

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - *CAMPUS* RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CELULASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE DE
UM A 21 DIAS DE IDADE

Autor: Francisco dos Santos Perim
Orientadora: Profa. Dra. Cibele Silva Minafra

Rio Verde – GO
julho – 2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
Elaborada por Izaura Ferreira Neta - Bibliotecária CRB1-2771**

P518c

Perim, Francisco dos Santos.

Celulase em rações para frangos de corte de um a 21 dias de idade / Francisco dos Santos Perim - 2014.

61f. : ils. figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cibele Silva Minafra.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, 2014.

Biografia.

Inclui índice de tabelas e figuras.

1. Aves de corte. 2. Rações para frangos. 3. Digestividade. I. Título. II. Autor. III. Orientador.

CDU: 636.5:636.086.7

CELULASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE DE UM A 21 DIAS DE IDADE

Autor: Francisco dos Santos Perim
Orientadora: Profa. Dra. Cibele Silva Minafra

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *campus* Rio Verde - Área de concentração Zootecnia.

Rio Verde - GO
julho – 2014

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CELULASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE DE
UM A 21 DIAS DE IDADE

Autor: Francisco dos Santos Perim
Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Cibele Silva Minafra

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração
Zootecnia – Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

Prof.^a Dr.^a Isabel Dias Carvalho
Avaliador externo
UFG/Goiânia

Pof. Dr. Carlos Frederico de Souza Castro
Avaliadora interna
IF Goiano/RV

Prof. Dra. Cibele Silva Minafra
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

À Josiane, minha esposa, todas as minhas conquistas têm muito de você. Juntos sempre fomos mais fortes e superamos todas as dificuldades que a vida nos apresentou. Esta dissertação também leva seu nome. Obrigada por estar ao meu lado, pelo amor, companheirismo, força, incentivo, dedicação e compreensão nos momentos mais difíceis, principalmente naqueles em que você ficou sozinha. Amo você.

Ao meu pai Julio César Perim, que foi o início de tudo, é meu porto seguro. Obrigado pelo apoio, amor, carinho, consolo e compreensão.

À minha mãe Maria Delfina dos Santos Perim, pelos ensinamentos e lições de vida. Apesar da distância sempre rezo para Deus em teu nome.

Aos meus irmãos Julio César e Julio Ricardo, obrigado pelo carinho de sempre, amizade e incentivo, mesmo morando tão longe.

À colega e sempre amiga Dênia, pelo apoio, auxílio e principalmente ensinamentos passados. Devo muito deste trabalho a você. Obrigado.

Aos colegas de trabalho, pelo apoio nos momentos difíceis e por me apoiarem sempre quando pensei em desistir.

E em especial, à minha orientadora Cibele Silva Minafra, pelos finais de semana em que se dedicou a passar conhecimento e foi paciente nas minhas ausências.

A Prof.^a Dr.^a Priscila Alonso, por disponibilizar o laboratório para realização das análises, em especial a Maria Siqueira, pela disposição que teve em me auxiliar.

“A mente humana é um grande teatro. Seu lugar não é na plateia, mas no palco, brilhando na sua inteligência, alegrando-se com suas vitórias, aprendendo com as suas derrotas e treinando para ser a cada dia, autor da sua história, líder de si mesmo.”

Augusto Cury

BIOGRAFIA DO AUTOR

Francisco dos Santos Perim, filho de Julio César Perim e Maria Delfina dos Santos Perim, nascido em São Luiz Gonzaga – RS, dia 08 de novembro de 1986. Iniciou sua formação profissional em 2006, no curso superior de Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria. Em 2012, iniciou o Mestrado em Zootecnia na área de Produção Animal pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde, concluindo no ano de 2014.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1 Introdução	1
2 Enzimas para frangos de corte	2
3 Celulose e a enzima celulase.....	3
4 Polissacarídeos não amiláceos	7
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1: Composição percentual e calculada das rações experimentais para diferentes fases de criação	18
TABELA 2: Média de temperatura e umidade, obtida durante o período experimental	21
TABELA 3: Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) entre um e sete dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase.....	22
TABELA 4: Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) entre oito e 14 dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase.....	23
TABELA 5: Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), e conversão alimentar (CA) entre um e 21 dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais e iniciais suplementadas com enzima celulase.....	4
TABELA 6: Determinação dos valores de CNMS (consumo de nitrogênio na matéria seca), NEXCMS (nitrogênio excretado na matéria seca), BN (Balanço de nitrogênio), DIGN (Nitrogênio digerível) e RETEN (retenção de nitrogênio), nos períodos avaliados.	4
TABELA 7: Peso relativo do fígado (FIG), peso do proventrículo + moela (PROMOELA), peso do pâncreas (PAN), peso do Intestino Grosso (IG), peso do Intestino Delgado (ID), comprimento do Trato gastrointestinal (TGIMET), peso do Trato gastrointestinal (TGIPESO) de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase em pó e líquida no período de um a 21 dias.	6
TABELA 8: Biometria relativa dos órgãos do trato digestório de frangos suplementados com enzima celulase em pó e líquida de 1 a 21 dias	28
TABELA 9: Média do peso absoluto do pâncreas nas diferentes fases avaliadas.	30

TABELA 10: Atividade da amilase pancreática nas diferentes fases avaliadas.....	30
TABELA 11: Peso médio absoluto do fígado para os diferentes tratamentos durante o período experimental	31
TABELA 12: Determinação das concentrações de proteína (Prot) e das enzimas fosfatase alcalina (FA), glutamato-oxalacetato transaminase (GOT) e glutamato-piruvato transaminase (GPT) de 1 a 21 dias	33
TABELA 13: Níveis séricos dos minerais presentes no soro durante o período experimental.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Mecanismo de ação das celulasas em seus locais de atuação.....	5

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

β	Beta
Cl	Cloro
Ca	Cálcio
FPase	Filter paper activity
g	Gramma
g/ave/dia	Gramma ave dia
g/mL	Grammas por mililitro
g/t	Grammas por tonelada
K	Potássio
Kg	Quilograma
Kg/kg	Kilograma por kilograma
L	Litro
m	Metro
Mcal	Milicalorias
mg	Miligramas
mm	Milímetro
N	Nitrogênio
P	Fósforo
PNA's	Polissacarídeos não amiláceos
Rpm	Rotações por minuto

RESUMO

Maneiras de melhorar o desempenho dos monogástricos e aproveitar ao máximo os ingredientes das rações têm sido estudadas, tendo como alternativa o uso de enzimas exógenas. A celulase é capaz de quebrar as ligações da celulose presentes nas plantas, liberando unidades de glicose e aumentando a energia das dietas. Foi realizado um experimento com 240 frangos de corte machos da linhagem Cobb-500® para avaliar os efeitos da adição de celulase comerciais em pó (500g/t e 1000g/t) e líquida (500mL/t) no período de um a 21 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, seis repetições e 10 aves por gaiola experimental. Os dados de desempenho e digestibilidade foram significativamente diferentes com suplementação da celulase. O peso relativo do intestino grosso no período entre um a sete dias teve aumento significativo quando foi adicionada celulase a 1000g/t. A atividade da amilase pancreática e peso absoluto do pâncreas e fígado não tiveram diferença significativa durante todo o período experimental. Entre oito e 14 dias, as aves que consumiram somente dieta basal obtiveram maiores níveis de proteína do fígado que os tratamentos com adição da enzima, porém não se mantiveram no período entre 15 e 21 dias, não sendo conclusivos para hepatotoxicidade com adição da celulase. Aos 21 dias para os parâmetros sanguíneos, as rações com adição da celulase foram significativamente iguais para os eletrólitos, verificando que independe das concentrações avaliadas e do tipo.

Palavras-chave: aves de corte, biometria, desempenho, digestibilidade, enzima, soro.

ABSTRACT

Ways to improve the performance of monogastric and get the most of feed ingredients have been studied, having as an alternative the use of exogenous enzymes. The cellulase is capable of breaking the bonds of the cellulose present in plants releasing glucose units and increasing energy diets. An experiment with 240 male broilers cut line was performed Cobb-500 ® was performed to evaluate the effects of the addition of powder (500g/t and 1000g/t) and liquid (500mL/t) commercial cellulase in the period of one to 21 days. The experimental design was completely randomized with four treatments and six replicates of 10 birds per cage. The performance data and digestibility data were significantly different with supplementation of cellulase. The relative weight of the large intestine in the period between one to seven days increased significantly when cellulase was added at 1000g/t. The activity of pancreatic amylase and absolute weight of the pancreas and liver showed no significant difference throughout the experimental period. Between eight and 14 days, the birds fed only basal diet had higher levels of liver protein than treatments with the addition of the enzyme, but did not remain in the period between 15 and 21 days, not being conclusive for hepatotoxicity with added enzymes. At 21 days for blood parameters, diets with addition of cellulase were significantly equal for the electrolytes, which is independent of the type and concentrations evaluated

Key words: broilers, biometrics, digestibility, enzyme, performance, serum.

