. C.; FERNANDES, J. I. M.; MARTINEZ, A. C.; BORTOLUZZI, C. Desempenho produtivo e reprodutivo de matrizes de frangos de corte com dietas suplementadas com vitamina E, óleo de soja e óleo de peixe. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v 37, p.285-294, 2013.

MUTUCUMARANA, R. K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal digestibility of phosphorus in some feed ingredients for broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v.92, p.5520-5529, 2014.

NUSAIRAT, B.; RAMOS, M. A.; BRAKE, J. Research Article Effect of the Phytase Inclusion in Broiler Breeder Diets on Fecal and Egg Characteristics. **International Journal of Poultry Science**, v.17, p.1-7, 2017.

NARUSHIN, V. G.; ROMANOV, M. N. Egg physical characteristics and hatchability. **World Poultry Science Journal**, v.58, p.297-303, 2002.

PTAK, A.; BEDFORD, M. R.; ŚWIĄTKIEWICZ, S.; ŻYŁA, K.; JÓZEFIAK, D. Phytase Modulates Ileal Microbiota and Enhances Growth Performance of the Broiler Chickens. **Plos One**, v.10, p.1-15, 2015.

PELICIA, K.; GARCIA, E.; MÓRI, C.; FAITARONE, A. B. G.; SILVA, A. P.; MOLINO, A. B.; VERCESE, F.; BERTO, D. A. Calcium Levels and Limestone Particle Size in the Diet of Commercial Layers at the End of the First Production Cycle. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, p.87-94, 2009.

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

RAO, K. S.; ROLAND, D. A. Influence of Dietary Calcium Level and Particle Size of Calcium Sourceon In Vivo Calcium Solubilization by Commercial Leghorn. **Poultry Science**, v.68, p.1499-1505, 1989.

RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; SELLE, P. H.; BRYDEN, W. L. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v.41, p.193-200, 2000.

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

ROCHA, J. S. R.; POMPEU, M. A.; BAIÃO, N. C.; LARA, L. J. C.; CARDEAL, P. C.; COSTA, B. V.; LEÃO, P. A.; LEITE, A. C.; VARGAS, L. R.; REZENDE, C. A.; WERNICK, B.; RUIZ, J. H. A. Avaliação da suplementação antioxidante na dieta para galos de matrizes pesadas em idade avançada sobre parâmetros reprodutivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, p.1177-1182, 2016.

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

SAAFA, H. M.; SERRANO, M. P.; VALENCIA, D. G.; FRIKHA, M.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; MATEOS, G. G. Productive Performance and Egg Quality of Brown Egg-Laying Hens in the Late Phase of Production as Influenced by Level and Source of Calcium in the Diet. **Poultry Science**, v.87, p.2043-2051, 2008.

SAFAMEHR, A.; LANGILLE, M.; ANDERSON, D. M.; MACISAAC, J. L. Evaluation of composition and in vitro solubility rate of by-products of the Atlantic shellfish industry as alternative calcium sources. **Journal Applied of Poultry Research**, v.22, p.529-538, 2013.

SALEH, A. A.; RAGAB, M. M.; AHMED, E. A. M.; ABUDABOS, A. M.; EBEID, T. A. Effect of dietary zinc-methionine supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative properties and immune response in broiler chickens under high ambient temperature. **Journal of Applied Animal Research**, v.46, p.820-827. 2018.

SANTOS, J. E. C.; GOMES, F. S. G.; BORGES, G. L. F. N.; SILVA, P. L. S.; CAMPOS, E. J.; FERNANDES, E. A.; GUIMARÃES, E. C. Efeito da linhagem e da idade das matrizes na perda de peso dos ovos e no peso embrionário durante a incubação artificial. **Bioscience Journal**, v.25, p.163-169, 2009.

SANTOS, T.T.; SRINONGKOTE, S.; BEDFORD, M. R.; WALK, C. L. Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.26, p.227-232, 2013.

SAUNDERS-BLADES, J. L.; MACISAAC, J. L.; KORVER, D. R.; ANDERSON, D. M. The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. **Poultry Science**, v.88, p.338-353, 2009.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1-41, 2007.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v.14, p.124-126, 2009.

SHARIDEH, H.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; AKHLAGHI, A. Dietary Zinc Oxide and 6-Phytase Effects on Fertility Rate in Old Broiler Breeder Hens. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.18, p.327-336, 2016.

SHIRLEY, R. B.; EDWARDS JR, H. M. Graded Levels of Phytase Past Industry Standards Improves Broiler Performance. **Poultry Science**, v.82, p.671-680, 2003.

SKŘIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. Negative Effect of Phytase Superdosing in Laying Hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.63, p.182-187. 2018.

SOMMERFELD, V.; SCHOLLENBERGER, M.; KUHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.1177-1188, 2018^A.

SOMMERFELD, V.; KUNZEL, S.; SCHOLLENBERGER, M.; KUHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.920-929, 2018^B.

STEWART, K. R.; BRADLEY, C. L.; WILCOCK, P.; DOMINGUES, F.; KLEVE-FELD, M.; HUNDLEY, J.; CABEZÓN, F. A. Superdosing phytase fed to mature boars improves semen concentration and reproductive efficiency. **The Professional Animal Scientist**, v.34, p.95-102, 2018.

SUMMERS, J. D. Precision Phosphorus Nutrition. **Journal Applied of Poutry Research**, v.6, p.495-500, 1997.

SURAI, P. F. Natural antioxidants in Poultry nutrition: New developments In: **16TH European Symposium on Poultry Nutrition**, p.669-675, 2006.

SURAI, P. F.; SPARKS, N. H. C.; SPEAK, B. K. The role of antioxidants in reproduction and fertility of poultry. In: **XII European Poultry Conference**, Verona, Italy, 2006.

SWIATKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; JÓZEFIAK, D. Bone quality, selected blood variables and mineral retention in laying hens fed with different dietary concentration and source of calcium. **Livestock Science**, v.181, p.194-199, 2015.

TAMIM, N. M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.83, p.1358-1367, 2004.

TRUONG, H. H.; YU, S.; PERON, A.; CADOGAN, D. J.; KHODDAMI, A.; ROBERTS, T. H.; LIU, S. Y.; SELLE, P. H. Phytase supplementation of maize-, sorghum- and wheat-based broiler diets with identified starch pasting properties influences phytate (IP6) and sodium jejunal and ileal digestibility. **Animal Feed Science Technology**, v.198, p.248-256, 2014.

TRUONG, H. H.; YU, S.; MOSS, A. F.; PARTRIDGE, G. G.; LIU, S. Y.; SELLE, P. H. Phytase inclusions of 500 and 2000 FTU/kg in maize-based broiler diets impact on growth performance, nutrient utilisation, digestive dynamics of starch, protein (N), sodium and IP6 phytate degradation in the gizzard and four small intestinal segments. **Animal Feed Science Technology**, v.223, p.13-22, 2017.

URSO, U. R. A.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A.; BUENO, I. J. M.; SCHNEIDER, A. F.; SUREK, D.; ROCHA, C. Vitamin E and selenium in broiler breeder diets: Effect on live performance, hatching process, and chick quality. **Poultry Science**, v.94, p.976-983, 2015.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; MCELROY, A. P. In vitro evaluation of limestone, dicalcium phosphate, and phytase on calcium and phosphorus solubility of corn and soybean meal. **Poultry Science**, v.91, p.674-682, 2012.

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

WANG, S.; CHEN, W.; ZHANG, H. X.; RUAN, D.; LIN, Y. C. Influence of particle size and calcium source on production performance, egg quality, and bone parameters in laying ducks. **Poultry Science**, v.93, p.2560-2566, 2014.

WIDEMAN, R. F. Renal Regulation of Avian Calcium and Phosphorus Metabolism. **The Journal of Nutrition**, v.117, p.808-815, 1987.

ZAKARIA, A. H.; PLUMSTEAD, P.W.; ROMERO-SANCHEZ, H.; LEKSRIOMPONG, N.; BRAKE, J. The effects of oviposition time on egg weight loss during storage and incubation, fertility, and hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v.88, p.2712-2717, 2009.

ZELENKA, J.; FAJMONOVA, E. Effect of Age on Utilization of Selenium by Chickens. **Poultry Science**, v.84, p.543-546, 2005.

ZHANG, B.; COON, C. N. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro in vivo, gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**, v.76, p.1702-1706, 1997.

ZHU, Y. W.; LU, L.; LI, W. X.; ZHANG, L. Y.; LI, C.; LIN, X.; LIU, H. C.; ODLE, J.; LUO, X. G. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expression levels of heat-shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. **British Journal of Nutrition**, v.114, p.1965-1974, 2015.

FITASE E GRANULOMETRIA DO CALCÁRIO EM DIETAS PARA MATRIZES PESADAS SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E QUALIDADE DE OVOS

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a granulometria do calcário e doses de fitase em dietas para matrizes pesadas sobre o desempenho produtivo e qualidade de ovos. Foram utilizados 720 fêmeas e 144 machos de linhagem Cobb, alojados de 23 a 61 semanas de idade, sobre cama de maravalha e densidade de 3,6 aves/m². Com 45 semanas de idade das fêmeas ocorreu uma troca total dos machos do experimento. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de fitase (500 e 1500 FTU/kg) e duas granulometrias de calcário (fino com 419 µm e grosso com 2661 µm de diâmetro geométrico médio (DGM)), e nove repetições com 20 fêmeas e 2 machos por unidade experimental. As dietas experimentais foram fareladas, baseadas em milho, farelo de soja e de trigo, com níveis iguais de cálcio, variando apenas o DGM do calcário e inclusão da fitase, sendo fornecidas a partir de 30 semanas. Foram avaliados a porcentagem de produção total de ovos, número total de ovos por fêmea, viabilidade e classificação de ovos para incubação (porcentagem de aproveitáveis, quebrados, trincados, deformados, sem casca, casca fina e sujos) no período de 30 a 61 semanas de idade. Para avaliação de qualidade dos ovos foram coletados 90 ovos por tratamento, as 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57 e 61 semanas de idade, totalizando 2880 ovos. Foram avaliados o peso (g) de ovo, gema, albumén, casca e gravidade específica (g/ml) (GE). Os dados foram submetidos à análise de variância, e se significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$) para as variáveis de desempenho produtivo e peso de gema. Na classificação de ovos, o grupo de fêmeas alimentadas com calcário grosso obteve maior produção de ovos sujos comparado as que receberam fino ($P < 0,05$). Houve interação significativa para peso de ovo, albumén, casca e GE. Quando as fêmeas foram alimentadas com calcário fino, produziram ovos, albuméns e cascas mais pesados quando tinha a dose normal de fitase (500 FTU/Kg) na dieta comparada a dose maior (1500 FTU/Kg). Quando utilizado o calcário fino na dieta, a inclusão de maior dose de fitase ocasionou ovos com menor GE comparado a dose normal. As variáveis de qualidade de ovos acompanharam as variações do peso do ovo, porém, esse fato não ocorreu com a gema. De uma forma geral, especula-se que a ação da fitase foi mais prejudicada quando tinha calcário fino na dieta. O DGM da fonte de cálcio não afeta o desempenho produtivo das fêmeas, porém pode afetar a ação da fitase, resultando em alteração do peso de ovo.

Palavras-chave: cálcio, enzima, fitato, fosfóro, gema, inositol, ovo

PHYTASE AND LIMESTONE PARTICLE SIZE IN DIETS FOR BROILERS BREEDERS ON PERFORMANCE AND QUALITY OF EGGS

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the limestone particle size and phytase superdosing in diets for broiler breeders on the productive performance and egg quality. I were used a total of 720 females and 144 males Cobb, housed from 23 to 61 weeks of age, on new wood-shaving litter, with density of 3.6 birds/m². At 45 weeks of age females had a total exchange of males. A randomized complete design was used in a 2 x 2 factorial scheme with two levels of phytase (500 and 1500 FTU / kg) and two particle size of limestone (Fine with 419 µm and coarse with 2661 µm of MGD), and nine replicates with 20 females and 2 males per experimental unit. The experimental diets were based on maize, soybean meal and wheat, with equal levels of calcium, varying only the particle size of the limestone and inclusion of the phytase, being provided from 30 weeks. The percentage of total egg production, total number of eggs per female, viability and classification of hatching eggs (useful, broken, cracked, deformed, shelled, thin bark and soiled) were evaluated in the period from 30 to 61 weeks of age. To evaluate the quality of eggs, 90 eggs per treatment were collected at 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57 and 61 weeks of age, totaling 2880 eggs. The weight (g) of egg, yolk, albumen, shell and specific gravity (g / ml) (SG) were evaluated. The data were submitted to analysis of variance, and if significant, the means were compared by the Tukey test at 5% probability. There was no difference between the treatments ($P>0.05$) for the variables of productive performance and weight of yolk. In the egg classification, the group of females fed with coarse limestone obtained higher production of dirty eggs compared to the supply of fine ($P<0.05$). There was significant interaction for egg weight, albumen, shell and SG. Females fed with fine limestone, produced heavier eggs and albumen when they had normal dose of phytase in the diet compared to superdosing. And, when only fine limestone was used, the normal dose (500 FTU/kg) of phytase resulted in heavier eggs compared to superdosing (1500 FTU/kg). For shell, with normal dose of phytase in the diet, treatment with fine limestone resulted in greater weight compared to the coarse. When fine limestone was added to the diet, phytase superdosing resulted in eggs with lower SG compared to normal dose. In general, the egg quality variables followed the egg weight variations. The particle size of the calcium source does not affect the productive performance of the females, however, the phytase superdosing with the fine limestone granulometry can alter the egg weight.