INTRODUÇÃO GERAL

1 Introdução

O estudo das enzimas tem sido de interesse de vários pesquisadores, pois estes aditivos são incorporados nas rações dos animais com o propósito de melhorar a utilização dos nutrientes pouco disponíveis, proporcionando melhor desempenho das aves e, com isso, o aumento do sistema produtivo.

As enzimas exógenas vêm sendo estudadas a fim de melhorar a qualidade nutricional dos grãos com a degradação dos polissacarídeos estruturais e possibilitar a diminuição dos níveis nutricionais da ração com possíveis vantagens econômicas (PEREIRA et al., 2010).

As enzimas exógenas adicionadas às rações de animais visam quatro objetivos distintos, que são a remoção ou hidrólise de fatores antinutricionais; o aumento da digestibilidade dos nutrientes; a quebra dos polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) e a suplementação das enzimas endógenas GONZALES (2011).

Segundo MINAFRA et al. (2010) , o uso de aditivos na alimentação, como as enzimas exógenas, buscam melhorar os índices zootécnicos dos lotes, e já tem sido utilizado a algumas décadas.

Tem ocorrido um esforço concentrado para melhorar o valor nutritivo dos alimentos usando as enzimas exógenas, visto que o milho, o farelo de soja e outros ingredientes comumente utilizados em dietas de aves podem ser potencializados por meio da adição adequada de complexo multienzimático (SLOMINSKI, 2011).

Assim, as enzimas exógenas além de melhorar a eficiência de utilização dos alimentos, contribuem para melhor uso de ingredientes de baixo custo para a

alimentação animal, pois as mesmas contribuem para a diminuição da viscosidade da digesta, melhorando a ação das enzimas endógenas sobre os substratos específicos (RIBEIRO et al., 2011).

Dentre as enzimas, a celulase é uma enzima economicamente importante e é vendida em grande escala para diferentes processos como para utilização em rações animais.

O objetivo deste trabalho é avaliar a adição de celulases comerciais, em pó e líquida na alimentação de frangos de corte de um a 21 dias de idade em dietas compostas por milho e farelo de soja sobre desempenho, parâmetros sanguíneos e biometria dos órgãos digestivos e digestibilidade.

2. Enzimas para frangos de corte

As aves são as espécies que mais parecem se beneficiar do uso de enzimas exógenas, talvez por possuírem um sistema digestivo muito curto que não lhes permite tempo suficiente de digestão, contrariamente ao que acontece com os suínos (MAVROMICHALIS, 2012). Atualmente, a produção avícola utiliza as enzimas exógenas como componentes fundamentais das suas dietas. As mais utilizadas incluem as celulases, glucanases, xilanases, amilases, proteases e fitases (KATTAK et al., 2006; SLOMNINSKI, 2011).

Os conhecimentos existentes até então sobre o uso de enzimas ainda não definiram, os efeitos sobre a valoração real da energia desses ingredientes, bem como os efeitos associativos das diversas enzimas (CARVALHO, 2006)

Atualmente existem diversas maneiras de formular rações, sendo elas: atribuindo um valor energético a enzima e incluí-la na matriz nutricional como novo ingrediente; diminuindo as especificações energéticas da ração em função do cereal, e modificando o valor da energia metabolizável aparente (EMA) do cereal quando se adiciona enzima. Outra opção seria não realizar ajustes na formulação. Desta forma, a resposta da ave indicaria a efetividade da enzima (CAMPESTRINI et al., 2005).

As enzimas exógenas são apresentadas como capazes de disponibilizar maior quantidade de nutriente contido na ração, na tentativa de melhorar ou pelo menos manter o desempenho dos animais (SARTORI et al., 2007).

Segundo OSERA et al., (2008), as enzimas apresentam estruturas bastante frágeis, podendo ser desarranjadas, tornando-as ineficazes. Vários processos podem

contribuir para a ocorrência da desnaturação enzimática, como por exemplo, em situação de calor excessivo, presença de ácidos ou agentes oxidantes.

O uso de enzimas na avicultura apresenta resultados bastante imprevisíveis e por muitas vezes, contraditórios. Alguns fatores que propiciam todo esse desarranjo de informações podem ser descritos pelo desajuste de matrizes nutricionais dos ingredientes na formulação, pelas margens de segurança praticadas na indústria avícola (PENZ JR. e DARI, 2008) e limitação fisiológica das próprias aves em fases específicas (BRITO, 2008).

Várias razões explicam a utilização de enzimas exógenas como a complementação de enzimas endógenas ou de enzimas que não são sintetizadas pela ave, permitindo assim a utilização de ingredientes com aproveitamento limitado pela composição química (FISCHER et al., 2002; LIMA et al., 2008).

Exemplos de enzimas exógenas com eficiência comprovada são xilanase, arabinoxilanase, beta-glucanase e celulase (CHOCT, 1992; ODETALLAH et al., 2005; PEREZ-VENDREL et al., 2006).

Parte da ração utilizada na avicultura é destinada à produção de frangos para exportação. Por causa da proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento, somada a restrições no uso de farinhas de origem animal por alguns mercados, a busca por medidas capazes de manter a produtividade do setor é almejada a todo instante. O uso de enzimas exógenas para melhor o aproveitamento dos componentes da ração, representa, sem dúvida, uma das alternativas mais versáteis para auxiliar na melhoria de rentabilidade na avicultura.

3 Celulose e a enzima celulase

A celulose é o biopolímero mais abundante da Terra e está presente de 35 a 50 % na célula da planta (PALOHEIMO et al., 2010). A celulose tem elevado peso molecular é formada por mais de 10.000 unidades de D-glucose ligadas entre si através de ligações β - 1, 4.

É insolúvel em água graças à sua estrutura altamente ordenada, constituída por regiões cristalinas e outras amorfas. As regiões cristalinas se devem ao alinhamento paralelo das microfibrilhas de celulose, ligadas umas às outras por pontes de hidrogénio.

Nas regiões amorfas não se verifica o mesmo nível de organização (CHOCT,

1997; PALOHEIMO et al., 2010), permitindo uma maior facilidade na quebra destas ligações comparativamente às regiões cristalinas.

A celulose é o mais abundante nos lignocelulósicos, (AZEVEDO & ESPOSITO, 2010), e possuem acessibilidade limitada porque sua estrutura é coberta de hemicelulose e lignina (ROWELL, et al., 2005).

A enzima responsável pela degradação da celulose são as celulasas, estas quebram as ligações químicas da celulose liberando unidades de glicose (CASTRO & PEREIRA, 2010).

A celulose pode fornecer energia através da glicose, quando são hidrolisadas por enzimas celulolíticas (FIGUEIREDO & SALES, 2010).

Três componentes das celulasas são responsáveis pela quebra da celulose: β -1, 4 glucano glucanohidrolase (uma endoglucanase) que quebra de cadeia longa de celulose a fragmentos mais curtos; β -1, 4 glucana celobiohidrolase (um exoglucanase) atuando na redução final da cadeia de celulose; β -1, 4 glicosidase, o terceiro componente de quebra vínculo glucosídica de celobiose e celodextrinas para fornecer moléculas de glicose, que pode facilmente permear para dentro da célula (ACHARYA, S. & CHAUDHARY, 2012). Na Figura 1 é representado o mecanismo de ação das celulasas.

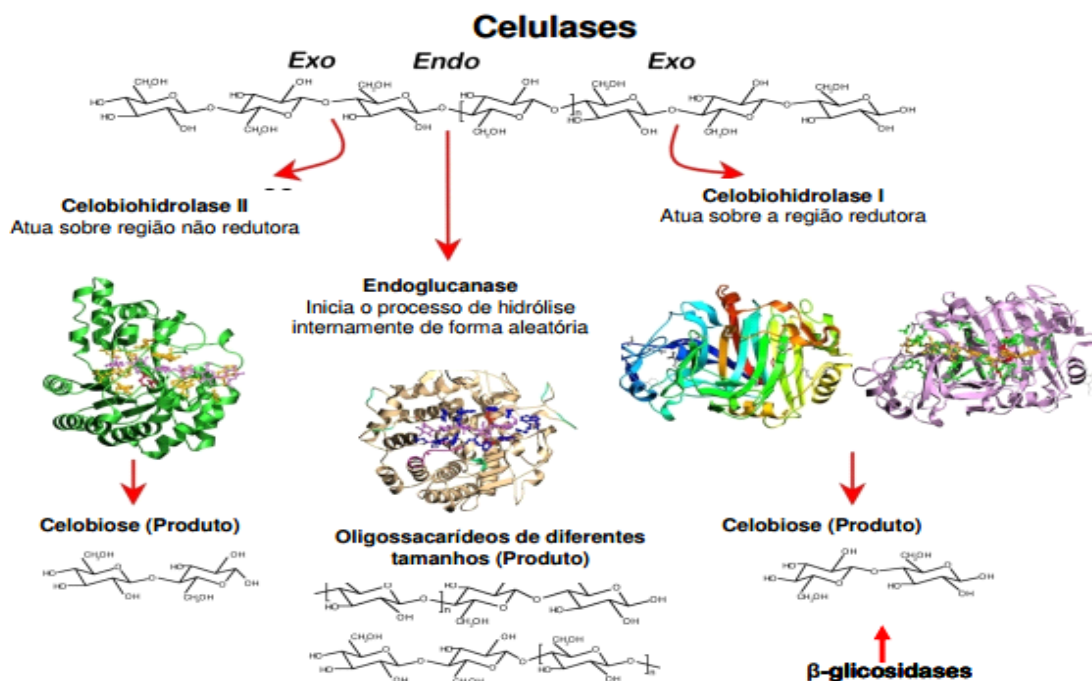
As endoglucanases (EnG) clivam ligações internas da fibra celulósica; exoglucanases (ExG) atuam na região externa na celulose as β -glicosidases (BG) quebram a ligação química existente entre as duas unidades de glicose que formam a celobiose, liberando unidades de glicose (CASTRO & PEREIRA, 2010).

A endoglucanase inicia a hidrólise da celulose, liberando oligopolissacarídeos de diferentes tamanho sendo redutor, atacando internamente na parte amorfa da fibra celulósica (CASTRO & PEREIRA, 2010), e tem sua atividade diminuída com o encurtamento da cadeia de celulose (PERCIVAL ZHANG et al, 2006).

As exoglucanases, também conhecidas como glucanohidrolase e celobiohidrolases, atuam em porções redutoras sendo capazes de atuar sobre a celulose microcristalina, encurtando cadeias do polissacarídeo. Essas enzimas geralmente sofrem inibição pelo seu produto de hidrólise (celobiose) (CASTRO & PEREIRA, 2010).

A β -glicosidase quebra a ligação química existente entre as duas unidades de glicose que formam a celobiose, liberando glicose livre. São necessárias para hidrolisar oligossacarídeos de cadeia curta e celobiose solúvel em glicose, também podem ser denominadas beta-D-glicosídeo glicohidrolases (LYND et al., 2005).

FIGURA 1. Mecanismo de ação das celulases em seus locais de atuação.



Fonte: SANTANA, (2010).

A atuação das celulases na degradação da celulose é afetada principalmente pela cristalinidade e porosidade da mesma além do conteúdo de lignina e hemicelulose (BALAT, 2008).

Na indústria de alimentação animal a utilização das celulases em conjunto com xinalases (monogástricos) possui papel importante na hidrólise de polissacarídeos não amiláceos (BHAT, 2000).

Para ACHARYA & CHAUDHARY (2012), as enzimas microbianas utilizadas na alimentação animal podem ser produzidas industrialmente por laboratórios especializados, por meio de culturas aeróbicas, sendo derivadas da fermentação fúngica, bacteriana e de leveduras. As indústrias comercializam complexos enzimáticos ou enzimas específicas que podem ser adicionados a matérias-primas ou suplementadas nas dietas, buscando melhorar o valor nutritivo.

4 Polissacarídeos não amiláceos

De acordo com TAVERNARI et al. (2008), os polissacarídeos não amiláceos (PNAs) são classificados de acordo com sua solubilidade, sendo classificados em PNAs solúveis em água (pectinas, gomas, arabinoxilanos, D-xilanos, β -glucanos, D-mananos, galactomananos, xiloglucanos, raminogalacturonas) e PNAs insolúveis em água (celuloses, ligninas e algumas hemiceluloses).

Os polissacarídeos não amídicos solúveis presentes nas dietas não são digeridos pelas enzimas endógenas das aves e interferem na utilização dos nutrientes pela formação de gel influenciando na viscosidade da digesta (TORRES, 2003). Este efeito deletério na digestão de nutrientes reduz a energia metabolizável da dieta, aumentando simultaneamente a taxa de conversão alimentar (WILLIAMS et al., 2009).

Devido à natureza de suas ligações, os PNAs são resistentes à hidrólise no trato gastrointestinal dos animais monogástricos. Estes compostos não causam sintomas de toxicidade, mas apresentam propriedades antinutritivas que podem afetar o desempenho dos animais (LECZNIESKI, 2001).

As propriedades antinutricionais estão principalmente nos PNAs solúveis. Os PNAs solúveis são capazes de se ligarem a grande quantidade de água, aumentando dessa forma, a viscosidade do fluido (ROSA & UTTPATEL, 2007), interferindo na difusão dos nutrientes e das enzimas digestivas e suas interações com a mucosa intestinal, tornando pobre a utilização dos demais nutrientes da ração (CHOCT, 2009).

Os polissacarídeos não amiláceos (PNAs) são macromoléculas de polímeros de açúcares simples (monossacarídeos), resistentes à hidrólise no trato gastrointestinal de animais monogástricos, por causa do tipo de ligações entre as unidades existentes de açúcares (IUPAC, 2011), e que podem ser potencialmente aproveitados pelo animal mediante a utilização de enzimas exógenas que hidrolisam estes compostos, aumentando o aproveitamento da energia presente nos alimentos (BUCHANAN et al., 2007).

Normalmente as rações fornecidas para frangos de corte são produzidas basicamente por milho e soja, sendo em média 60% de milho e 40% de soja. Em virtude de nem todo seu conteúdo nutricional ser usado em sua totalidade, este percentual de milho é considerado elevado para aves.

A inclusão de enzimas que degradem a celulose e o amido podem ser utilizados em rações com o intuito de aumentar o teor de energia das dietas e melhorar o desempenho das aves (OLIVEIRA & HACKENHAAR, 2008), aumentando a digestibilidade dos nutrientes da ração e degradando os PNA's presentes na parede celular dos vegetais (LEITE et al., 2008).

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, S.; CHAUDHARY, A. Effect of nutritional and environmental factors on cellulases activity by thermophilic bacteria isolated from hot spring. **Journal Science. and Ind. Res.**, 70, 142-148, 2012.
- AZEVEDO, J. L.; ESPOSITO, E. Fungos, uma introdução à biologia. **Bioquímica e Biotecnologia**, 2^a ed. Caxias do Sul: EDUCS. 2010. p. 535-556.
- BALAT, MUSTAFA; BALAT, HAVVA. A critical review of bio-diesel as a vehicular fuel. **Energy conversion and management**. v. 49, n. 10, p. 2727-2741, 2008.
- BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 5, p. 355-383, 2000.
- BRITO, J.A.G. Desenhos experimentais e recentes pesquisas com enzimas. **In: Prêmio José Maria Lamas da Silva, APINCO, 2008**. p.143.
- BUCHANAN, N. P.; KIMBLER, L. B.; PARSONS, A. S.; SEIDEL, G. E.; BRYAN, W. B.; FELTON, E. E. D.; MORITZ, J. S. The effects of nonstarch polysaccharide enzyme addition and dietary energy restriction on performance and carcass quality of organic broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v.16, p.1-12, 2007.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M., APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**. Viçosa, v.2, n.6, p.254-267, 2005.
- CARVALHO, J.C.C. Complexos enzimáticos em rações fareladas para frangos de corte. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Lavras, 2006.
- CASTRO, A. M; PERREIRA, N. Jr. Produção, propriedades e aplicações de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 33, p. 181-188, 2010.