Key words: calcium, egg, enzyme, inositol, phytate, yolk

1. INTRODUÇÃO

Na produção de ovo de matrizes pesadas a qualidade do ovo é um fator importante, sendo essencial para que os ovos cheguem no incubatório com as melhores condições possíveis para a incubação.

A casca é a principal proteção do embrião, e deve ser suficientemente resistente desde a postura até o início da incubação (KUSSAKAWA et al., 1998), sendo essencial para o desenvolvimento adequado até a eclosão. É formada por 98% de carbonato de cálcio (Ca), dos quais 60% são constituídos por carbonato e 38% por Ca (ETCHES, 1998).

O calcário, fonte de Ca mais recorrente nas dietas para aves, é utilizado em diversas granulometrias, que possivelmente tem impacto na solubilidade do Ca (KIM et al., 2018) e na qualidade da casca de ovos (EKMAI e COON, 2010). Quando a moela retem as partículas de Ca por um período maior, normalmente partículas mais grossas, tornará o Ca mais disponível durante a formação da casca e reduzindo a mobilização óssea nas fêmeas durante esse processo (EKMAI e COON 2011). Além da granulometria, a retenção de Ca na moela para melhorar qualidade de casca, depende da porosidade da fonte de Ca e sobretudo da solubilidade *in vivo* (ZHANG e COON, 1997).

O calcário pode interferir de maneira expressiva na utilização de fósforo (P) da dieta, pelo fato do alto teor de Ca na dieta pode influenciar o pH gastrointestinal (WALK et al., 2012), dificultando a ação da fitase. A principal função dessa enzima é catalisar a quebra do complexo fitato, melhorando o aproveitamento do Ca e P das dietas, reduzindo a inclusão de calcários e fosfatos na formulação. A fitase também aumenta a utilização de outros nutrientes incluindo aminoácidos e vários cátions como ferro, magnésio, potássio e manganês (KIARIE et al., 2015), sendo esses benefícios extra fosfóricos interessantes do ponto de vista nutricional. O uso de fitase pode reduzir os custos de alimentação, principalmente pela menor inclusão de fosfatos, e melhorar a utilização de nutrientes em ingredientes de origem vegetal, resultando em benefícios econômicos e ambientais (DERSJANT-LI et al., 2014).

O uso de níveis mais elevados de fitase, além da inclusão para apenas liberação de Ca e P, nas dietas de animais tem ganhado cada vez mais atenção,

especialmente para aves. Uma maior dose de fitase na dieta, pode melhorar a utilização de Ca, P e outros nutrientes em dietas fornecidas a frangos de corte (COWIENSON et al., 2016), além de maximizar a destruição do fitato. O complexo fitato é um potente fator anti qualitativo e representa um significativo obstáculo nutricional para aves (COWIESON e RAVINDRAN, 2007).

Segundo Skrivan et al. (2018) um grande problema das dietas para poedeiras é a alta concentração de Ca, em torno de quatro vezes comparado a frangos de corte, possivelmente tendo efeitos negativos na ação da fitase. São limitadas as informações para fêmeas em postura alimentadas com dietas contendo doses mais altas de fitase, mesmo considerando que a utilização de Ca e P em poedeiras é mais importante do que em frangos de corte (KIM et al., 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar doses de fitase e a granulometria do calcário em dietas para matrizes pesadas sobre o desempenho produtivo e qualidade de ovos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

2.1 Animais e instalações

O experimento com as aves foi realizado em galpão experimental pertencente a Fazenda Experimental Canguiri da UFPR, localizada no município de Pinhais, Paraná, Brasil.

Foram utilizados 720 fêmeas e 144 machos reprodutores de linhagem Cobb, advindas de unidade de recria comercial. As aves foram recriadas em galpão *dark house* com as mesmas condições de manejo e nutrição. Posteriormente foram transferidas para o galpão experimental com 23 semanas e permaneceram até as 61 semanas de idade.

As 45^o semanas de idade das fêmeas houve uma troca total dos machos do lote, os novos galos chegaram com 30 semanas de idade. Esse processo foi realizado para garantir uma melhor uniformidade de condição corporal e capacidade de acasamento eficiente dos galos.

O galpão possuía as dimensões de 30 x 12 m, com piso de concreto e mureta de 30 cm, telhas metálicas simples e cortinas brancas. A ventilação era pressão negativa, com placa evaporativa e exaustores, sendo a temperatura mantida conforme preconiza o padrão da linhagem, próximo a 21°C (COBB-VANTRESS, 2016). A iluminação foi feita com lâmpadas LED (100 w) com seguinte fotoperíodo: as 23 semanas receberam 12 h, as 25 semanas 13 h, as 26 semanas 14 h, 27 semanas 15 h e a partir de 29 semanas até o final receberam 16 h de luz natural mais artificial (50 lux).

As aves foram distribuídas em 36 boxes medindo 3 x 2 m (6 m²), com 20 fêmeas e dois machos, 3,6 aves/m², sobre cama de maravalha de pinus de primeiro uso com altura de 15 cm. A proporção macho e fêmea para o início do experimento foi de 1:10. Água foi fornecida à vontade em bebedouros *nipple*, com 15 bicos por box. Cada box era equipado com um comedouro tipo calha para machos e fêmeas, com espaço de 25 e 15 cm por ave, respectivamente, sendo que o das fêmeas possuía grade de restrição. A alimentação dos animais foi feita uma vez por dia, às 7:00 da manhã.

Cada box era equipado com um ninho metálico manual com 10 bocas, e devido a aberturas no fundo a coleta era realizada sem a necessidade de entrar o box. A coleta de ovos no ninho ocorreu seis vezes ao dia, nos seguintes horários: 8:30, 9:30, 10:30 e 11:10 da manhã e as 14:00 e 16:30 da tarde. Ovos postos no piso eram recolhidos imediatamente assim que vistos, foram contabilizados para a produção e posteriormente descartados.

2.2 Dietas experimentais das matrizes

As fêmeas receberam dieta pré postura das 23 às 26 semanas, postura 1 de 27 a 51 semanas e postura 2, de 52 a 61 semanas de idade. Até as 29 semanas todas as fêmeas receberam uma dieta padrão com calcário fino e inclusão de 500

FTU/Kg de fitase (Quantum Blue, E. coli, AB Vista, Marlborough, UK – IUB: 3.1.3.26). Às 30 semanas de idade iniciou o fornecimento das dietas experimentais.

Foi utilizado um delineamento em esquema fatorial 2 x 2, com duas doses de fitase e duas granulometrias de calcário. Ambas dietas possuíam a mesma concentração de Ca (36,7 %), sendo considerado fino (F) com DGM (Diâmetro geométrico médio) de 419 µm e DPG de 2,66 e grosso (G) com DGM de 2661 µm e DPG de 1,34. Foi utilizado um mesmo lote de calcário para todo o experimento, foi apenas moído em diferentes granulometrias. A análise de DGM foi realizada conforme metodologia de Zanotto e Bellaver (1996). Foi realizada análise de solubilidade *in vitro* dos calcários pelo método de perda de peso, segundo metodologia de Zhang e Coon (1997), obtendo, respectivamente, 42 e 25% de solubilidade para a fonte fina e grossa.

As dietas experimentais foram fareladas, baseadas em milho (DGM de 899 µm), farelo de soja e de trigo (Tabela 1). A valorização da fitase na formulação foi considerada 0,15% de fósforo disponível e 0,10% de cálcio total, tanto para a dose normal (500) ou para a maior dose (1500 FTU/Kg). Os galos foram submetidos as mesmas doses de fitase dos tratamentos correspondentes ao das fêmeas, porém, todos receberam calcário fino.

O fornecimento de ração para as fêmeas foi calculado conforme a porcentagem de produção de ovos do lote e ajustado semanalmente. Para os machos a quantidade de dieta fornecida foi ajustada utilizando como base o peso corporal e escore de peito (COBB-VANTRESS, 2016).

2.3 Desempenho produtivo

Foram avaliados a porcentagem de postura de ovos totais (PP), número de ovos totais (OT) e viabilidade das fêmeas no período de 30 a 61 semanas de idade. Os ovos de piso foram contabilizados para as variáveis de produção.

As variáveis foram calculadas conforme as seguintes equações:

$$PP (\%) = \frac{\text{número total de ovos produzidos no box}}{\text{número de fêmeas no box no dia}} \times 100$$

$$OT = \frac{\text{número total de ovos produzidos no box}}{\text{número médio de fêmeas no período}}$$

$$\text{Viabilidade (\%)} = \frac{\text{número de fêmeas no final do período}}{\text{número de fêmeas alojadas}} \times 100$$

Os ovos coletados no niho foram classificados em: aproveitáveis para incubação, quebrados, trincados, deformados, sem casca, casca fina e sujo, e estes demonstrados em porcentagem (COBB-VANTRESS, 2016). A mortalidade das matrizes foi verificada diariamente para ajuste da quantidade de ração diária fornecida para cada box.

2.4 Qualidade de ovos

Na 33^a, 37^a, 41^a, 45^a, 49^a, 53^a, 57^a e 61^a semana de idade das fêmeas, 90 ovos por tratamento, coletados em um mesmo dia, foram utilizados para avaliar gravidade específica (GE), peso de ovo, gema, casca e albúmen. Foi utilizado uma balança com precisão de 0,001 g.

Para a avaliação de GE foi utilizado o método de imersão em solução salina. Foram preparadas sete soluções (água e cloreto de sódio) com densidade que variaram de 1,060 a 1,090 g/ml, com intervalo de 0,005 a cada solução. Foi utilizado um densímetro para confirmar as densidades.

Após a avaliação de GE, os ovos foram quebrados e separados albúmen, gema e casca para serem pesados. As cascas foram lavadas com água corrente e secas em estufa a 65°C durante seis horas antes de serem pesadas. Peso de albúmen foi determinado pela diferença de peso de ovo, gema e casca.

Tabela 1. Composição das dietas e níveis nutricionais calculados.

Ingredientes (%)	Fêmeas		Machos
	27 a 51 sem	52 a 61 sem	23 a 61 sem
Milho	66,28	66,63	57,52
Farelo de Soja 46%	16,70	17,80	7,90
Farelo de Trigo	7,40	5,30	30,90
Calcário Calcítico 36,7%	7,37	8,40	1,78
Fosfato Bicálcico	0,830	0,700	0,520
Óleo de Soja	0,500	0,300	0,500
Premix mineral ¹	0,150	0,150	0,150
Premix vitamínico ²	0,045	0,045	0,050
Cloreto de Sódio	0,280	0,250	0,280
Bicarbonato de Sódio	0,200	0,210	0,230
Cloreto de Colina 60%	0,095	0,113	0,095
DL-Metionina 99%	0,083	0,073	0,030
L-Treonina 98,5%	0,033	0,020	0,039
L-Lisina HCl 99%	0,022	0	0
Fitase 10000 FTU ³	0,005	0,005	0,005
Total	100	100	100
Níveis Nutricionais Calculados (%)			
Proteína Bruta	15,18	14,50	13,99
Extrato Etéreo	3,11	3,36	3,36
Cálcio Total	3,20	3,56	1,00
Fósforo Total	0,527	0,465	0,608
Fósforo Disponível	0,429	0,372	0,419
Fósforo Fítico	0,247	0,227	0,339
Sódio	0,183	0,179	0,197
Metionina Dig	0,308	0,288	0,229
Metionina + Cisteína Dig	0,560	0,518	0,469
Lisina Dig	0,649	0,644	0,489
Treonina Dig	0,519	0,500	0,446
mEq/Kg	167,4	179,4	192,5
EM Kcal/Kg	2842	2798	2750

¹ Suplementado por kg na dieta: selênio 0,30 mg; cobre 14 mg; ferro 50 mg; manganês 100 mg; zinco 100 mg; iodo 2 mg.

² Suplementado por kg na dieta: vit. A 12.200 UI; vit. D3 3.700 UI; vit. E 67 UI; vit. K3 2,83 UI; vit. B1 3,2 mg; vit. B2 12,53 mg; vit. B6 5,42 mg; vit. B12 0,05 mg; ácido pantotênico 20,36 mg; niacina 40,25 mg; ácido fólico 4,01 mg; biotina 0,29 mg

³ Quantum Blue, AB Vista Feed Ingredients, Marlborough, UK

2.5 Delineamento experimental e análise estatística

Para desempenho produtivo foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, com duas doses de fitase (500 e 1500

FTU/kg) e duas granulometrias de calcário (DGM de 419 ou 2661 μm), com nove repetições por tratamento, com 20 fêmeas e 2 machos por unidade experimental.

Para qualidade de ovos, foi utilizado delineamento em blocos casualizados, sendo a idade das fêmeas em cada coleta o fator de blocagem, formando oito blocos, com 90 ovos em cada coleta por tratamento, totalizando 720 ovos por tratamento no experimento.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e se significativo para interação dos fatores, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1 Desempenho produtivo

Não houve diferença significativa para as variáveis de desempenho produtivo (Tabela 2; $P > 0,05$).

Tabela 2. Porcentagem de postura (PP), número de ovos totais por fêmea (OT) e viabilidade (Viab) de matrizes no período de 30 a 61 semanas de idade recebendo dietas com duas granulometrias de calcário (fino 419 ou grosso 2661 μm) e doses de fitase (500 ou 1500 FTU/Kg).