- CHOCT, M.; ANNISON, G. Antinutritive effects of wheat pentosans in broiler-chickens: Role of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, v.33, p.821-834, 1992.
- CHOCT, Mingan. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed milling international**, v. 191, p. 13-26, 1997.
- CHOCT, M. Managing gut health through nutrition. **British poultry science**, v. 50, n. 1, p. 9-15, 2009.
- FIGUEIREDO, A. L.; SALES, M. R. Variáveis que influenciam a produção de celulasas e xilanase por espécies de *Aspergillus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1290-1296, 2010.
- FISCHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 402-410, 2002.
- GONZALES, E. Aditivos para rações de aves e suínos, 3.ed., Botucatu. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - **FMVZ-UNESP, p.183, 2011. Apostila.**
- IUPAC (INTERNATION UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY) Recommendations on organic & biochemical nomenclature, symbols & terminology, etc. [online] **Disponível em: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/>. Acesso em: 11 jul. 2013.**
- KATTAK, F.M., PASHA, T.N., HAYAT, Z., MAHMUD, A. Enzymes in poultry nutrition. *J. Anim. Poultry Science*. 16, 1-7, 2006.
- LECZNIESKI, J.L.; RIBEIRO, A.M.L.; KESSLER, A.M.; PENZ JR, A.M. Influência da forma física e do valor de energia da ração no desempenho e na composição de frangos de corte. **Arch. Latino americano Produção Animal**. 9(1):6-11. 2001.
- LEITE, J. L. B.; RODRIGUES, P. B.; FIALHO, E. T.; FREITAS, R. T. F.; NAGATA, A. K.; CANTARELLI, V. S. Efeito da peletização e adição de enzimas e vitaminas sobre o desempenho e aproveitamento da energia e nutrientes em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n.4, p. 1292-1298, 2008.
- LIMA, H. J. A. **Uso da enzima fitase em ração para codornas japonesas em postura. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2008.**
- LYND, L.R.; VAN ZYL, W.H.; MCBRIDE, J.E.; LASER, M. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. **Curr. Opinion Biotechnol.**, 16, 577-583, 2005.
- MAVROMICHALIS, I. Mixed or single enzymes for non-starch carbohydrates? All **About Feed**, 25 -26, 2012.

- MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus Níger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.
- ODETALLAH, N.H.; WANG, J.J.; GARLICH J.D.; SHIH, J.C.H. Versazyme supplementation of broiler diets improves market growth performance. **Poultry Science**, v.84 p.858-864, 2005.
- OLIVEIRA, A.; HACKENHAAR, L. **AveWorld 2008**. Disponível em <http://www.aveworld.com.br/default.php?acao=documentado&cod=4323>. Acesso: 14 de jun de 2014.
- OSERA, R.H.; DALANEZI, J.A.; JUNQUEIRA, O.M. Efeito da inclusão de enzimas digestivas sobre o rendimento de partes nobres de frangos de corte. **Pubvet**, v.2, n.23, 2008. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/texto.php?id:250>. Acesso em: 16 set. 2009
- PALOHEIMO, M., PIIRONEN, J., VEHEMAANPERA. J. Xilanases and Cellulases as Feed Aditives. In M.R.Bedford & G.G. Partridge (Eds.), **Farm Nutrition (2nd ed.)**, 2010.
- PENZ JR, A.M.; DARI, R. Enzimas em dietas vegetais para frangos de corte. Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/1418>. **AveWorld 2008**. Acesso em: 21 mai 1014.
- PERCIVAL ZHANG, Y.-H.; HIMMEL, M. E.; MIELENZ, J. R. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. **Biotechnology Advances**, New York, v. 24, p. 452-481, 2006.
- PEREIRA, Z. W. P; MENTEN, M. F. J; RACANICCI, C. M. L; ANA BEATRIZ TRALDI, B. A; SILVA, S. C; RIZZO, V. P. Avaliação de complexo enzimático e betaína natural em rações para frangos de corte criados em aviário comercial. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, 2010.
- PÉREZ- VENDRELL, A. M.;BRUFAU, J.; FRANCESCH, M. The use of enzymes to improve cereal diets for animal feeding. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 11, p. 1705-1713, 2006.
- RIBEIRO, F. B. ; LANNA, E. A. T. ; BOMFIM, M. A. D. ; DONZELE, J. L. ; QUADROS, M. ; CUNHA, P. DE S. L., 2011. True and apparent digestibility of protein and amino acids of feed in Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecni**, 40 (5): 939-946
- ROSA, A.P.; UTPATEL, R. Uso de enzimas nas dietas para frangos. In: **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, 2007, Chapecó, SC. Anais. Chapecó: Embrapa Suínos e Aves. 2007. p.102-115.

- ROWELL M.R., PETERSEN R., HAN J. S., ROWELL J. S., TSABALALA M. A., Handbook of wood chemistry and wood composites. **Chapter 3: Cell Wall chemistry.** CRC Press, 487 p., (2005).
- SANTANA, M., S. Produção, caracterização, aplicação e determinação estrutural de celulase de *Moniliophthora perniciosa*. **Dissertação: Universidade Estadual de Feira de Santana.** Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, 2010.
- SARTORI, J.R. et al. Enzimas e simbióticos para frangos de corte criados no sistema convencional e alternativo. **Ciência Rural.** Santa Maria, v.37, n.1, 2007.
- SLOMINSKI, B.A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, 90, 2003-2023, 2011.
- TAVERNARI, F.C.; CARVALHO, T.A.; ASSIS, A.P.; LIMA, H.J.D. Polissacarídeo não-amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5. nº5, .673-689. 2008. Disponível na Internet: http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/068V5N5P673_689_SET2008_.pdf. Acesso em 15 de junho de 2014.
- TORRES, D. M.: TEIXEIRA, A. S.: RODRIGUES, P. B.: BERTECHINE, A. G.: FREITAS, R. T. F.: SANTOS, E. C. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Agropecuária, Lavras**, v.27, n.6, p.1401-1408, 2003.
- WILLIAMS, P. E. V.; GERAERT, P. A.; UZU, G.; ANNISON, G. Factors affecting non-starch polysaccharide digestibility in poultry. **CIHEAM-Options Mediterraneennes [online]**. Disponível em:<http://ressources.cihep.125-134>, 2009. Acesso em 20 de mar. 2014.

CELULASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE DE UM A 21 DIAS DE IDADE

RESUMO

Maneiras de melhorar o desempenho dos monogástricos e aproveitar ao máximo os ingredientes das rações têm sido estudadas, tendo como alternativa o uso de enzimas exógenas. A celulase é capaz de quebrar as ligações da celulose, presente nas plantas liberando unidades de glicose aumentando a energia das dietas. Foi realizado um experimento com 240 frangos de corte macho da linhagem Cobb-500® para avaliar os efeitos da adição de celulase comerciais em pó (500g/t e 1000g/t) e líquida (500mL/t) no período de um a 21 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, seis repetições e 10 aves por gaiola experimental. Os dados de desempenho e digestibilidade foram diferentes significativamente com suplementação da celulase. O peso relativo do intestino grosso no período entre um a sete dias teve aumento significativo quando foi adicionada celulase com 1000g/t. A atividade da amilase pancreática e peso absoluto do pâncreas e fígado não tiveram diferença significativa durante todo o período experimental. Entre oito e 14 dias, as aves que consumiram somente dieta basal obtiveram maiores níveis de proteína do fígado que os tratamentos com adição da enzima, porém não se mantiveram no período entre 15 e 21 dias, não sendo conclusivos para hepatotoxicidade com adição de enzimas. Aos 21 dias para os parâmetros sanguíneos, as rações com adição da celulase foram significativamente iguais para os eletrólitos, que independe das concentrações avaliadas e do tipo.

Palavras-chave: aves de corte, biometria, desempenho, digestibilidade, enzima, soro.

CELLULASE IN BROILER FEEDING OF ONE TO 21 DAYS OF AGE

ABSTRACT

Ways to improve the performance of monogastric and get the most of feed ingredients have been studied, having as an alternative the use of exogenous enzymes. The cellulase is capable of breaking the bonds of the cellulose present in plants releasing glucose units and increasing energy diets. An experiment with 240 male broilers cut line was performed Cobb-500 ® was performed to evaluate the effects of the addition of commercial cellulase powder (500g/t and 1000g/t) and liquid (500mL/t) commercial cellulase in the period of one to 21 days . The experimental design was completely randomized with four treatments and six replicates of 10 birds per cage. The performance data and digestibility data were significantly different with supplementation of cellulase. The relative weight of the large intestine in the period between one to seven days increased significantly when cellulase was added with cellulase at 1000g/t. The activity of pancreatic amylase and absolute weight of the pancreas and liver showed no significant difference throughout the experimental period. Between eight and 14 days, the birds fed only basal diet had higher levels of liver protein than treatments with the addition of the enzyme, but did not remain in the period between 15 and 21 days, not being conclusive for hepatotoxicity with added enzymes. At 21 days for blood parameters, diets with addition of cellulase were significantly equal for the electrolytes, which is independent of the type and concentrations evaluated.

Key words: broilers, biometrics, cellulase, performance, digestibility, serum.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os progressos verificados na genética, nas instalações, na nutrição, no manejo e na sanidade transformaram a avicultura de corte nacional em um complexo econômico cujo objetivo é a máxima produção de carne com menor custo de produção (ABPA, 2014).

Levantamentos da Associação Brasileira de Proteína Animal mostram que o volume das exportações brasileiras de carne de frango (considerando produtos inteiros, cortes, salgados e processados) manteve o ritmo positivo no ano de 2014. Ao todo, foram 1,606 milhão de toneladas embarcadas entre janeiro e maio do mesmo ano, resultado 1,4% maior em relação ao mesmo período do ano passado (ABPA, 2014).

O crescimento na produção de frangos de corte tem levado nutricionistas a buscar soluções a fim de atender as necessidades das aves que, pelo rápido crescimento, passaram a exigir alimentos de melhor qualidade. Dentre os fatores que influenciam no crescimento, a nutrição tem papel de destaque impactado diretamente no custo do produto final. Maneiras de melhorar o desempenho dos animais e aproveitar ao máximo os ingredientes das rações têm sido estudadas tendo como alternativa o uso de complexos multienzimáticos.

Os grãos de cereais são os principais ingredientes das dietas das aves por causa de suas propriedades, sendo a mais relevante o seu alto teor energético (VERSTEGEN, 2009).

O uso de enzimas exógenas na ração pode contribuir para a melhoria da eficiência produtiva das aves pela melhoria da digestão de produtos considerados de baixa qualidade, além de contribuir com a redução da perda de nutrientes fecais, sendo possível reduzir os níveis nutricionais da ração, possibilitando retorno econômico ao produtor. Alguns estudos mostram que a inclusão de enzimas exógenas melhora a

disponibilidade de nutrientes da ração (BRITO et al., 2006; OLIVEIRA & HACKENHAAR, 2008), o desempenho dos frangos (ODETALLAH et al., 2005 OLUKOSI et al., 2007) e pode melhorar a relação custo benefício na formulação de rações de aves (TOLEDO, COSTA, & SILVA, 2007).

Dentro das enzimas exógenas está a celulase que é capaz de atuar sobre materiais celulósicos, promovendo sua hidrólise. A produção de celulases em escala industrial começou em meados da década de 1980, visando sua aplicação como um aditivo para ração animal, possibilitando assim maior digestibilidade, em razão dos ruminantes e monogástricos não serem capazes de produzir enzimas para degradar polissacarídeos estruturais da parede celular dos alimentos a base de cereais.

O termo carboidrase (amilase, pectinase, celulase e hemicelulase, lactase e invertase), quando se refere às enzimas exógenas, inclui duas distintas classes com atividades diferentes, a amilase e aquelas coletivamente classificadas como enzimas que degradam PNA's. A base teórica, geral, seria que a amilase complementaria a ação das amilases endógenas, enquanto o segundo seria suplementado nas rações pela ausência da produção dessas enzimas pelas aves (AFTA, 2012).

A utilização de enzimas na produção de aves é amplamente aceita e embasada cientificamente, pois, dependendo do tipo de enzima utilizada, podem-se observar melhorias no desempenho, digestibilidade dos nutrientes, morfometria e saúde intestinal (MENEGETTI, JÚNIOR & SALDANHA, 2014).

Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação da celulase comercial em pó e líquida, em rações de frangos de corte de um a 21 dias de idade, quanto ao melhorar aproveitamento dos nutrientes da ração através do seu desempenho, digestibilidade, análise de vísceras, biometria e parâmetros sanguíneos.

MATERIAL E MÉTODOS

Enzimas utilizadas

Foram utilizadas duas celulases, uma líquida (500mL/t) com atividade de FPase de 27,4 U/mL e outra em pó (500g/t e 1000g/t) com atividade de FPase: 35,245 U/mL, ambas comerciais destinadas a alimentação animal.

Instalações

O experimento de campo foi realizado no departamento de zootecnia, no setor de avicultura do Instituto Federal – *Campus* Rio Verde. No total 240 frangos de corte macho da linhagem Cobb-500[®] foram utilizados no experimento. Os pintinhos foram adquiridos de um incubatório comercial, da cidade de Jataí, estado de Goiás, da empresa BRF (Brasil Foods S/A). Todos devidamente vacinados para Doença de Marek e Gumboro. As aves foram alojadas em galpão convencional de alvenaria, com telha de cimento e com cortinas laterais, no período entre o dia 04 e 25 de abril de 2014.

Foram colocadas 10 aves em cada gaiola num total de 24, com dimensões de 0,90m x 0,60m x 0,40m, todas com lâmpada incandescente de 100W como fonte de calor artificial. De um a sete dias as lâmpadas permaneceram ligadas durante todo o dia e do 8º até o 21º dia das 9 horas da manhã até 18 horas da tarde. Para fornecimento de ração foi utilizado comedouro tipo tubular que foram rodados três vezes ao dia para estimular o consumo das aves. O bebedouro utilizado foi tipo pendular realizando a troca de água uma vez por dia. Foi utilizado um termômetro no centro do galpão para determinação de temperatura e umidade.

Os Laboratórios de Nutrição Animal, Bioquímica e Metabolismo Animal da instituição foram utilizados para determinação de digestibilidade, análises de perfil bioquímico e biometria dos órgãos do aparelho digestivo.

Tratamentos

Foram fornecidas dois tipos de rações. A ração pré-inicial foi fornecida do dia primeiro ao sétimo dia e inicial do oitavo ao 21°. As rações foram formuladas seguindo recomendações de ROSTAGNO et al. (2011), conforme Tabela 2.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, seis repetições e 10 aves por gaiola experimental. Foi fornecido iluminação contínua (luz natural + artificial), e o fornecimento de água e ração foi *ad libitum*.

Os tratamentos consistirão de: dieta basal (à base de milho, farelo de soja, óleo de soja e premix mineral e vitamínico); dieta basal com celulase em pó 500g/t; dieta basal com celulase em pó 1000g/t e dieta basal com celulase líquida 500mL/t.

Medidas de desempenho

Na condução do experimento foi avaliado o desempenho das aves aos sete, 14 e 21 dias. A mortalidade em cada intervalo foi utilizada como critério para correção dos valores de consumo de ração e conversão alimentar. Os parâmetros avaliados foram:

- Ganho de peso: calculado pela diferença entre os pesos médios das aves obtidos pelas pesagens dentro das fases e no período total;
- Consumo de ração: obtida pela diferença entre os valores de ração oferecida no início e a sobras ao final de cada fase;
- Conversão alimentar: valor obtido pela relação entre ganho de peso e o consumo de ração sendo utilizado.

Digestibilidade

As coletas foram realizadas do quarto ao sétimo dia e do 14° ao 17° de idade, efetuadas duas vezes ao dia, pela manhã e a tarde. As excretas de cada parcela (gaiola) foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados que posteriormente foram pesados e armazenados em freezer a temperatura de -5°C até o período final do experimento.

Ao final das coletas, as amostras de excretas foram descongeladas e homogeneizadas para análises laboratoriais. Estas amostras sofreram pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C durante o período de 72 horas e posteriormente

foram moídas em moinho “tipo faca” com peneiras de 0,5mm seguindo metodologia de SILVA & QUEIROZ, (2002).

TABELA 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais para diferentes fases de criação

Ingrediente (%)	Pré-Inicial (1-7 dias)	Inicial (8-21 dias)
Milho	57,5865	60,0401
Farelo de Soja	36,9273	34,0639
Óleo de Soja	1,2906	2,1716
Cálcio	0,8081	0,8531
L-Lisina HCL	0,3525	0,3014
Sal	0,4470	0,4250
Fosfato Bicálcio	1,9123	1,5581
DL-Metionina	0,3594	0,3055
Premix vitamínico ^{1 2}	0,0800	0,0800
Premix mineral ^{1 2}	0,1000	0,1000
L-Treonina	0,1363	0,1012
Total	100,00	100,00
Composição Calculada:		
Proteína Bruta (%)	22,400	21,2000
Energia metabolizável (MJ/kg)	2,9600	3,0500
Lisina Digestível (%)	1,3240	1,2170
Metionina Digestível (%)	0,6625	0,5962
Met + Cist Digestível (%)	0,9530	0,8760
Cálcio (%)	0,9200	0,8410
Sódio (%)	0,2200	0,2100
Fósforo Disponível (%)	0,4700	0,4010
Treonina Digestível (%)	0,8610	0,7910
Triptofano Digestível (%)	0,2478	0,2322