	PP (%)	OT (O/F)	Viab (%)
F500	69,86	156,49	93,88
G500	69,83	156,44	91,66
F1500	70,28	157,44	89,44
G1500	70,22	157,31	93,33
Fino	70,07	156,96	91,66
Grosso	70,03	159,87	92,50
500	69,84	156,46	92,77
1500	70,25	157,38	91,38
Probabilidades			
DGM	0,963	0,963	0,772
Fitase	0,640	0,640	0,630
D x F	0,982	0,982	0,293
CV (%)	3,71	3,71	9,33

CV – Coeficiente de variação

Não houve diferença para a classificação de ovos em aproveitáveis, quebrados, trincados, deformados, sem casca e casca fina ($P>0,05$). As fêmeas alimentadas com calcário de DGM grosso na dieta tiveram maior produção de ovos sujos comparado as que receberam DGM fino ($P=0,038$) (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de ovos aproveitáveis (A), quebrados (Q), trincados (T), deformados (D), sem casca (SC), casca fina (CF) e sujos (S) de matrizes no período de 30 a 61 semanas de idade recebendo dietas com duas granulometrias de calcário (fino 419 ou grosso 2661 μm) e doses de fitase (500 ou 1500 FTU/Kg).

	A (%)	Q (%)	T (%)	D (%)	SC (%)	CF (%)	S (%)
F500	97,58	0,25	0,20	1,04	0,02	0,06	0,82
G500	97,05	0,33	0,16	1,33	0,03	0,08	0,99
F1500	97,67	0,18	0,15	0,97	0,04	0,06	0,90
G1500	97,07	0,22	0,18	0,98	0,02	0,06	1,44
Fino	97,62	0,21	0,18	1,00	0,03	0,06	0,86
Grosso	97,06	0,27	0,17	1,16	0,02	0,07	1,21
500	97,31	0,29	0,18	1,19	0,03	0,07	0,90
1500	97,37	0,20	0,16	0,98	0,03	0,06	1,17
Probabilidades							
DGM	0,055	0,272	0,840	0,278	0,831	0,630	0,038*
Fitase	0,835	0,109	0,698	0,138	0,927	0,603	0,108
D x F	0,910	0,702	0,384	0,327	0,376	0,563	0,268
CV (%)	0,87	67,55	68,25	38,11	162,59	84,67	46,65

CV – Coeficiente de variação

* Significativo para ANOVA ($p<0,05$)

3.2 Qualidade de ovos

Não houve diferença para peso de gema ($P>0,05$). Houve interação significativa ($P<0,05$) para peso de ovo, albúmen, casca e GE (Tabela 4).

As fêmeas alimentadas com calcário fino, produziram ovos, albúmens e cascas mais pesados quando tinha dose normal de fitase (500 FTU/Kg) na dieta comparado a dose maior (1500 FTU/Kg). Quando utilizado dose maior de fitase na dieta, o calcário fino resultou em ovo e albúmen mais leve, comparado ao DGM grosso ($P<0,05$).

Com dose normal de fitase na dieta, a tratamento com calcário fino resultou em maior peso de casca comparado ao grosso. Quando utilizado o calcário fino na dieta, a dose maior de fitase ocasionou ovos com GE menor comparado a dose normal ($P<0,05$).

Tabela 4. Peso de ovo (PO), gema (PG), albúmen (PA), casca (PC) e gravidade específica (GE) de ovos de matrizes de 30 a 61 semanas de idade recebendo dietas com duas granulometrias de calcário (fino 419 ou grosso 2661 μm) e doses de fitase (500 ou 1500 FTU/Kg).

	PO (g)	PG (g)	PA (g)	PC (g)	GE (g/ml)
F500	70,51 A	21,66	42,75 a	6,08 A	1,0757 a
G500	70,28 A	21,72	42,55 a	6,00 B	1,0751 ab
F1500	69,51 B	21,70	41,84 b	5,96 B	1,0750 b
G1500	70,41 A	21,73	42,64 a	6,02 AB	1,0754 ab
Fino	70,01	21,68	42,30	6,02	1075,3
Grosso	70,35	21,73	42,60	6,01	1075,3
500	70,39	21,69	42,65	6,04	1075,4
1500	69,96	21,71	42,24	5,99	1075,2
	Probabilidades				
DGM	0,047	0,448	0,021	0,666	0,701
Fitase	0,010	0,742	0,001	0,014	0,191
D x F	0,001*	0,834	0,001*	0,001*	0,010*
CV (%)	6,53	8,01	8,21	9,40	0,49

CV – Coeficiente de variação

a-b Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

* Significativo para ANOVA ($p < 0,05$)

4. DISCUSSÃO

A diferença de granulometria entres os calcários não foi suficiente para alterar o desempenho produtivo das fêmeas, corroborando com outros trabalhos consultados (EK MAY e COON, 2010; GUO e KIM, 2012; EK MAY e COON, 2011 e BUENO et al., 2016). A primeira resposta a uma redução na ingestão ou disponibilidade de Ca é uma diminuição imediata na quantidade de casca que é depositada em cada ovo. Em curto prazo há uma diminuição acentuada no número de ovos produzidos e continuando esse declínio por várias semanas, o nível de produção será reduzido proporcionalmente ao Ca disponível na dieta (GILBERT, 1983). Então, é suposto que os calcários utilizados, fino ou grosso, forneceram quantidades de Ca similares durante o período, a ponto de não interferir no número de ovos produzidos.

Houve maior incidência de ovos sujos quando utilizado a fonte grossa na dieta das fêmeas. Não foram encontrados trabalhos com matrizes pesadas ou poedeiras que tiveram resultado semelhante ou que expliquem esse ocorrido. Porém, pode ser suposto uma interferência do DGM do calcário sobre o pH do trato, e

conseqüentemente na digestão da dieta, podendo influenciar de alguma forma a sujidade dos ovos. Apesar de no presente estudo a dose de fitase não afetar significativamente a incidência de ovos sujos, em trabalho de Nusairat et al. (2017) a inclusão de 1200 FTU/Kg de fitase na dieta de matrizes pesadas aumentou a porção líquida das excretas, influenciando negativamente a limpeza dos ovos para incubação e qualidade dos pintinhos. A suplementação de fitase em dietas para aves pode mudar a retenção e balanço de íons minerais, afetando o equilíbrio osmótico do trato gastrointestinal, causando um maior consumo de água (COWIESON et al., 2016). Podemos supor que o Ca, liberado de maneiras diferentes devido a granulometria, possa ter impacto semelhante nesse equilíbrio e causado a diferença na incidência de ovos sujos.

Não houve influência do DGM do calcário para a viabilidade das fêmeas. Devido a mobilização óssea de minerais para formação da casca, o sistema ósseo pode ser fragilizado, resultando em perda de matrizes a longo prazo por problemas locomotores. Porém, no presente estudo esse possível problema ósseo não foi verificado. No entanto, em trabalho de Saunders-Blades et al. (2009) houve melhora na qualidade óssea quando fornecido calcário com DGM grosso (500 a > 4000 μm vs < 420 μm), reduzindo a incidência de problemas ósseos causados pela alta demanda de Ca pelas fêmeas para a produção de ovos.

Segundo Guo e Kim (2012) a melhora da qualidade da casca, devido ao fornecimento de calcário grosso na dieta, pode ser resultado do aumento da massa da casca ou por uma mudança na construção da casca, ou o mais provável seria por ambas situações ocorrendo concomitantemente. No entanto, não foi encontrado diferença na porcentagem de ovos quebrados e trincados, quando as fêmeas receberam os diferentes calcários. Corroborando com Bueno et al. (2016), que não observaram influência do DGM do calcário (200, 1000, 2000 e 3000 μm) na incidência de ovos rachados ou quebrados de ovos de matrizes pesadas de 74 a 83 semanas.

A maior dose de fitase, em comparação com a dose normal, em dietas com o calcário fino, resultou em menor peso de ovo, albúmen, casca e GE. Possivelmente o peso do ovo influenciou as outras variáveis de qualidade, porém esse fato, não ocorreu com a gema.

É difícil encontrar respostas fisiológicas ou nutricionais que justifiquem o fato da maior dose de fitase resultar em ovos mais leves. No entanto, fica perceptível que o calcário fino afetou a ação da enzima mais proeminente que a fonte grossa de Ca. O tempo de trânsito e as limitações de pH do trato digestivo das aves não permite a completa desfosforilação do fitato para inositol e P livres (SELLE e RAVINDRAN, 2007), e a granulometria fina do calcário parece potencializar esse efeito. O fitato pode se ligar com o cátion Ca^{2+} no intestino delgado, reduzindo a solubilidade e reduzindo o acesso da enzima a esse substrato, normalmente quando o pH é maior que 5 (DERSJANT-LI et al., 2014). O pH da moela e do íleo podem ser influenciados pelo Ca, indicando que o calcário da dieta pode atuar como um antiácido na moela e também nas porções distais do íleo (WALK et al., 2012).

O Ca de partículas grandes pode passar pelo trato mais lentamente, e devido à maior retenção da moela, permite que o calcário permaneça em um ambiente ácido por um período mais longo. A acidez aumenta a oportunidade de dissociar o carbonato de cálcio em Ca iônico, resultando em mais mineral disponível para absorção (ZHANG e COON, 1997). No entanto, não é possível afirmar que a granulometria do calcário grossa (2661 μm) melhorou a qualidade da casca no presente experimento.

Quando adicionado calcário fino na dieta, a superdosing de fitase resultou em ovos de menor GE comparado a dose normal. Apesar de haver diferença estatística entre esses tratamentos ($P < 0,05$), numericamente é discreta, apenas 0,0007 g/cm^3 , não podendo ser considerada na prática.

É importante salientar que houve influência da maior dose de fitase, nas características de ovos, apenas nas dietas com inclusão de calcário fino. Alguns fatores podem afetar a atuação da fitase exógena, tanto o fitato como o Ca tem influência no pH gastrointestinal (WALK et al., 2012), existe interferência das concentrações de Ca e P dietético (LI et al., 2017), e isso consequentemente diminui a degradação do fitato no trato digestivo (SOMMERFELD et al., 2018). A alta concentração de Ca é um problema nas dietas para fêmeas em postura, causando efeitos negativos com altas doses de fitase (SKRIVAN et al., 2018). Talvez pela quantidade de Ca na dieta das matrizes, não foi possível detectar benefícios da destruição do fitato nas variáveis analisadas.

Em trabalho de Kim et al. (2017) a inclusão de 20.000 FTU/kg de fitase em dietas para poedeiras pode restaurar o equilíbrio entre Ca e P disponível, levando a melhora na taxa de produção de ovos sem beneficiar a qualidade de ovo, no entanto, possivelmente a inclusão de 10.000 ou 30.000 FTU/kg de fitase não induziu o equilíbrio ideal de Ca e P. Segundo Selle et al. (2009) a possibilidade de elevadas inclusões de fitase devem considerar os ajustes nos níveis de Ca e P e a relação entre eles.

De uma forma geral, não houve benefícios para as matrizes pesadas quando utilizado a granulometria grossa de calcário, ocorreu apenas a maior incidência de ovos sujos. A alta concentração de Ca em dietas para matrizes pesadas, pode dificultar a ação da fitase, e deprimir o seu benefício para a melhora nos índices produtivos.

5. CONCLUSÕES

O granulometria do calcário (419 ou 2666 μm) não afeta o desempenho produtivo e qualidade de ovos das matrizes pesadas. Uma dose maior de fitase (1500 FTU/Kg) em dietas contendo calcário fino, resultou na produção de ovos mais leves.

6. REFERÊNCIAS

BUENO, I. J. M.; SUREK, D.; ROCHA, C.; SCHRAMM, V. G.; MURAMATSU, K.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A. Effects of different limestone particle sizes in the diet of broiler breeders post molting on their performance, egg quality, incubation results, and pre-starter performance of their progeny. **Poultry Science**, v.95, p.860-866, 2016.

COBB-VANTRESS. 2016. Guia de Manejo de Matrizes Cobb. Cobb-Vantress, Siloam Springs, AR.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Supplementation of Corn–Soy-Based Diets with a *Escherichia coli*-Derived Phytase: Effects on Broiler Chick Performance and the Digestibility of Amino Acids and Metabolizability of Minerals and Energy. **Poultry Science**, v.85, p.1389-1397, 2016.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.745-752, 2007.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, p.878-896, 2014.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. The Effect of Limestone Particle Size on the Performance of Three Broiler Breeder Purelines. **International Journal of Poultry Science**, v.9, p.1038-1042, 2010.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. An Examination of the P Requirements of Broiler Breeders for Performance, Progeny Quality and P Balance 2. Ca Particle Size. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.760-765, 2011.

ETCHES, R. J. **Reproduction in poultry**. Reproducción aviar. p.348, 1998.

GILBERT, A. B. Calcium and reproductive function in the hen. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.42, p.195-212, 1983.

GUO, X. Y.; KIM, I. H. Impacts of Limestone Multi-particle Size on Production Performance, Egg Shell Quality, and Egg Quality in Laying Hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p.839-844, 2012.

KIARIE, E.; WOYENGO, T.; NYACHOTI, C. M. Efficacy of New 6-Phytase from *Buttiauxellaspp.* on Growth Performance and Nutrient Retention in Broiler Chickens Fed Corn Soybean Meal-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.28, p.1479-1487, 2015.

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

KIM, S. W.; LI, W.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, v.0, p.1-9, 2018.

KUSSAKAWA, K. C. K.; MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Combinações de fontes de cálcio em rações de poedeiras na fase final de produçãoe após muda forçada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.572-578, 1998.

LI, W.; ANGEL, R.; KIM, S. W.; BRADY, K.; YU, S.; PLUMSTEAD, P. W. Impacts of dietary calcium, phytate, and phytase on inositol hexakisphosphate degradation and inositol phosphate release in diferente segments of digestive tract of broilers. **Poultry Science**, v.96, p.3626-3637, 2017.