¹Suplementação Vitamínico e Mineral Ração Pré-Inicial (por kg de produto): Cálcio 68,0000 g/kg, Ferro 30,0000 g/kg, Zinco 40,0083 g/kg, Selênio 225,0000 mg/kg, Cobre 75,0000 g/kg, Manganês 45,0000 g/kg, Iodo 500,0000 mg/kg, Cobalto 3,0000 mg/kg Magnésio 80,0000 mg/kg, Zinco 17,9892 g/Kg, Vitamina A 5,3784 UI/Kg, Vitamina D3 2,2744 UI/Kg, Vitamina E 44,9894 UI/Kg, Vitamina K 2.239,37 mg/Kg, Vitamina B1 1.168,31 mg/Kg, Vitamina B2 3.585,60 mg/Kg, Vitamina B6 1.788,62 mg/Kg, Vitamina B12 6.723,00 mcg/Kg, Ácido Fólico 894,159 mg/Kg, Ácido Nicotínico 22,402g/Kg, Ácido Pantotênico 8.968,48 mg/Kg, Biotina 89,64 mg/Kg, Antioxidante 527,7 mg/Kg, Nicarbazina 50 mg/Kg, Narasina 50,00 mg/Kg.²

Suplementação Vitamínico e Mineral Ração Inicial (por kg de produto): Cálcio 68,0000 g/kg, Ferro 30,0000 g/kg, Zinco 40,0083 g/kg, Selênio 225,0000 mg/kg, Cobre 75,0000 g/kg, Manganês 45,0000 g/kg, Iodo 500,0000 mg/kg, Cobalto 3,0000 mg/kg Magnésio 80,0000 mg/kg, Zinco 17,9892 g/Kg, Vitamina A 4.196.448,00 UI/Kg, Vitamina D3 1.293.904,80 UI/Kg, Vitamina E 14.085.954,36UI/Kg, Vitamina K 1.747,25 mg/Kg, Vitamina B1 911,5614 mg/Kg, Vitamina B2 2.797,63 mg/Kg, Vitamina B6 1.395,55 mg/Kg, Vitamina B12 5.245,56 mcg/Kg, Ácido Fólico 697,6595 mg/Kg, Ácido Nicotínico 17,4789 g/Kg, Ácido Pantotênico 6.997,58 mg/Kg, Biotina 69,9408 mg/Kg, Antioxidante 508,2839 mg/Kg, Salinomicina 66 mg/Kg.

Tanto amostras de excretas como de rações foi determinada matéria seca a 105°C, por 12 horas e nitrogênio total utilizando o método de micro-Kjeldahl, para calcular os valores de proteína bruta pela multiplicação da % de N por 6,25.

Para determinação da digestibilidade foi utilizado à equação entre o nutriente ingerido menos o excretado dividido pelo nutriente ingerido (MATTERSON et al., 1965).

Foi determinada também retenção de matéria seca, obtida pela quantidade de matéria seca ingerida subtraída da quantidade excretada em relação ao ganho de peso. A retenção de proteína bruta foi determinada pela quantidade de proteína bruta ingerida subtraída da quantidade excretada dividida pelo ganho de peso. O cálculo da retenção de nutrientes seguiu o descrito por NOY & SKLAN (2002), levando-se em consideração o balanço dos nutrientes e o ganho de peso registrado no período de quatro a sete dias.

Biometria dos órgãos do trato digestório

No sétimo, 14° e 21° dias de idade, uma ave por tratamento foi identificada e transportada para o abatedouro do IFGoiano – *Campus* Rio Verde.

Na necropsia, foram retiradas as vísceras (fígado, moela, pró-ventrículo e pâncreas) que compõe o trato gastrointestinal (TGI), as quais foram medidas e pesadas seguindo os seguintes passos: comprimento do TGI, medido pelo tamanho do TGI desde a inserção do esôfago na orofaringe até a comunicação do intestino grosso com a cloaca; peso do pró-ventrículo mais moela (com conteúdo remanescente) separado após medida do comprimento do TGI; peso do pâncreas, após a sua separação da alça duodenal; peso do intestino delgado, porção que compreende o final do estômago muscular até o início dos cecos; peso do intestino grosso, representado pelo peso dos cecos, do cólon e do reto, peso do fígado, dado pelo peso do fígado com a vesícula.

Todos os pesos obtidos foram utilizados para calcular o peso relativo de cada órgão, pela seguinte fórmula: $\text{Peso relativo do órgão} = (\text{peso do órgão} / \text{peso vivo}) \times 100$.

Atividade de enzimas do pâncreas e do fígado e proteína total do fígado

O fígado e o pâncreas de cada animal por tratamento foram acondicionados em recipientes devidamente identificados e rapidamente congelados, usando nitrogênio

líquido, com o intuito de cessar a atividade enzimática. Este material foi homogeneizado (1g de tecido e 9mL de água destilada) e depois centrifugado a 8000rpm a 40°C por 10 minutos. Coletou-se o sobrenadante para a determinação, em triplicata, da amilase no pâncreas, teor proteico e atividade enzimática da fosfatase alcalina (FA), glutamato-oxalacetato transaminase (GOT), glutamato-piruvato transaminase (GPT) do fígado por kits comerciais da DOLES. Todos os procedimentos foram feitos em banho de gelo com água destilada fria para evitar a perda da atividade enzimática. O fígado e pâncreas foram pesados para determinação do seu peso absoluto.

Determinação do perfil bioquímico sérico

Foram coletadas amostras de sangue de 24 aves aos sete, 14 e 21 dias, por punção cardíaca segundo metodologia de MINAFRA et al. (2008). As amostras foram colocadas em tubos e centrifugados a 6.000 rpm por 10 minutos, para obtenção do soro. Foram analisados os seguintes minerais:

- Cálcio (dm^{-3});
- Fósforo (dm^{-3});
- Cloro (dm^{-3});
- Potássio (dm^{-3}).

Foi determinada também a atividades da enzima fosfatase alcalina (FA UI/L) e de proteína (g/dL), através de kits comerciais DOLES.

Modelo estatístico

O modelo estatístico aplicado se baseia na equação:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} = É o valor observado do tratamento i, na repetição j.

μ = Média geral das observações.

τ_i = Efeito do tratamento i.

ϵ_{ij} = Erro aleatório residual da observação ij.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o software Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG, 9.5). A comparação entre os tratamentos foi feita pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISSCUSSÃO

Os registros diários de temperatura e umidade interna do galpão foram obtidos com a instalação do termômetro de máxima e mínima, colocado no centro do galpão. As marcações foram registradas duas vezes por dia às 9 horas da manhã e 18 horas da tarde. As médias se encontram na Tabela 2.

As médias registradas durante o período experimental estão dentro da normalidade para a idade das aves. As maiores temperaturas identificadas na primeira semana se refere ao calor artificial (iluminação contínua) que foi fornecido às aves nos primeiros dias de vida.

TABELA 2. Média de temperatura e umidade, obtida durante o período experimental.

Dias	Temperatura (°C)		Umidade (%)	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
04 a 11/04/14	34,6	27	32	28
12 a 18/04/14	30,2	23,8	55	51
19 a 25/04/14	28	23,2	58	52
Média	30,9	24,6	48	43

Avaliações dos dados de desempenho na fase inicial e crescimento

O peso médio das aves utilizadas no início do experimento foi de $43,00 \pm 0,82$ g (peso médio do primeiro dia).

Os dados de desempenho dos frangos de corte suplementados com enzimas comerciais em pó e líquida no período entre um e sete dias se encontram na Tabela 3. Não se observou influência da suplementação da enzima celulase sobre os parâmetros de ganho de peso e conversão alimentar e a adição de celulase em pó com 1000g/t melhorou significativamente o consumo de ração neste período quando comparada aos demais tratamentos.

TABELA 3. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) entre um e sete dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase.

Rações	CR(g)	GP (g)	CA
Dieta Basal (DB)	124,85 B	102,35	1,23
DB + Celulase 500g/t	128,11 B	101,01	1,27
DB + Celulase 1000g/t	142,16 A	101,81	1,4
DB + Celulase 500mL/t	122,89 B	98,98	1,24
CV (%)	5,77	8,36	9,29
Valor de P	0,00099	>0,05	0,09177

Dados semelhantes foram encontrados por FISCHER et al. (2002) avaliando o efeito da inclusão de um complexo enzimático à base de proteases, amilases e celulases no desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, tendo diferenças no consumo de ração e ganho de peso.

Resultados contraditórios a este trabalho, foram encontrados por LEITE et al. (2011) que estudaram o desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo sorgo ou milheto, com adição de complexo enzimático, no período de um a sete dias e não houve efeito significativo.

Segundo FAGUNDES (2011), o sistema digestivo da ave após a eclosão está anatomicamente completo, mas suas capacidades funcionais de digesta e absorção ainda estão imaturas. Isto pode justificar o maior consumo de ração quando adicionada maior quantidade de enzima. Quando eclodem os pintinhos sofrem uma transição metabólica e fisiológica em função da troca da alimentação do saco vitelínico para alimentação exógena.

Na Tabela 4 são apresentados os dados de desempenho de oito a 14 dias.