NUSAIRAT B.; RAMOS, M. A.; BRAKE, J. Research Article Effect of the Phytase Inclusion in Broiler Breeder Diets on Fecal and Egg Characteristics. **International Journal of Poultry Science**, v.17, p.1-7, 2017.

SAUNDERS-BLADES, J. L.; MACISAAC, J. L.; KORVER, D. R.; ANDERSON, D. M. The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. **Poultry Science**, v.88, p.338-353, 2009.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1-41, 2007.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v.14, p.124-126, 2009.

SKŘIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. Negative Effect of Phytase Superdosing in Laying Hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.63, p.182-187. 2018.

SOMMERFELD, V.; KUNZEL, S.; SCHOLLENBERGER, M.; KUHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.920-929, 2018.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; MCELROY, A. P. In vitro evaluation of limestone, dicalcium phosphate, and phytase on calcium and phosphorus solubility of corn and soybean meal. **Poultry Science**, v.91, p.674–682, 2012.

ZANOTTO, D. L.; BELLAVAR, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: EMBRAPA-CNPQA. (Comunicado Técnico, 215), 1996.

ZHANG, B.; COON, C. N. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro in vivo, gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**, v.76, p.1702-1706, 1997.

FITASE E GRANULOMETRIA DO CALCÁRIO EM DIETAS PARA MATRIZES PESADAS SOBRE VARIÁVEIS DE INCUBAÇÃO E DESEMPENHO DA PROGÊNIE

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a granulometria do calcário e doses de fitase em dietas para matrizes pesadas sobre variáveis de incubação e desempenho da progênie. Foram utilizados 720 fêmeas e 144 machos matrizes de linhagem Cobb, de 23 a 61 semanas de idade, sobre cama de maravalha, densidade de 3,6 aves/m² e proporção de um macho para dez fêmeas. Com 45 semanas de idade das fêmeas ocorreu uma troca total dos machos. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de fitase na dieta (500 e 1500 FTU/kg) e duas granulometrias de calcário, fino com DGM (Diâmetro geométrico médio) de 419 e grosso com 2661 µm. As dietas foram fareladas, baseadas em milho, farelo de soja e de trigo, com níveis iguais de cálcio. Os machos receberam as mesmas doses de fitase correspondente aos tratamentos das fêmeas, porém com calcário fino para todos. Foram realizadas três incubações, na 48^a, 57^a e 61^a semana de idade das fêmeas, incubados um total de 810 ovos por tratamento, com trinta repetições de 27 ovos em cada unidade experimental, totalizando 3240 ovos. Os ovos foram coletados, fumigados e armazenados até seis dias em temperatura de 21°C e, após o armazenamento, foram pesados e submetidos a seis horas de pré-aquecimento a 27 °C, sendo incubados em máquina de estágio único na temperatura de 37,5 °C e umidade de 65%. No 10° dia foi realizada ovoscopia e retirado os ovos inférteis e com mortalidade precoce. No 19° dia de incubação os ovos foram pesados e transferidos para nascedouro com temperatura de 36,5 °C e umidade de 75%. A abertura da máquina ocorreu com 500 h. Os ovos não eclodidos foram submetidos a embriodiagnóstico e classificados em inférteis, mortalidade precoce, média e tardia (MT). Foram avaliados peso de ovo, perda de peso na incubação, peso de pintinho, relação de peso de ovo e pintinho, fertilidade (Fert), taxa de eclosão (TE) e eclodibilidade. Após o nascimento, trinta pintinhos machos por tratamento foram utilizados para avaliar peso de fígado, do trato gastrointestinal e do saco vitelínico. Nas três incubações foram avaliados o desempenho da progênie, com um total de 36 repetições por tratamento, sendo metade de machos e metade de fêmeas com 13 pintinhos por unidade experimental, avaliando-se consumo de ração, ganho de peso e taxa de conversão alimentar no período de 1 a 21 dias de idade. O fator de blocagem foi a idade das fêmeas na incubação, formando três blocos. Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O calcário de DGM grosso na dieta das fêmeas ocasionou maior porcentagem de MT (P<0,05). A dose maior de fitase melhorou (P<0,05) a Fert e a TE dos ovos comparado a dose normal. Não houve diferença para desempenho da progênie. A maior dose de fitase na dieta (1500 FTU/Kg) de machos e fêmeas de matrizes pesadas foi eficiente em melhorar a fertilidade das aves.

Palavras-chave: eclodibilidade, fertilidade, fitato, inositol, taxa de eclosão

PHYTASE AND LIMESTONE PARTICLE SIZE IN DIETS FOR BROILER BREEDERS ON INCUBATION VARIABLES AND PERFORMANCE OF PROGENIE

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the limestone particle size and phytase superdosing in diets for broiler breeders on incubation variables and progeny performance. It were used a total of 720 females and 144 males Cobb, from 23 to 61 weeks of age, on new wood-shaving litter, density of 3.6 birds/m² and proportion of one male to ten females. At 45 weeks of age females had a total exchange of males. It were used a randomized block design in a 2 x 2 factorial scheme with two phytase levels in the diet (500 and 1500 FTU/kg) and two grades of limestone, fine with MGD (medium geometric diametre) of 419 and coarse with 2661µm. The blocking factor was the age of the females in the incubation, forming three blocks. The diets were mashed, based on corn, soybean and wheat meal, with equal levels of calcium. The males received the same doses of phytase corresponding to the treatments of the females, but with fine limestone for all. Three incubations were performed at the 48th, 57th and 61th week of the females. A total of 810 eggs were incubated per treatment with thirty replicates of 27 eggs in each experimental unit, totaling 3240. The eggs were collected, fumigated and stored for up to six days in temperature of 21 ° C and, after storage, were weighed and subjected to six hours of preheating at 27 ° C and incubated in a single stage machine at a temperature of 37.5 ° C and 65% humidity. On the 10 th day, eggs were removed, and the eggs were removed, with early mortality. On the 19th day of incubation the eggs were weighed and transferred to hatching eggs at a temperature of 36.5 ° C and 75% humidity. The opening of the machine occurred with 500 h. The non hatched eggs were submitted to embryodiagnosis and classified into infertile, early, middle and late mortality. Egg weight, weight loss in hatching, chick weight, chick and egg weight ratio, fertility (Fert), hatching rate (ET) and hatchability were evaluated. After birth, thirty male chicks per treatment were used to assess liver, gastrointestinal tract and yolk sac weight. In the three incubations the progeny performance was evaluated, with 36 replicates per treatment, half of males and half of females with 13 chicks per experimental unit, being evaluated feed consumption, weight gain and feed conversion rate in the period of 1 to 21 days of age. The data were submitted to analysis of variance, and if significant, the means were compared by the Tukey test at 5% probability. Fine limestone in the females diet had a higher percentage of late mortality (P<0.05). Phytase superdosing improved (P<0.05) Fert and ET of eggs compared to normal dose. There was no difference in progeny performance. The phytase superdosing in the diet (1500 FTU/kg) of males and females of broiler breeders was efficient in improving the fertility of the eggs.

Keywords: fertility, hatchability, inositol, phytate

1. INTRODUÇÃO

O produto de um galpão de matrizes pesadas é o ovo fértil, e a casca é a principal proteção do embrião. Ela deve ser suficientemente resistente desde a postura até o final da incubação (KUSSAKAWA et al., 1998), sendo essencial para manter o embrião vivo e assegurar seu desenvolvimento adequado até a eclosão.

A casca do ovo é formada majoritariamente por carbonato de cálcio (Ca). O calcário é a principal fonte desse mineral nas dietas para aves em todo o mundo, sendo processado em diferentes granulometrias, que possivelmente terão impacto na solubilidade do Ca (KIM et al., 2018) e na qualidade da casca dos ovos (EKMAI e COON, 2010).

A qualidade da casca é uma das variáveis mais importantes para a integridade do ovo. Entre as funções, estão a proteção do embrião contra choques físicos e efeitos ambientais, a regulação da troca de gás e água e o fornecimento de Ca para o desenvolvimento embrionário (NARUSHIN e ROMANOV, 2002).

Existe uma perda natural do peso do ovo durante a incubação, que se dá basicamente como vapor de água e gás carbônico resultante do metabolismo do embrião, a espessura e porosidade da casca podem afetar esse processo. Quando a moela retém as partículas de Ca por um período maior, tornará o Ca mais disponível durante a formação da casca (EKMAI e COON, 2011). A retenção de Ca na moela para melhorar qualidade de casca, além da granulometria, pode depender de fatores como porosidade da fonte e sobretudo da solubilidade *in vivo* (ZHANG e COON, 1997).

A inclusão de calcário na dieta, em diferentes granulometrias, pode afetar a ação da fitase. O principal objetivo dessa enzima é melhorar o aproveitamento do Ca e fósforo (P) dos ingredientes vegetais, porém, também podem ser considerados pontos positivos o aumento na digestibilidade de aminoácidos, energia e outros minerais da dieta (KIARIE et al., 2015). O uso de níveis mais elevados de fitase nas dietas de animais tem ganhado cada vez mais atenção, especialmente para as aves, sendo que uma dose maior de fitase melhora a utilização de P e outros nutrientes em dietas fornecidas a frangos de corte (COWIENSON et al., 2016).

O fitato é um potente fator anti-qualitativo e representa um obstáculo significativo nas dietas para aves (COWIESON e RAVINDRAN, 2007). A dose de fitase que apresenta os melhores resultados diverge na literatura, segundo Dersjant-Li et al. (2014) a inclusão de 500 FTU/kg de fitase pode hidrolisar cerca de 45 a 60% do fitato até o final do intestino delgado de frangos de corte. Enquanto que, para Shirley e Edwards (2003) o uso de 12.000 FTU/Kg de fitase ocasiona o desaparecimento de aproximadamente 95% do fitato, possivelmente anulando os efeitos anti-qualitativos para frangos de corte. A quase completa hidrólise do fitato (99,45%) pode ser obtida com altas concentrações de fitase, próximo a 5000 FTU/Kg (MANANGI e COON, 2008). Esses trabalhos mostram que existem divergências na ação da fitase, e que diferentes resultados podem ser encontrados.

Uma maior inclusão de fitase na dieta tem como objetivo maximizar a destruição do fitato, sendo a liberação do inositol depois da completa desfosforilação um dos benefícios (WALK et al., 2014). Segundo Stewart et al. (2018), o inositol liberado após a completa desfosforilação do fitato, pode atuar potencializando o sistema antioxidante e beneficiando a fertilidade de suínos.

São limitadas as informações para fêmeas em postura alimentadas com dietas contendo doses muito altas de fitase, embora a utilização de Ca e P em poedeiras seja mais expressivo do que em frangos (KIM et al., 2017), considerando o metabolismo para produção de ovos. Deve ser considerado que um dos principais problemas nas dietas de poedeiras e matrizes é a alta quantidade de Ca, em torno de quatro vezes maior comparado a dieta de frangos, o que prejudica a ação de altas doses de fitase (SKŘIVAN et al., 2018)

O objetivo deste trabalho foi avaliar a granulometria do calcário e doses de fitase em dietas para matrizes pesadas sobre variáveis de incubação e desempenho da progênie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

2.1 Animais e instalações

O experimento com as aves e a incubação dos ovos foram realizadas em galpão e incubatório experimentais pertencentes a Fazenda Experimental Canguiri da UFPR, localizada no município de Pinhais, Paraná, Brasil.

Foram utilizados 720 fêmeas e 144 machos reprodutores de linhagem Cobb, advindos de unidade de recria comercial. As aves foram recriadas em galpão *dark house* com as mesmas condições de manejo e nutrição. Com 23 semanas de idade as aves foram transportadas e alojadas no galpão experimental, permanecendo até 61 semanas de idade. O período experimental foi de setembro a junho.

Com 45 semanas de idade das fêmeas houve uma troca total dos machos do lote, os novos 72 galos chegaram com 30 semanas de idade e foram introduzidos no experimento em substituição aos antigos. Essa prática foi realizada com o objetivo de garantir melhor uniformidade de condição corporal e eficiência no acasalamento.

O galpão possuía as dimensões de 30 x 12 m, com piso de concreto e mureta de 30 cm, telhas metálicas simples e cortinas brancas. A ventilação era pressão negativa, com placa evaporativa e exaustores, sendo a temperatura mantida conforme preconiza o padrão da linhagem, próximo a 21°C (COBB-VANTRESS, 2016). A iluminação foi feita com lâmpadas LED (100 w) com o fotoperíodo: às 23 semanas receberam 12 h, às 25 semanas 13 h, às 26 semanas 14 h, 27 semanas 15 h e a partir de 29 semanas até o final receberam 16 h de luz natural mais artificial (50 lux).

As aves foram distribuídas em 36 boxes medindo 3 x 2 m (6 m²), com 20 fêmeas e dois machos, 3,6 aves/m², sobre cama de maravalha de pinus de primeiro uso com altura de 15 cm. A proporção de macho e fêmea no início foi de 1:10. Água foi fornecida à vontade em bebedouros *nipple*, com 15 bicos por box. Cada box era equipado com um comedouro tipo calha para machos e fêmeas, com espaço de 25 e 15 cm por ave, respectivamente, sendo que o das fêmeas possuía grade de restrição. A alimentação dos animais foi feita uma vez por dia, às 7:00 da manhã.

Cada box possuía um ninho metálico manual com 10 aberturas. A coleta de ovos de ninho ocorreu seis vezes ao dia, nos seguintes horários: 8:30, 9:30, 10:30 e

11:10 da manhã e as 14:00 e 16:30 da tarde. Ovos postos no piso foram recolhidos imediatamente para evitar risco de quebra e não foram utilizados para incubação.

2.2. Dietas experimentais das matrizes

As fêmeas receberam dieta pré postura das 23 às 26 semanas, postura 1 de 27 a 51 semanas e postura 2, de 52 a 61 semanas de idade. Até as 29 semanas todas as fêmeas receberam uma dieta padrão com calcário fino e inclusão de 500 FTU/Kg de fitase (Quantum Blue, E. coli, AB Vista, Marlborough, UK – IUB: 3.1.3.26). Às 30 semanas de idade iniciou o fornecimento das dietas experimentais.

Foi utilizado um delineamento em esquema fatorial 2 x 2, com duas doses de fitase e duas granulometrias de calcário. Ambas dietas possuíam a mesma concentração de Ca (36,7 %), sendo considerado fino (F) com DGM (Diâmetro geométrico médio) de 419 µm e DPG de 2,66 e grosso (G) com DGM de 2661 µm e DPG de 1,34. Foi utilizado um mesmo lote de calcário para todo o experimento, foi apenas moído em diferentes granulometrias. A análise de DGM foi realizada conforme metodologia de Zanotto e Bellaver (1996). Foi realizada análise de solubilidade *in vitro* dos calcários pelo método de perda de peso, segundo metodologia de Zhang e Coon (1997), obtendo, respectivamente, 42 e 25% de solubilidade para a fonte fina e grossa.

As dietas experimentais foram fareladas, baseadas em milho (DGM de 899 µm), farelo de soja e de trigo (Tabela 1). A valorização da fitase na formulação foi considerada 0,15% de fósforo disponível e 0,10% de cálcio total, tanto para a inclusão de 500 ou 1500 FTU/Kg. Os galos foram submetidos as doses de fitase dos tratamentos correspondentes ao das fêmeas, porém, todos receberam calcário fino.

O fornecimento de ração para as fêmeas foi calculado conforme a porcentagem de produção de ovos do lote e ajustado semanalmente. Para os machos a quantidade de dieta fornecida foi ajustada utilizando como base o peso corporal e escore de peito (COBB-VANTRESS, 2016).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais e níveis nutricionais calculados.

Ingredientes (%)	Fêmeas		Machos
	27 a 51 sem	52 a 61 sem	23 a 61 sem
Milho	66,28	66,63	57,52
Farelo de Soja 46%	16,70	17,80	7,90
Farelo de Trigo	7,40	5,30	30,90
Calcário Calcítico 36,7%	7,37	8,40	1,78
Fosfato Bicálcico	0,830	0,700	0,520
Óleo de Soja	0,500	0,300	0,500
Premix mineral ¹	0,150	0,150	0,150
Premix vitamínico ²	0,045	0,045	0,050
Cloreto de Sódio	0,280	0,250	0,280
Bicarbonato de Sódio	0,200	0,210	0,230
Cloreto de Colina 60%	0,095	0,113	0,095
DL-Metionina 99%	0,083	0,073	0,030
L-Treonina 98,5%	0,033	0,020	0,039
L-Lisina HCl 99%	0,022	0	0
Fitase 10000 FTU ³	0,005	0,005	0,005
Total	100	100	100
Níveis Nutricionais Calculados (%)			
Proteína Bruta	15,18	14,50	13,99
Extrato Etéreo	3,11	3,36	3,36
Cálcio Total	3,20	3,56	1,00
Fósforo Total	0,527	0,465	0,608
Fósforo Disponível	0,429	0,372	0,419
Fósforo Fítico	0,247	0,227	0,339
Sódio	0,183	0,179	0,197
Metionina Dig	0,308	0,288	0,229
Metionina + Cisteína Dig	0,560	0,518	0,469
Lisina Dig	0,649	0,644	0,489
Treonina Dig	0,519	0,500	0,446
mEq/Kg	167,4	179,4	192,5
EM Kcal/Kg	2842	2798	2750

¹ Suplementado por kg na dieta: selênio 0,30 mg; cobre 14 mg; ferro 50 mg; manganês 100 mg; zinco 100 mg; iodo 2 mg.

² Suplementado por kg na dieta: vit. A 12.200 UI; vit. D3 3.700 UI; vit. E 67 UI; vit. K3 2,83 UI; vit. B1 3,2 mg; vit. B2 12,53 mg; vit. B6 5,42 mg; vit. B12 0,05 mg; ácido pantotênico 20,36 mg; niacina 40,25 mg; ácido fólico 4,01 mg; biotina 0,29 mg

³ Quantum Blue, AB Vista Feed Ingredients, Marlborough, UK

2.3 Variáveis de incubação

Foram realizadas três incubações, na 48^a, 57^a e 61^a semana de idade das fêmeas. Considerando as três incubações foram incubados 810 ovos por tratamento, totalizando 3240, com 30 repetições de 27 ovos em cada unidade experimental.

Os ovos foram coletados e enviados do galpão para armazenamento duas vezes por dia (11:30 e 17:30), e foram selecionados excluindo os ovos quebrados, trincados, deformados, sem casca, casca fina e sujos. Ovos postos no piso não foram usados para incubação. Na entrada do incubatório foram fumigados com formaldeído (37%) e armazenados até seis dias em temperatura de 21°C, com a posição da câmara de ar para cima e sem viragem durante o período.

Após o armazenamento os ovos foram pesados, submetidos a seis horas de pré-aquecimento a 27 °C e incubados em máquina de estágio único na temperatura de 37,5 °C e umidade de 65%, com viragem a cada hora em ângulo de 45°. No 10° dia foi realizado ovoscopia e retirado os inférteis e com mortalidade precoce.

No 19° dia os ovos foram pesados e transferidos para nascedouro com temperatura de 36,5°C e umidade de 75%, a abertura da máquina ocorreu com 500 horas. Foram avaliados perda de peso durante a incubação, peso de ovo, peso de pintinho no nascimento, relação entre peso de ovo e pintinho, fertilidade, taxa de eclosão e eclodibilidade.

Ovos não eclodidos foram submetidos a embriodiagnóstico e classificados em porcentagem como mortalidade precoce (1-7 d), média (8-14 d) e tardia (15-21 d, incluindo bicados). Após o nascimento, sexagem por meio do método de diferença do crescimento das penas das asas, dez pintinhos machos por tratamento foram utilizados para avaliar peso de fígado, trato gastrointestinal e saco vitelínico.

2.4 Desempenho da progênie

Foram avaliados o desempenho da progênie nas três incubações (48^a, 57^a e 61^a semana de idade das fêmeas).

Para o desempenho zootécnico foram avaliados os períodos de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade. Durante cada período experimental foram pesadas as ofertas e as sobras de ração, sendo devidamente anotados em planilhas para controle do consumo de ração. Ao final de cada período experimental as aves foram pesadas para determinação de ganho de peso e conversão alimentar corrigida para mortalidade.

Os pintinhos advindos das incubações foram alojados em gaiolas metálicas com dimensões 0,98 x 0,90 x 0,50 (0,88 m²), com densidade de 14,7 aves/m². Os pintinhos receberam água e ração a vontade em bebedouros e comedouros do tipo calha. Durante os 10 primeiros dias foi utilizada luz contínua (24 h) e após esse período foi utilizado programa de luz com 9 horas de escuro por dia. O aquecimento foi realizado por meio de aquecedores elétricos e a ventilação natural feita com abertura e fechamento de janelas. A temperatura foi mantida de acordo com o sugerido pelo manual da linhagem (COBB, 2013).

Todas as aves receberam a mesma dieta durante o período experimental, formulada com fitase, segundo recomendações de Rostagno et al. (2011) para frangos de corte de desempenho superior.

Em cada teste de desempenho foram 12 repetições por tratamento, sendo seis repetições de machos e seis de fêmeas, com 13 pintinhos por unidade experimental.

2.5 Análise estatística

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2, com duas doses de fitase (500 ou 1500 FTU/kg) e duas granulometrias de calcário (DGM de 419 ou 2661 µm).

As variáveis foram analisadas utilizando a idade das fêmeas em cada coleta de ovos para incubação e teste de progênie como bloco, formando três blocos. Na incubação foram por tratamento, 30 repetições de 27 ovos. Para teste de progênie foram 36 repetições de 13 pintinhos em cada unidade experimental.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e se significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1 Variáveis de incubação

Houve interação para peso de ovo e saco vitelínico ($P<0,05$). (Tabela 2). Com calcário fino na dieta, as fêmeas que receberam a dieta com a maior dose de fitase produziram ovos mais leves comparado as que receberam dose normal.

Quando utilizado supedosing de fitase na dieta, as fêmeas do tratamento com calcário fino apresentaram menor peso de ovo e saco vitelínico em relação as aves que consumiram calcário grosso.

Tabela 2. Perda de peso na incubação (PPI), peso de ovo (PO), pintinho (PP), relação entre peso de ovo e pintinho (RE), peso de fígado (PF), trato gastrointestinal (PT) e saco vitelínico (SV) da incubação de ovos de matrizes pesadas recebendo dietas com dois DGM de calcário (Fino 419 ou grosso 2661 μ m) e doses de fitase (500 ou 1500 FTU/Kg).

	PPI (%)	PO (g)	PP (g)	RE (%)	PF (g)	PT (g)	SV (g)
F500	9,97	72,43 a	50,84	70,21	1,29	2,60	9,28 ab
G500	10,47	72,26 a	51,22	70,86	1,39	2,77	7,91 ab
F1500	10,30	71,02 b	50,35	71,91	1,35	2,89	7,79 b
G1500	10,30	72,39 a	51,15	70,66	1,34	2,73	9,72 a
Fino	10,14	71,72	50,60	70,56	1,32	2,74	8,54
Grosso	10,38	72,33	51,18	70,76	1,36	2,75	8,81
500	10,22	72,35	51,03	70,53	1,34	2,68	8,60
1500	10,30	71,71	50,75	71,79	1,34	2,81	8,75
Probabilidades							
DGM	0,222	0,002	0,132	0,690	0,214	0,949	0,582
Fitase	0,675	0,001	0,476	0,618	0,855	0,197	0,748
D x F	0,213	0,001*	0,597	0,372	0,152	0,084	0,001*
CV (%)	10,81	1,35	4,17	3,93	14,91	18,72	31,19

CV – Coeficiente de variação

* Significativo para ANOVA ($p<0,05$)

Não houve interação significativa para nenhuma das variáveis de incubação (Tabela 3). A fertilidade e a taxa de eclosão do grupo alimentado com a maior dose de fitase foi melhor comparado as aves que receberam a dose normal ($P<0,05$).

Houve maior incidência de mortalidade tardia dos embriões de ovos de fêmeas que receberam calcário grosso na dieta ($P<0,05$).

Tabela 3. Fertilidade (Fert), taxa de eclosão (TE), eclodibilidade (Eclo) e mortalidade precoce (MP), média (MM) e tardia (MT) da incubação de ovos de matrizes pesadas recebendo dietas com dois DGM de calcário (Fino 419 ou grosso 2661 μm) e doses de fitase (500 ou 1500 FTU/Kg).

	Fert (%)	TE (%)	Eclo (%)	MP (%)	MM (%)	MT (%)
F500	81,46	69,72	86,26	4,29	0,38	5,89
G500	82,65	68,28	82,49	3,65	0,27	13,47
F1500	88,34	75,38	85,30	5,32	0,25	8,80
G1500	85,57	72,46	84,71	2,91	0,55	11,73
Fino	84,90	72,55	85,78	4,80	0,32	7,35
Grosso	84,11	70,37	83,60	3,28	0,41	12,60
500	82,06	69,00	84,37	3,97	0,33	9,68
1500	86,96	73,92	85,00	4,11	0,40	10,27
Probabilidades						
DGM	0,543	0,178	0,194	0,064	0,680	<0,001*
Fitase	0,001*	0,002*	0,707	0,858	0,740	0,679
D x F	0,131	0,645	0,344	0,282	0,372	0,103
CV (%)	8,46	12,30	10,84	110,24	340,14	77,61

CV – Coeficiente de variação

* Significativo para ANOVA ($p < 0,05$)

3.2 Desempenho da progênie

Não houve diferença no desempenho da progênie ($P > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Consumo de ração (CR, g), ganho de peso (GP, g) e taxa de conversão alimentar (CA, g/g) de pintinhos advindos da incubação de ovos de matrizes pesadas recebendo dietas com dois DGM de calcário (Fino 419 ou grosso 2661 μm) e doses de fitase (500 ou 1500 FTU/Kg).

Período	1 - 7 d			1 - 14 d			1 - 21 d		
	CR	GP	CA	CR	GP	CA	CR	GP	CA
F500	134	108	1,225	486	377	1,294	1023	737	1,375
G500	133	109	1,223	481	373	1,291	1013	734	1,381
F1500	132	110	1,205	483	378	1,280	1017	744	1,365
G1500	133	110	1,209	486	378	1,290	1015	741	1,366
Fino	133	109	1,215	484	377	1,287	1020	740	1,370
Grosso	133	109	1,216	483	376	1,291	1014	737	1,373
500	133	109	1,224	483	375	1,293	1018	735	1,378
1500	132	110	1,207	484	378	1,285	1016	743	1,366
Probabilidades									
DGM	0,915	0,821	0,929	0,862	0,751	0,711	0,587	0,700	0,708
Fitase	0,410	0,322	0,087	0,882	0,570	0,421	0,840	0,329	0,146
D x F	0,410	0,945	0,719	0,506	0,735	0,500	0,755	0,982	0,736
CV (%)	6,14	7,57	4,88	7,10	8,12	4,45	6,60	6,33	3,70

CV – Coeficiente de variação

4. DISCUSSÃO

Quando utilizado o calcário fino na dieta, as aves que receberam a maior dose de fitase produziram ovos com peso inferior comparado com aquelas que receberam dose normal da enzima. Ainda, com a maior dose de fitase na dieta, as fêmeas que receberam calcário fino apresentaram menor peso de ovo e saco vitelínico comparado às que receberam calcário grosso. Provavelmente o peso do saco vitelínico pós eclosão foi influenciado pelo peso de ovo, porém, essa variação não alterou o peso e rendimento de pintinho.