Houve diferença significativa para ganho de peso e conversão alimentar. O fornecimento da celulase em pó com 500g/t teve conversão alimentar melhor que os demais tratamentos e ganho de peso significativamente maior comparado a adição de celulase líquida com 500mL/t.

Não houve diferença significativa para consumo de ração neste período.

TORRES et al. (2003), trabalhando com complexo multienzimático contendo amilase, celulase, protease e xilanase em dietas à base de milho e farelo de soja, constataram melhora no desempenho dos frangos de corte com aumento do ganho de

peso, e melhoria da conversão alimentar. Resultados similares foram encontrados no presente trabalho.

TABELA 4. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) entre oito e 14 dias de idade de frangos alimentados com rações iniciais suplementadas com enzima celulase.

Rações	CR(g)	GP (g)	CA
Dieta Basal (DB)	392,18	250,16B	1,54AB
DB + Celulase 500g/t	375,88	275,75A	1,36 B
DB + Celulase 1000g/t	366,75	258,25AB	1,42AB
DB + Celulase 500mL/t	388,76	238,03B	1,63A
CV (%)	8,10	6,17	8,95
Valor de P	>0,05	0,003	0,0043

CARVALHO et al. (2009) trabalhando com complexo enzimático composto por carboidrases (amilase, protease, celulase) em rações fareladas para frangos de corte machos e fêmeas, concluiu que, na fase inicial, a inclusão de 0,03% e 0,04% do complexo enzimático (amilase e celulase) e a combinação 0,04% do complexo enzimático (amilase e celulase) e 0,01% de xilanase também, resultaram em melhor ganho de peso em macho.

Estes autores trabalhando com dietas de frangos de corte, à base de milho e farelo de soja, observaram aumento na altura dos vilos e profundidade das criptas, resultando assim em aumento na área de superfície de absorção, refletindo em melhores resultados de desempenho de frangos de corte.

Não houve diferença estatística para ganho de peso e conversão alimentar no período entre 15 e 21 dias, porém a adição da celulase em pó com 500g/t, teve menor consumo de ração em relação aos demais tratamentos (Tabela 5).

STRADA et al. (2005) em seu trabalho, adicionando um complexo multienzimático composto por celulase, amilase e protease, em dietas à base de farelo de soja e sorgo e farelo de soja e milho, não encontrando melhora no desempenho das aves. Resultados similares foram encontrados neste experimento no período de 15 a 21 dias.

Devido à alta especificidade das enzimas em suas reações catalíticas, os produtos que contêm somente um tipo de enzima provavelmente não produzam o máximo de benefício em dietas avícolas (RIZZOLI, 2009).

TABELA 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), e conversão alimentar (CA) entre 15 e 21 dias de idade de frangos alimentados com rações iniciais suplementadas com enzima celulase.

Rações	CR(g)	GP (g)	CA
Dieta Basal (DB)	698,54AB	387,54	1,81
DB + Celulase 500g/t	654,80B	381,25	1,72
DB + Celulase 1000g/t	748,43A	405,75	1,84
DB + Celulase 500mL/t	727,13A	396,06	1,84
CV (%)	5,54	6,13	7,93
Valor de P	0,0032	0,345	>0,05

Isso sugere que os complexos enzimáticos possam ser mais efetivos, pois atuam sobre uma série de polissacarídeos da parede celular dos grãos (celulose, arabinoxilanos, β - glucanos, xilanos, pectinas e etc), levando ao melhor aproveitamento da dieta (RIZZOLI, 2009). Isto pode justificar o menor consumo de ração com adição única da celulase no período de 15 a 21.

Na Tabela 6 são apresentados os dados para desempenho do período total, de um a 21 dias de idade.

TABELA 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), e conversão alimentar (CA) entre um e 21 dias de idade de frangos alimentados com rações pré-iniciais e iniciais suplementadas com enzima celulase.

Dados de desempenho de um a 21 dias			
Rações	CR(g)	GP (g)	CA
T1- Dieta Basal (DB)	1026,19B	827,93	1,24AB
T2- DB + Celulase 500g/ton	1102,61A	844,79	1,30A
T3- DB + Celulase 1000g/ton	1022,32B	849,68	1,20B
T4- DB + Celulase 500ml/ton	1063,17AB	821,87	1,29A
CV (%)	3,94	5,54	4,14
Valor de P	0,010	>0,05	0,011

Não houve diferença significativa para ganho de peso, contudo houve diferença significativa para consumo de ração e conversão alimentar. No tratamento com suplementação da celulase com 1000g/t teve consumo de ração menor, porém melhor conversão alimentar. Este resultado demonstra que houve conversão maior do alimento em peso vivo quando foi adicionada na ração celulase com 1000g/ton.

BRITO et al. (2006) avaliaram o desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade alimentados com rações contendo soja extrusada suplementada com complexo multienzimático contendo celulase, amilase e protease. Os autores verificaram efeito positivo também sobre a conversão alimentar.

Resultados contraditórios foram encontrados por PINHEIRO et al. (2004) que estudaram o uso de enzimas como protease, α -amilase e celulase em dieta à base de milho e de farelo de soja, não observando efeito significativo nos resultados de desempenho, em frangos de 1- 35 dias.

Em trabalho mais recente, TOLEDO et al. (2007) avaliando o efeito de um complexo multienzimático (xilanases, β -glucanase e celulasas) adicionado a dietas à base de milho e farelo de soja com diferentes densidades nutricionais (baixa densidade e padrão), obteve melhora no ganho de peso, com dieta de baixa densidade com adição de enzimas. Resultados diferentes foram encontrados neste trabalho.

Estes resultados sugerem que a adição das enzimas em rações avícolas podem ser direcionadas a períodos específicos, tendo maior eficácia no período inicial de vida das aves, em que ainda o trato gastrointestinal não está totalmente formado e não consegue sintetizar enzimas endógenas em larga escala.

Digestibilidade

Na Tabela 7, são apresentados os dados de digestibilidade no período de coleta de quatro a sete e 14 a 17 dias.

Houve diferença significativa no período entre três e sete dias para consumo de nitrogênio na matéria seca, nitrogênio excretado na matéria seca e balanço e retenção de nitrogênio. No segundo período entre 14 e 17 dias, houve diferença estatística para consumo de nitrogênio na matéria seca, balanço de nitrogênio e retenção de nitrogênio.

A digestibilidade no período de quatro a oito dias quando adicionado celulase em pó com 500g/t obteve-se melhora significativa para consumo de nitrogênio na matéria seca, melhor balanço e conseqüentemente melhor retenção de nitrogênio. A excreção de nitrogênio foi significativamente menor que os demais tratamentos quando adicionado celulase em pó com 1000g/t em comparação com os demais tratamentos. O tratamento com dieta basal teve a maior excreção de nitrogênio na matéria seca e teve retenção de nitrogênio menor em comparação a adição de celulase em pó (500g/t) e líquida com (500mL/t).

TABELA 7. Determinação dos valores de CNMS (consumo de nitrogênio na matéria seca), NEXCMS (nitrogênio excretado na matéria seca), BN (Balanço de nitrogênio), DIGN (Nitrogênio digerível) e RETEN (retenção de nitrogênio), nos períodos avaliados.

Digestibilidade de 4 a 7					
Rações	CNMS	NEXCMS	BN	DIGN	RETEN
Dieta Basal (DB)	36,61B	5,49A	32,12BC	85,34	28,12C
DB + Celulase 500g/t	46,40A	2,32B	41,74A	85,87	40,18A
DB + Celulase 1000g/t	34,79B	1,44C	29,15C	83,67	27,91C
DB + Celulase 500mL/t	38,39B	2,30B	35,05B	83,42	31,72B
CV (%)	7,02	10,21	9,79	2,43	6,80
Valor de P	0,000	0,000	0,000	0,134	0,000
Digestibilidade de 14 a 17					
Rações	CNMS	NEXCMS	BN	DIGN	RETEN
Dieta Basal (DB)	65,21A	18,17	53,60A	90,61	48,06A
DB + Celulase 500g/t	69,26A	18,18	55,60A	88,63	50,09A
DB + Celulase 1000g/t	30,22B	18,24	13,05B	87,97	36,11B
DB + Celulase 500mL/t	68,66A	17,85	55,13A	89,58	50,24A
CV (%)	3,72	7,15	6,24	2,45	8,53
Valor de P	0,000	>0,05	0,000	0,210	0,000

Na comparação dos dados de 1 a 17 dias, quando adicionado celulase em pó com 1000g/t teve menor consumo de nitrogênio na matéria seca, menor balanço de nitrogênio e conseqüentemente pior retenção. Os tratamentos com dieta basal, celulase em pó 500g/t e celulase líquida não diferiram significativamente para consumo de nitrogênio na matéria seca, excreção, balanço e retenção de nitrogênio.