Em ambas situações descritas anteriormente, especulá-se que a granulometria fina teve maior influência na ação da fitase comparado a grossa, e de alguma forma afetou o peso de ovo. Um dos principais problemas nas dietas de fêmeas em postura é a alta quantidade de Ca, prejudicando a ação de altas doses de fitase (SKŘIVAN et al., 2018). O fornecimento de calcário grosso para fêmeas em postura, é realizado considerando que a solubilização do Ca no trato gastrointestinal será de maneira mais uniforme durante o dia e noite. O fitato pode se ligar com o cátion Ca^{2+} no intestino delgado, reduzindo a solubilidade e reduzindo o acesso da enzima a esse substrato, normalmente quando o pH é maior que 5 (DERSJANT-LI et al., 2014). Os altos níveis de Ca, devido a uma rápida solubilização, podem prejudicar o benefício da fitase (SOMMERFELD et al., 2018), e o calcário fino normalmente é solubilizado de maneira mais acelerada no trato gastrointestinal.

A casca está envolvida no processo de troca de gases entre o embrião e o ambiente. Foram obtidos no presente estudo valores de perda de peso durante a incubação entre 9,97 e 10,47%, abaixo do considerado ideal pelo manual da linhagem, próximo a 12% (COBB-VANTRESS, 2013). No entanto, não houve diferença estatística para essa variável, corroborando com Bueno et al., (2016) que não encontraram diferenças com ovos de matrizes pesadas de 74 a 83 semanas, alimentadas com quatro DGM de calcário (200, 1000, 2000 e 3000 μm). Porém, no presente estudo, ocorreu uma maior mortalidade tardia quando as fêmeas receberam o calcário grosso na dieta (12,60 vs 7,35 %). Grandes perdas de peso podem causar desidratação e alta mortalidade inicial durante a incubação, no entanto, perdas pequenas podem promover aumento na mortalidade embrionária

tardia devido ao acúmulo de água, e os embriões não são capazes de inflar seus pulmões (SANTOS et al., 2009). É possível que a granulometria mais grossa da fonte de Ca tenha afetado a casca de tal forma que prejudicou a eclosão dos pintinhos, considerando que animais que bicaram a casca e morreram foram classificados como mortalidade tardia.

Segundo Guo e Kim (2012) a melhora da qualidade da casca, devido o fonecimento de calcário grosso na dieta, pode ser resultado do aumento da massa da casca ou uma mudança da ultra-construção da casca, ou o mais provável seria por ambas situações ocorrendo concomitantemente. No entanto, não foram verificados benefícios da utilização de calcário grosso nas variáveis de incubação no presente estudo. Acredita-se que a melhor opção para beneficiar a qualidade da casca seria fornecer calcários contendo duas granulometrias distintas para as fêmeas, pela manhã o fino, disponibilizando Ca para finalizar a calcificação, enquanto pela tarde o grosso, auxiliando a formação durante a noite (MOLNÁR et al., 2017). É possível que melhores resultados fossem demonstrados no nosso estudo se houvesse a mistura de calcários na dieta, ao invés, de apenas incluir uma granulometria.

No presente estudo a maior dose (1500 FTU/Kg) de fitase na dieta, de machos e fêmeas, foi eficiente para melhorar a fertilidade e taxa de eclosão dos ovos das matrizes, com 48, 57 e 61 semanas de idade. Animais em crescimento recebendo maior dose de fitase na dieta mostram melhora na utilização de aminoácidos, energia e minerais da dieta (KIARIE et al., 2015), além da liberação do inositol (WALK et al., 2014). A redução das perdas endógenas da mucosa, devido a destruição do fitato, é umas das principais razões para a melhora da digestibilidade (COWIESON e RAVINDRAN, 2007). Esses são possíveis benefícios da supedosing de fitase para a melhora no aspecto reprodutivo das aves.

De acordo com Makker et al. (2009), o plasma seminal e os espermatozoides contêm enzimas e vitaminas antioxidantes que protegem a membrana espermática da peroxidação. A presença de inositol no epidídimo de suínos, sugerem que essa substância pode desempenhar um papel na maturação e proteção de esperma, atuando possivelmente como um antioxidante (STEWART et al., 2018). Segundo Lee et al. (2017) cerca de 30 a 35% do benefício de maiores doses de fitase (1500

FTU/Kg) para frangos de corte está relacionado ao inositol, e em trabalho de Sommerfeld et al. (2018) a suplementação de 1500 FTU/Kg de fitase aumentou a concentração de inositol no trato digestivo e no sangue de frangos. Acredita-se que a dose maior de fitase na dieta liberou mais inositol do fitato, e conseqüentemente, as aves absorveram mais desse composto, sendo um dos motivos da melhora da fertilidade. Devido a proporção de machos e fêmeas no acasalamento, imaginamos que os galos possuem grande contribuição na melhora dos índices reprodutivos. A dieta dos machos possuía pouco Ca comparado a das fêmeas, sendo plausível que a capacidade da fitase na destruição do fitato tenha sido superior.

Considerando o inositol como um composto antioxidante para o organismo, pode ser feito uma paralelo de seus benefícios com outros resultados na literatura. A suplementação de antioxidantes ocasiona efeito positivo na fertilidade de matrizes mais velhas, aumentando a capacidade das fêmeas na retenção dos espermatozoides nos túbulos de armazenamento do sistema reprodutivo (BRÉQUE et al., 2003). O estresse oxidativo pode diminuir a produtividade dos galos, no entanto, a suplementação de antioxidantes pode reduzir o impacto negativo na fertilidade (MIN et al., 2016).

A adição de um composto antioxidante natural (Gengibre - *Zingiber officinale*) melhorou algumas características seminais em galos (66 semanas de idade), sugerindo que o uso de antioxidantes tem potencial para atenuar a redução da subfertilidade em machos de matrizes pesadas em final de produção (AKHLAGHI et al., 2011).

Outro ponto interessante em relação a fitase, é que alguns minerais liberados com a maior dose da enzima, devido a destruição do fitato, podem auxiliar o sistema antioxidante, sendo exemplos disso, o zinco (Zn), selênio (Se), ferro (Fe) e mangânes (Mn). A melhor absorção desses minerais pelas aves pode ser um dos fatores que beneficiaram a capacidade reprodutiva das matrizes.

A adição de antioxidantes na dieta melhora a resposta imune de frangos (KARADAS et al., 2016), e Saleh et al. (2018) sugerem que o Zn tem esses efeitos positivos. Em trabalho de Sharideh et al. (2016) a inclusão de Zn (30, 60, 90 e 120 mg/Kg) e fitase (0 ou 300 U/Kg) na dieta das fêmeas de matrizes pesadas, melhorou a fertilidade no período de 66 a 71 semanas de idade. Segundo Amen & Al-Daraji

(2011), a adição de Zn na dieta (de 50 a 100 mg/kg) pode melhorar o desempenho reprodutivo de matrizes pesadas, baseando-se nos resultados que a inclusão desse mineral aumentou a concentração de testosterona no sangue dos machos e estrogênio e progesterona no das fêmeas. Até 850 FTU/Kg de fitase na dieta, a suplementação de 1 mg de Zn, na forma de sulfato, pode ser compensada por uma inclusão de 100 FTU/Kg de fitase para frangos de corte (JONDREVILLE et al., 2007). É plausível que a maior dose de fitase tenha ocasionado um melhor aproveitamento do Zn da dieta.

O Se, outro mineral liberado pela ação da fitase, é essencial para manter o sistema antioxidante, compondo a enzima glutathione peroxidase (ZELENKA et al., 2005). Em trabalho de Han et al. (2017) a adição de Se melhorou o status antioxidante de poedeiras. Abbasi et al. (2015) verificaram que a adição de fitase aumentou a concentração de Fe no sangue e na gema dos ovos de poedeiras entre 62 e 68 semanas de idade, possivelmente aumentando a disponibilidade das reservas de Fe para os pintinhos. Segundo Zhu et al. (2015), a suplementação de Mn (120 mg/Kg) em dietas para matrizes pesadas, beneficia o sistema antioxidante em aves submetidas a estresse por calor.

Os trabalhos envolvendo DGM do calcário para matrizes pesadas em relação a progênie são escassos, e não foram encontrados estudos com doses maiores de fitase para matrizes pesadas envolvendo o desempenho da progênie. No presente estudo não houve influência do calcário na alimentação das fêmeas sobre o desempenho da progênie, e resultado semelhante foi encontrado por Bueno et al. (2016), que não encontraram diferenças com pintinhos advindos de matrizes pesadas alimentadas com quatro DGM de calcário (200, 1000, 2000 e 3000 μm).

Os benefícios da redução do efeito anti qualitativo do fitato, aumento da digestibilidade de minerais e outros nutrientes, além da liberação do inositol, são aspectos que podem justificar a melhora na fertilidade no presente estudo.

5. CONCLUSÃO

A diferença de granulometria do calcário (419 ou 2661 μm) na dieta para as fêmeas e a inclusão de fitase não influencia o desempenho da progênie. A maior

dose de fitase (1500 FTU/Kg) na dieta das matrizes pesadas, para machos e fêmeas, é eficiente em melhorar a fertilidade e taxa de eclosão dos ovos.

6. REFERÊNCIAS

ABBASI, M.; ZAGHARI, M.; GANJKHANLO, M.; KHALAJI, S. Is dietary iron requirement of broiler breeder hens at the late stage of production cycle influenced by phytase supplementation? **Journal of Applied Animal Research**, v.43, p.166-176, 2015.

AKHLAGHI, A.; AHANGARI, Y. J.; NAVIDSHAD, B.; PIRSARAEI, Z. A.; ZHANDI, M.; DELDAR, H.; REZVANI, M. R.; DADPASAND, M.; HASHEMI, S. R.; POURESLAMI, R.; PEEBLES, E. D. Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). **Poultry Science**, v.93, p.1236–1243, 2011.

AMEN, M. H. M.; AL-DARAJI, H. J. Influence of Dietary Supplementation with Zinc on Sex Hormones Concentrations of Broiler Breeder Chickens. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.10, p.1089-1093, 2011.

BUENO, I. J. M.; SUREK, D.; ROCHA, C.; SCHRAMM, V. G.; MURAMATSU, K.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A. Effects of different limestone particle sizes in the diet of broiler breeders post molting on their performance, egg quality, incubation results, and pre-starter performance of their progeny. **Poultry Science**, v.95, p.860-866, 2016.

BRÉQUE, C.; SURAI, P.; BRILLARD, J. Roles of Antioxidants on Prolonged Storage of Avian Spermatozoa In Vivo and In Vitro. **Molecular Reproduction and Development**, v.66, p.314-323, 2003.

COBB. 2013. Cobb 500 Broiler: Broiler performance and nutrition supplement, Cobb-Vantress Inc., Siloam Springs, AR.

COBB-VANTRESS. 2016. Guia de Manejo de Matrizes Cobb. Cobb-Vantress Inc., Siloam Springs, AR.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Supplementation of Corn–Soy-Based Diets with an *Escherichia coli*-Derived Phytase: Effects on Broiler Chick Performance and the Digestibility of Amino Acids and Metabolizability of Minerals and Energy. **Poultry Science**, v.85, p.1389-1397, 2016.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.745-752, 2007.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, p.878-896, 2014.

EKMAY, R. D.; COON C. N. The Effect of Limestone Particle Size on the Performance of Three Broiler Breeder Purelines. **International Journal of Poultry Science**, v.9, p.1038-1042, 2010.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. An Examination of the P Requirements of Broiler Breeders for Performance, Progeny Quality and P Balance 2. Ca Particle Size. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.760-765, 2011.

GUO, X. Y.; KIM, I. H. Impacts of Limestone Multi-particle Size on Production Performance, Egg Shell Quality, and Egg Quality in Laying Hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p.839-844, 2012.

HAN, X. J.; QIN, P.; LI, W. X.; MA, Q. G.; JI, C.; ZHANG, J. Y.; ZHAO, L. H. Effect of sodium selenite and selenium yeast on performance, egg quality, antioxidant capacity, and selenium deposition of laying hens. **Poultry Science**, v.96, p.3973-3980, 2017.

JONDREVILLE, C.; LESCOAT, P.; MAGNIN, M.; FEUERSTEIN, D.; GRUENBERG, B.; NYS, Y. Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soybean meal diets for chickens. **Animal**, v.1, p.804-811, 2007.

KARADAS, F.; ERDOGAN, S.; KOR, D.; OTO, G.; ULUMAN, M. The Effects of different Types of Antioxidants (Se, Vitamin E and Carotenoids) in Broiler Diets on the Growth Performance, Skin Pigmentation and Liver and Plasma Antioxidant Concentrations. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.18, p.101-106, 2016.

KIARIE, E.; WOYENGO, T.; NYACHOTI, C. M. Efficacy of New 6-Phytase from *Buttiauxella* spp. on Growth Performance and Nutrient Retention in Broiler Chickens Fed Corn Soybean Meal-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.28, p.1479-1487, 2015.

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

KIM, S. W.; LI, W.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, v.0, p.1-9, 2018.

KUSSAKAWA, K. C. K.; MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Combinações de fontes de cálcio em rações de poedeiras na fase final de produção após muda forçada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.572-578, 1998.

- LEE, S. A.; NAGALAKSHMI, D.; RAJU, M. V. L. N.; RAMA RAO, S. V.; BEDFORD, M. R. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralisation in broilers. **Animal Nutrition**, v.3, p.247-251, 2017.
- MAKKER, K.; AGARWAL, A.; SHARMA, R. Oxidative stress & male infertility. **Indian Journal of Medical Research**, v.129, p.357-367, 2009.
- MANANGI, M. K.; COON, C. N. Phytate Phosphorus Hydrolysis in Broilers in Response to Dietary Phytase, Calcium, and Phosphorus Concentrations. **Poultry Science**, v.87, p.1577-1586, 2008.
- MOLNÁR, A.; MAERTENS, L.; AMPE, B.; BUYSE, J.; ZOONS, J.; DELEZIE, E. Supplementation of fine and coarse limestone in different ratios in a split feeding system: Effects on performance, egg quality, and bone strength in old laying hens. **Poultry Science**, v.96, p.1659-1671, 2017.
- NARUSHIN, V. G.; ROMANOV, M. N. Egg physical characteristics and hatchability. **World Poultry Science Journal**, v.58, p.297-303, 2002.
- 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 de aves e suínos**. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, p.252, 2011.
- SALEH, A. A.; RAGAB, M. M.; AHMED, E. A. M.; ABUDABOS, A. M.; EBEID, T. A. Effect of dietary zinc-methionine supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative properties and immune response in broiler chickens under high ambient temperature. **Journal of Applied Animal Research**, v.46, p.820-827. 2018.
- SANTOS, J. E. C.; GOMES, F. S. G.; BORGES, G. L. F. N.; SILVA, P. L. S.; CAMPOS, E. J.; FERNANDES, E. A.; GUIMARÃES, E. C. Efeito da linhagem e da idade das matrizes na perda de peso dos ovos e no peso embrionário durante a incubação artificial. **Bioscience Journal**, v.25, p.163-169, 2009.
- SHARIDEH, H.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; AKHLAGHI, A. Dietary Zinc Oxide and 6-Phytase Effects on Fertility Rate in Old Broiler Breeder Hens. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.18, p.327-336, 2016.
- SHIRLEY, R. B.; EDWARDS JR, H. M. Graded Levels of Phytase Past Industry Standards Improves Broiler Performance. **Poultry Science**, v.82, p.671-680, 2003.
- SKŘIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. Negative Effect of Phytase Superdosing in Laying Hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.63, p.182-187. 2018.

SOMMERFELD, V.; KUNZEL, S.; SCHOLLENBERGER, M.; KUHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.920-929, 2018.

STEWART, K. R.; BRADLEY, C. L.; WILCOCK, P.; DOMINGUES, F.; KLEVE-FELD, M.; HUNDLEY, J.; CABEZÓN, F. A. Superdosing phytase fed to mature boars improves semen concentration and reproductive efficiency. **The Professional Animal Scientist**, v.34, p.95-102, 2018.

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

ZANOTTO, D. L.; BELLAVÉ, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA. (Comunicado Técnico, 215), 1996.

ZELENKA, J.; FAJMONOVA, E. Effect of Age on Utilization of Selenium by Chickens. **Poultry Science**, v.84, p.543-546, 2005.

ZHANG, B.; COON, C. N. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro in vivo, gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**, v.76, p.1702-1706, 1997.

ZHU, Y. W.; LU, L.; LI, W. X.; ZHANG, L. Y.; LI, C.; LIN, X.; LIU, H. C.; ODLE, J.; LUO, X. G. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expression levels of heat-shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. **British Journal of Nutrition**, v.114, p.1965-1974, 2015.

CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS

De uma maneira geral as pesquisas envolvendo matrizes pesadas são reduzidas em comparação a frangos de corte e poedeiras, principalmente devido a custos, tempo de experimentação e instalações. Tornando-se mais restritivas quando existe a avaliação do processo de incubação e o desempenho da progênie.

Considerando a inclusão de apenas calcário de granulometria grossa na dieta para matrizes em produção, não pode ser garantido a melhora nos índices produtivos. No presente estudo, não houve diferença no desempenho produtivo e qualidade de ovos das fêmeas alimentadas com os diferentes calcários, apesar de na maioria dos estudos consultados o calcário grosso ser mais benéfico. No entanto, a utilização de dois calcários na mesma dieta, um de granulometria grossa e outro fina, parece ser a melhor opção para manter a qualidade da produção de ovos. Também é necessário encontrar uma maneira de considerar a solubilidade da fonte de cálcio, e como isso pode ser aplicado na formulação das dietas.

Outro fator importante é compreender como a granulometria do calcário pode afetar, além do aproveitamento do cálcio, o processo de digestão de toda a dieta. Alterações de pH podem influenciar a digestibilidade dos nutrientes e as ações enzimáticas. No caso das enzimas, a fitase se mostra a mais importante, devido ao seu uso ser mais difundido na nutrição animal. Considerando o nosso estudo, a granulometria fina do calcário parece ter uma maior influência na ação da fitase.

A fitase pode ser considerada um ingrediente presente em quase todas as dietas para aves feitas pelas agroindústrias brasileiras. Mesmo assim, ainda existem dúvidas para inclusões da enzima, além de apenas a valorização para cálcio e fósforo.

A utilização de maiores doses de fitase tem ganhado espaço nas pesquisas por seus possíveis benefícios para as aves de produção, com a idéia de quanto maior a destruição do fitato maiores podem ser as respostas esperadas. A redução do efeito anti qualitativo, maior digestibilidade de minerais e liberação do inositol são os principais pontos positivos.

Para matrizes pesadas a fertilidade é um ponto crucial na produção, tendo relação direta com a quantidade de pintinhos que o incubatório pode produzir. A

melhora da fertilidade e taxa de eclosão com a utilização de maior dose de fitase no presente estudo, é um resultado muito relevante do ponto de vista prático. Pode ser uma alternativa viável na produção de pintinhos, considerando o retorno econômico, melhorando os índices reprodutivos, principalmente com matrizes em final de produção.

É relevante determinar o efeito da dose de fitase separadamente para machos e fêmeas na questão reprodutiva, além dos resultados em conjunto. Também é necessário avaliar se existe influência da inclusão de fitase na qualidade dos ovos, principalmente na incidência de ovos sujos, e se isso pode ser corrigido com alterações na matriz nutricional da enzima.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, M.; ZAGHARI, M.; GANJKHANLO, M.; KHALAJI, S. Is dietary iron requirement of broiler breeder hens at the late stage of production cycle influenced by phytase supplementation? **Journal of Applied Animal Research**, v.43, p.166-176, 2015.
- AJAKAIYE, A.; ATTEH, J. O.; LEESON, S. Effects of calcium source, particle size and time on in-vitro calcium solubility of some indigenous Nigerian mineral ingredients for poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.65, p.293-298, 1997.
- AKHLAGHI, A.; AHANGARI, Y. J.; NAVIDSHAD, B.; PIRSARAEI, Z. A.; ZHANDI, M.; DELDAR, H.; REZVANI, M. R.; DADPASAND, M.; HASHEMI, S. R.; POURESLAMI, R.; PEEBLES, E. D. Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). **Poultry Science**, v.93, p.1236–1243, 2011.
- AL-MASRI, M. R. Absorption and endogenous excretion of phosphorus in growing broiler chicks, as influenced by calcium and phosphorus ratios in feed. **British Journal of Nutrition**, v.74, p.407-415, 1995.
- ALVES, E.L.; TEIXEIRA, A.S.; BERTECHINI, A.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, A. I. G. Efeito dos níveis de cálcio em duas fontes sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, p.1305-1312, 2002.
- AMEN, M. H. M.; AL-DARAJI, H. J. Influence of Dietary Supplementation with Zinc on Sex Hormones Concentrations of Broiler Breeder Chickens. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.10, p.1089-1093, 2011.
- AMERAH, A.M.; PLUMSTEAD, P. W.; BARNARD, L. P.; KUMAR, A. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. **Poultry Science**, v.93, p.906-915, 2014.
- ANDI, M. A.; SHIVAZAD, M.; POURBAKHS, S. A.; AFSHAR, M.; ROKNI, H.; SHIRI, N. E.; MOHAMMADI, A.; SALAHI, Z. Effects of Vitamin E in Broiler Breeder Diet on Hatchability, Egg Quality and Breeder and Day Old Chick Immunity. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.9, p.789-794, 2006.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MORELA, P. C. H.; RAVINDRAN. G.; COWIESON, A. J. Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.224, p.39–45, 2017.

ATIA, F. A.; WAIBEL, P. E.; HERMES, I.; CARLSON, C. W.; WALSER, M. M. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. **Poultry Science**, v.79, p.231-239, 2000.

BEESON, L. A.; WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; OLUKOSI, O. A. Hydrolysis of phytate to its lower esters can influence the growth performance and nutrient utilization of broilers with regular or super doses of phytase. **Poultry Science**, v. 96, p.2243-2253, 2017.

BERRY, W. D.; HESS, J. B.; LIEN, R. J.; ROLAND, D. A. Egg Production, Fertility, and Hatchability of Breeder Hens Receiving Dietary Phytase. **Journal Applied of Poultry Research**, v.12, p.264-270, 2003.

BRÉQUE, C.; SURAI, P.; BRILLARD, J. Roles of Antioxidants on Prolonged Storage of Avian Spermatozoa In Vivo and In Vitro. **Molecular Reproduction and Development**, v.66, p.314-323, 2003.

BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN VOLTZ, A. H.; RYCHEN, G.; SCHULZE, J.; SIMOES NUNES, C. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilisation in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **British Poultry Science**, v.35, p.273-280, 1994.

BUENO, I. J. M.; SUREK, D.; ROCHA, C.; SCHRAMM, V. G.; MURAMATSU, K.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A. Effects of different limestone particle sizes in the diet of broiler breeders post molting on their performance, egg quality, incubation results, and pre-starter performance of their progeny. **Poultry Science**, v.95, p.860-866, 2016.

COBB. 2013. Cobb 500 Broiler: Broiler performance and nutrition supplement, Cobb-Vantress Inc., Siloam Springs, AR.

COBB-VANTRESS. 2016. Guia de Manejo de Matrizes Cobb. Cobb-Vantress, Siloam Springs, AR.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Supplementation of Corn–Soy-Based Diets with a *Escherichia coli*-Derived Phytase: Effects on Broiler Chick Performance and the Digestibility of Amino Acids and Metabolizability of Minerals and Energy. **Poultry Science**, v.85, p.1389-1397, 2016.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.745-752, 2007.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, p.878-896, 2014.

DRIVER, J. P.; PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I.; EDWARDS, H. M. Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficacy in broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p.1406-1417, 2005.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. The Effect of Limestone Particle Size on the Performance of Three Broiler Breeder Purelines. **International Journal of Poultry Science**, v.9, p.1038-1042, 2010.

EKMAY, R. D.; COON, C. N. An Examination of the P Requirements of Broiler Breeders for Performance, Progeny Quality and P Balance 2. Ca Particle Size. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.760-765, 2011.

ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVAN, M.; SKŘIVANOVÁ, E.; BUBANCOVÁ, I.; ČERMÁK, L.; VLČKOVÁ, J. Effects of a low-phosphorus diet and exogenous phytase on performance, egg quality, and bacterial colonisation and digestibility of minerals in the digestive tract of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.60, p.542–549, 2015.

ETCHES, R. J. **Reproduction in poultry**. Reproducción aviar. p.348, 1998.

FAURE, M.; GUIBERT, E.; CROCHET, S.; CHARTIN, P.; BRILLARD, J. P.; COLLIN, A.; FROMENT, P. Differential proliferation and metabolic activity of Sertoli cells in the testes of broiler and layer breeder chickens. **Poultry Science**, v.96, p.2459-2470, 2017.

GILBERT, A. B. Calcium and reproductive function in the hen. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.42, p.195-212, 1983.

GUINOTTE, F.; GAUTRON, J.; NYS, Y. Calcium solubilization and retention in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus domesticus*) as a function of gastric acid secretion inhibition and of calcium carbonate particle size. **British Journal of Nutrition**, v.73, p.125-139, 1995.

GUO, X. Y.; KIM, I. H. Impacts of Limestone Multi-particle Size on Production Performance, Egg Shell Quality, and Egg Quality in Laying Hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p.839-844, 2012.

HAMDI, M.; SOLÀ-ORIOLO, D.; DAVIN, R.; PEREZ, J. F. Calcium sources and their interaction with the different levels of non-phytate phosphorus affect performance and bone mineralization in broiler chickens. **Poultry Science**, v.0, p.1-8, 2015.

HAN, X. J.; QIN, P.; LI, W. X.; MA, Q. G.; JI, C.; ZHANG, J. Y.; ZHAO, L. H. Effect of sodium selenite and selenium yeast on performance, egg quality, antioxidant capacity, and selenium deposition of laying hens. **Poultry Science**, v.96, p.3973-3980, 2017.

HURWITZ, S.; A. BAR. Calcium and phosphorus interrelationships in the intestine of the fowl. **Journal of Nutrition**, v.101, p.677-685, 1971.

HURWITZ, S.; A. BAR. Relation between the lumen-blood electrochemical potential difference of calcium, calcium absorption and calcium-binding protein in the intestine of the fowl. **Journal of Nutrition**, v.99, p.217-224, 1969.

HURWITZ, S.; FISHMAN, S.; TALPAZ, H. Calcium Dynamics: A Model System Approach. **American Institute of Nutrition**, 1987.

JONDREVILLE, C.; LESCOAT, P.; MAGNIN, M.; FEUERSTEIN, D.; GRUENBERG, B.; NYS, Y. Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soya-bean meal diets for chickens. **Animal**, v.1, p.804-811, 2007.

KARADAS, F.; ERDOGAN, S.; KOR, D.; OTO, G.; ULUMAN, M. The Effects of different Types of Antioxidants (Se, Vitamin E and Carotenoids) in Broiler Diets on the Growth Performance, Skin Pigmentation and Liver and Plasma Antioxidant Concentrations. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.18, p.101-106, 2016.

KARIMI, A.; COTO, C.; MUSSINI, F.; GOODGAME, S.; LU, C.; YUAN, J.; BEDFORD, M. R.; WALDROUP, P. W. Interactions between phytase and xylanase enzymes in male broiler chicks fed phosphorus-deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science**, v.92, p.1818-1823, 2013.

KARIMI, A.; BEDFORD, M. R.; SADEGHI, G. H.; GHOBADI, Z. Influence of dietary non-phytate phosphorous levels and phytase supplementation on the performance and bone characteristics of broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.13, p.43-51, 2011.

KEBREAB, E.; HANSEN, A. V.; STRATHE, A. B. Animal production for efficient phosphate utilization: from optimized feed to high efficiency livestock. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, p.872-877, 2012.

KETTA, M.; TUMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, v.61, p.299-309, 2016.

KHAN, S. A.; CHAUDHRY, H. R.; BUTT, Y. S.; JAMEEL, T.; AHMAD, F. The Effect of Phytase Enzyme on the Performance of Broiler Flock (A-Review). **Poultry Science Journal**, v.2, p.117-125, 2013.

KIARIE, E.; WOYENGO, T.; NYACHOTI, C. M. Efficacy of New 6-Phytase from *Buttiauxella* spp. on Growth Performance and Nutrient Retention in Broiler Chickens Fed Corn Soybean Meal-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.28, p.1479-1487, 2015.

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

KIM, S. W.; LI, W.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, v.0, p.1-9, 2018.

KING'ORI, A. M. Review of the Factors That Influence Egg Fertility and Hatchability in Poultry. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.483-492, 2011.

KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M.; YI, Z.; RAVINDRAN, V. Response of broilers to graded levels of microbial phytase added to maize-soyabean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. **British Journal of Nutrition**, v.75, p.839-852, 1996.

KUSSAKAWA, K. C. K.; MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Combinações de fontes de cálcio em rações de poedeiras na fase final de produçãoe após muda forçada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.572-578, 1998.

LEE, S. A.; NAGALAKSHMI, D.; RAJU, M. V. L. N.; RAMA RAO, S. V.; BEDFORD, M. R. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralisation in broilers. **Animal Nutrition**, v.3, p.247-251, 2017.

LI, W.; ANGEL, R.; KIM, S. W.; BRADY, K.; YU, S.; PLUMSTEAD, P. W. Impacts of dietary calcium, phytate, and phytase on inositol hexakisphosphate degradation and inositol phosphate release in diferente segments of digestive tract of broilers. **Poultry Science**, v.96, p.3626-3637, 2017.

LICHOVNIKOVA, M. The effect of dietary calcium source, concentration and particle size on calcium retention, eggshell quality and overall calcium requirement in laying hens. **British Poultry Science**, v.48, p.71-75, 2007.

LIN, Y. F.; TSAI, H. L.; LEE, Y. C.; CHANG, S. J. Maternal Vitamin E Supplementation Affects the Antioxidant Capability and Oxidative Status of Hatching Chicks. **Journal of Nutrition**, v.135, p.2457-2461, 2005.

LOBAUGH, B.; JOSHUA, I. G.; MUELLER, W. J. Regulation of Calcium Appetite in Broiler Chickens. **Journal of Nutrition**, v.111, p. 298-306, 1981.

LONNERDAL, B. Dietary Factors Influencing Zinc Absorption. **Journal of Nutrition**, v.130, p.1378-1383, 2000.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Fisiologia das Aves Comerciais. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2017.

MACARI, M.; MENDES, A. A. Manejo de Matrizes de Corte. Campinas: FACTA, 2005.

MAKKER, K.; AGARWAL, A.; SHARMA, R. Oxidative stress & male infertility. **Indian Journal of Medical Research**, v.129, p.357-367, 2009.

MANANGI, M. K.; COON, C. N. Phytate Phosphorus Hydrolysis in Broilers in Response to Dietary Phytase, Calcium, and Phosphorus Concentrations. **Poultry Science**, v.87, p.1577-1586, 2008.

MIN, Y.; SUN, T.; NIU, Z.; LIU, F. Vitamin C and vitamin E supplementation alleviates oxidative stress induced by dexamethasone and improves fertility of breeder roosters. **Animal Reproduction Science**, v.171, p.1-6, 2016.

MOLNÁR, A.; MAERTENS, L.; AMPE, B.; BUYSE, J.; ZOONS, J.; DELEZIE, E. Supplementation of fine and coarse limestone in different ratios in a split feeding system: Effects on performance, egg quality, and bone strength in old laying hens. **Poultry Science**, v.96, p.1659-1671, 2017.

MURAKAMI, A. E.; SANTOS, T. C.; FERNANDES, J. I. M.; MARTINEZ, A. C.; BORTOLUZZI, C. Desempenho produtivo e reprodutivo de matrizes de frangos de corte com dietas suplementadas com vitamina E, óleo de soja e óleo de peixe. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v 37, p.285-294, 2013.

MUTUCUMARANA, R. K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal digestibility of phosphorus in some feed ingredients for broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v.92, p.5520-5529, 2014.

NARUSHIN, V. G.; ROMANOV, M. N. Egg physical characteristics and hatchability. **World Poultry Science Journal**, v.58, p.297-303, 2002.

NUSAIRAT, B.; RAMOS, M. A.; BRAKE, J. Research Article Effect of the Phytase Inclusion in Broiler Breeder Diets on Fecal and Egg Characteristics. **International Journal of Poultry Science**, v.17, p.1-7, 2017.

PELICIA, K.; GARCIA, E.; MÓRI, C.; FAITARONE, A. B. G.; SILVA, A. P.; MOLINO, A. B.; VERCESE, F.; BERTO, D. A. Calcium Levels and Limestone Particle Size in the Diet of Commercial Layers at the End of the First Production Cycle. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, p.87-94, 2009.

PTAK, A.; BEDFORD, M. R.; ŚWIĄTKIEWICZ, S.; ŻYŁA, K.; JÓZEFIAK, D. Phytase Modulates Ileal Microbiota and Enhances Growth Performance of the Broiler Chickens. **Plos One**, v.10, p.1-15, 2015.

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

RAO, K. S.; ROLAND, D. A. Influence of Dietary Calcium Level and Particle Size of Calcium Source on In Vivo Calcium Solubilization by Commercial Leghorn. **Poultry Science**, v.68, p.1499-1505, 1989.

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

RAVINDRAN., V.; CABAUG, S.; RAVINDRAN, G.; SELLE, P. H.; BRYDEN, W. L. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v.41, p.193-200, 2000.

ROCHA. J. S. R.; POMPEU, M. A.; BAIÃO, N. C.; LARA, L. J. C.; CARDEAL, P. C.; COSTA, B. V.; LEÃO, P. A.; LEITE, A. C.; VARGAS, L. R.; REZENDE, C. A.; WERNICK, B.; RUIZ, J .H. A. Avaliação da suplementação antioxidante na dieta para galos de matrizes pesadas em idade avançada sobre parâmetros reprodutivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, p.1177-1182, 2016.

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 de aves e suínos**. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, p.252, 2011.

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

SAAFA, H. M.; SERRANO, M. P.; VALENCIA, D. G.; FRIKHA, M.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; MATEOS, G. G. Productive Performance and Egg Quality of Brown Egg-Laying Hens in the Late Phase of Production as Influenced by Level and Source of Calcium in the Diet. **Poultry Science**, v.87, p.2043-2051, 2008.

SAFAMEHR, A; LANGILLE, M.; ANDERSON D. M.; MACISAAC, J. L. Evaluation of composition and in vitro solubility rate of by-products of the Atlantic shellfish industry as alternative calcium sources. **Journal Applied of Poultry Research**, v.22, p.529-538, 2013.

SALEH, A. A.; RAGAB, M. M.; AHMED, E. A. M.; ABUDABOS, A. M.; EBEID, T. A. Effect of dietary zinc-methionine supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative properties and immune response in broiler chickens under high ambient temperature. **Journal of Applied Animal Research**, v.46, p.820-827, 2018.

SANTOS, J. E. C.; GOMES, F. S. G.; BORGES, G. L. F. N.; SILVA, P. L. S.; CAMPOS, E. J.; FERNANDES, E. A.; GUIMARÃES, E. C. Efeito da linhagem e da idade das matrizes na perda de peso dos ovos e no peso embrionário durante a incubação artificial. **Bioscience Journal**, v.25, p.163-169, 2009.

SANTOS, T. T.; SRINONGKOTE, S.; BEDFORD, M. R.; WALK, C. L. Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.26, p.227-232. 2013.

SAUNDERS-BLADES, J. L.; MACISAAC, J. L.; KORVER, D. R.; ANDERSON, D. M. The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. **Poultry Science**, v.88, p.338-353, 2009.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1-41, 2007.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v.14, p.124-126, 2009.

SHARIDEH, H.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; AKHLAGHI, A. Dietary Zinc Oxide and 6-Phytase Effects on Fertility Rate in Old Broiler Breeder Hens. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.18, p.327-336, 2016.

SHIRLEY, R. B.; EDWARDS JR, H. M. Graded Levels of Phytase Past Industry Standards Improves Broiler Performance. **Poultry Science**, v.82, p.671-680, 2003.

SKŘIVAN, M.; ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVANOVÁ, V. Negative Effect of Phytase Superdosing in Laying Hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.63, p.182-187. 2018.

SOMMERFELD, V.; SCHOLLENBERGER, M.; KUHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.1177-1188, 2018^A.

SOMMERFELD, V.; KUNZEL, S.; SCHOLLENBERGER, M.; KUHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.920-929, 2018^B.

STEWART, K. R.; BRADLEY, C. L.; WILCOCK, P.; DOMINGUES, F.; KLEVE-FELD, M.; HUNDLEY, J.; CABEZÓN, F. A. Superdosing phytase fed to mature boars improves semen concentration and reproductive efficiency. **The Professional Animal Scientist**, v.34, p.95-102, 2018.

SUMMERS, J. D. Precision Phosphorus Nutrition. **Journal Applied of Poultry Research**, v.6, p.495-500, 1997.

SURAI, P. F. Natural antioxidants in Poultry nutrition: New developments In: **16TH European Symposium on Poultry Nutrition**, p.669-675, 2006.

SURAI, P. F.; SPARKS, N. H. C.; SPEAK, B. K. The role of antioxidants in reproduction and fertility of poultry. In: **XII European Poultry Conference**, Verona, Italy, 2006.

SWIATKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; JÓZEFIAK, D. Bone quality, selected blood variables and mineral retention in laying hens fed with different dietary concentration and source of calcium. **Livestock Science**, v.181, p.194-199, 2015.

TAMIM, N. M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.83, p.1358-1367, 2004.

TRUONG, H. H.; YU, S.; MOSS, A. F.; PARTRIDGE, G. G.; LIU, S. Y.; SELLE, P. H. Phytase inclusions of 500 and 2000 FTU/kg in maize-based broiler diets impact on growth performance, nutrient utilisation, digestive dynamics of starch, protein (N), sodium and IP6 phytate degradation in the gizzard and four small intestinal segments. **Animal Feed Science Technology**, v.223, p.13-22, 2017.

TRUONG, H. H.; YU, S.; PERON, A.; CADOGAN, D. J.; KHODDAMI, A.; ROBERTS, T. H.; LIU, S. Y.; SELLE, P. H. Phytase supplementation of maize-, sorghum- and wheat-based broiler diets with identified starch pasting properties influences phytate (IP6) and sodium jejunal and ileal digestibility. **Animal Feed Science Technology**, v.198, p.248-256, 2014.

URSO, U. R. A.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A.; BUENO, I. J. M.; SCHNEIDER, A. F.; SUREK, D.; ROCHA, C. Vitamin E and selenium in broiler breeder diets: Effect on live performance, hatching process, and chick quality. **Poultry Science**, v.94, p.976-983, 2015.

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

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; MCELROY, A. P. In vitro evaluation of limestone, dicalcium phosphate, and phytase on calcium and phosphorus solubility of corn and soybean meal. **Poultry Science**, v.91, p.674-682, 2012.

WANG, S.; CHEN, W.; ZHANG, H. X.; RUAN, D.; LIN, Y. C. Influence of particle size and calcium source on production performance, egg quality, and bone parameters in laying ducks. **Poultry Science**, v.93, p.2560-2566, 2014.

WIDEMAN, R. F. Renal Regulation of Avian Calcium and Phosphorus Metabolism. **The Journal of Nutrition**, v.117, p.808-815, 1987.

ZAKARIA, A. H.; PLUMSTEAD, P.W.; ROMERO-SANCHEZ, H.; LEKSRISOMPONG, N.; BRAKE, J. The effects of oviposition time on egg weight loss during storage and incubation, fertility, and hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v.88, p.2712-2717, 2009.

ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA. (Comunicado Técnico, 215), 1996.

ZELENKA, J.; FAJMONOVA, E. Effect of Age on Utilization of Selenium by Chickens. **Poultry Science**, v.84, p.543-546, 2005.

ZHANG, B.; COON, C. N. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro in vivo, gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**, v.76, p.1702-1706, 1997.

ZHU, Y. W.; LU, L.; LI, W. X.; ZHANG, L. Y.; LI, C.; LIN, X.; LIU, H. C.; ODLE, J.; LUO, X. G. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expression levels of heat-shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. **British Journal of Nutrition**, v.114, p.1965-1974, 2015.