É importante relatar que são poucos os estudos com utilização única de enzima exógena, uma vez que muitos autores trabalham com adição de complexos multienzimáticos para formulação de dietas para frangos de corte.

OLIVEIRA (1994) aponta o nitrogênio dentre os principais componentes poluentes dos dejetos de suínos, que pode ser aplicado aos dejetos avícolas. Os resultados demonstram que no período pré-inicial de quatro a sete dias, a adição da enzima celulase tanto em pó como líquida diminui significativamente a excreção de nitrogênio, melhorando o aproveitamento dos nutrientes.

Resultado encontrado por MARQUES (2007), conclui que ao suplementar um complexo enzimático (xilanase, amilase e celulase) na ração para frango de corte de um

a 21 dias, houve melhora na digestibilidade encontrada, podendo sugerir a elevação no aproveitamento nutricional das dietas. Resultados semelhantes foram encontrados no período de quatro a sete dias neste trabalho.

Não houve diferença significativa para nitrogênio excretado na matéria seca e nitrogênio digerível no período de 14 a 17 dias (Tabela7).

Imediatamente após a eclosão, os pintinhos, utilizam suas limitadas reservas corporais para conseguir rápido desenvolvimento físico e funcional do trato gastrointestinal, a fim de desenvolver a capacidade de digerir alimentos e assimilar nutrientes (UNI e FERKET, 2004).

Diferentes estratégias alimentares podem proporcionar a melhor nutrição do embrião ou do pintinho após a eclosão contribuindo nesta transição metabólica e fisiológica e conseqüentemente o aumento no desempenho da ave (TAKO, FERKET & UNI, 2004; FOYE, UNI & FERKET, 2006)

A imaturidade do sistema digestório das aves nesta fase reduz a capacidade de utilização dos nutrientes (NOY & SKLAN, 2002). Entretanto, os resultados de digestibilidade encontrados, podem sugerir elevação no aproveitamento nutricional das dietas e menor excreção de nitrogênio nos primeiros dias de vida da ave.

Biometria relativa de órgãos para as fases pré-inicial e inicial

Os resultados obtidos durante as fases avaliadas estão apresentados na Tabela 8.

Não houve diferença significativa para o peso relativo do fígado, proventrículo + moela, trato gastrointestinal, pâncreas, intestino delgado, e comprimento do trato gastrointestinal durante as três fases avaliadas.

O peso relativo do intestino grosso no período entre um e sete dias foi menor significativamente quando não foi adicionado celulase, independente do tipo ou concentração.

PEDROSO et al. (2006) atribuíram o maior desenvolvimento desse órgãos provavelmente à oferta precoce de alimento e água. O que provavelmente também ocorreu neste experimento.

Dados semelhantes foram encontrados por THOMAS & RAVIDRAN (2008) que em seu trabalho não encontraram diferenças no peso do fígado, pâncreas, proventrículo, moela e nem o tamanho e peso do duodeno, jejuno, íleo, intestino delgado e cecos de aves aos 14 dias de idade com dietas isoenergéticas de trigo, milho e sorgo com adição em enzimas exógenas.

TABELA 8. Peso relativo do fígado (FIG), peso do proventrículo + moela (PROMOELA), peso do pâncreas (PAN), peso do Intestino Grosso (IG), peso do Intestino Delgado (ID), comprimento do Trato gastrointestinal (TGIMET), peso do Trato gastrointestinal (TGIPESO) de frangos alimentados com rações pré-iniciais suplementadas com enzima celulase em pó e líquida no período de um a 21 dias.

Biometria relativa 1º ao 7º dia							
Rações	FIG (%)	PROMOEA (%)	PANC (%)	IG (%)	ID (%)	TGIMETRO (cm)	TGIPESO (%)
Dieta Basal (DB)	4,30	8,24	0,53	1,37 B	5,97	52,73	7,34
DB + Celulase 500g/t	4,83	8,21	0,49	1,57AB	6,38	52,79	7,95
DB + Celulase 1000g/t	4,7	8,55	0,5	1,70A	6,51	57,99	8,21
DB + Celulase 500mL/t	4,67	8,03	0,53	1,49AB	6,43	57,35	9,92
CV (%)	10,37	13,82	12,39	10,40	13,76	11,39	12,28
Valor de P	0,184	>0,05	0,226	0,0122	>0,05	0,355	0,385
Biometria relativa 8º ao 14º dia							
Rações	FIG (%)	PROMOEA (%)	PANC (%)	IG (%)	ID (%)	TGIMETRO (cm)	TGIPESO (%)
Dieta Basal (DB)	2,65	4,97	0,35	1,02	4,80	26,83	5,93
DB + Celulase 500g/t	3,05	5,06	0,32	1,03	5,08	27,2	6,23
DB + Celulase 1000g/t	2,99	5,41	0,36	1,15	4,91	28,84	6,09
DB + Celulase 500mL/t	3,04	4,96	0,34	1,17	4,98	28,04	6,16
CV (%)	9,67	10,02	10,81	13,66	11,03	6,89	9,72
Valor de P	0,144	0,058	>0,05	0,345	0,199	0,26	0,137
Biometria relativa 15º ao 21º dia							
Rações	FIG (%)	PROMOEA (%)	PANC (%)	IG (%)	ID (%)	TGIMETRO (cm)	TGIPESO (%)
Dieta Basal (DB)	2,49	3,74	0,27	0,89	3,63	16,00	4,43
DB + Celulase 500g/t	2,81	4,18	0,27	0,88	3,73	16,32	4,61
DB + Celulase 1000g/t	2,57	4,03	0,27	0,98	3,9	16,24	4,88
DB + Celulase 500mL/t	2,74	4,05	0,26	0,92	3,68	16,04	4,61
CV (%)	13,40	9,44	10,81	12,31	8,61	8,48	8,09
Valor de P	0,359	0,296	>0,05	0,055	0,399	>0,05	0,173

Níveis altos de polissacarídeos não amidicos aumentam tanto o tamanho do trato

quanto o peso relativo do duodeno, jejuno e íleo e ceco (STEENFELD, 2001).

De acordo com BRENES et al., (1993) o aumento dos intestinos e do sistema digestório como um todo pode ser a resposta adaptativa ao aumento da necessidade de enzimas.

Segundo STRINGHINI et al. (2003) o conhecimento do peso dos órgãos das aves na fase pré-inicial constitui em fator importante para caracterizar o bom desenvolvimento digestivo. Provavelmente esta alteração no peso relativo do intestino se dá em virtude do crescimento da ave, em seu estado normal de desenvolvimento, quando há aumento considerável no peso.

A utilização de celulase em pó na concentração de 1000g/t apresentou os maiores valores de peso relativo do intestino delgado, intestino grosso e comprimento do trato gastrointestinal.

STRINGHINI et al. (2006) trabalhando com níveis de proteína nas rações pré-iniciais avaliaram a biometria dos órgãos digestórios e também não encontraram diferença significativa para peso relativo do intestino delgado.

O aumento da área de superfície, seguido pelo aumento no comprimento das vilosidades, força o aumento na absorção e melhora na digestibilidade de nutrientes (CASPARY, 1992).

O tamanho da partícula e forma do alimento também exerce influência sobre o tamanho e peso do trato gastrointestinal. Trabalho realizado por AMERAH et al. (2007), ao avaliarem o uso de rações fareladas ou peletizadas feitas a partir de partículas médias (DGM=1,54) ou grosseiras (DGM=1,69), verificaram que aves aos 21 dias de idade alimentadas com ração farelada tiveram relativamente moela e ceco mais pesados e jejuno mais leve que aves alimentadas com ração peletizada.

CROOM, BRAKE & COLES (1999) afirmaram que, apesar de ocorrer aumento individual de peso dos órgãos, a relação percentual do peso dos órgãos digestivos com o peso das aves se reduz com a idade. A evolução temporal dos pesos de órgãos observada nesses experimentos seguiu a tendência esperada com redução de sua proporção com a idade.

SAKOMURA et al. (2004) observaram que a taxa de crescimento do pâncreas diminuiu linearmente com a idade da ave. O valor máximo de crescimento ocorreu no sétimo dia de idade a partir dos 14 dias e este índice teve diminuição constante até 28 dias de idade.

Atividade enzimática da amilase pancreática

As médias dos pesos do pâncreas durante todo o período experimental estão presentes na Tabela 9. Não houve diferença significativa para peso absoluto do pâncreas em todas as fases avaliadas.

As médias da atividade da amilase pancreática de um a sete dias, oito a 14 e 15 a 21 estão presentes na Tabela 10.

TABELA 9. Média do peso absoluto do pâncreas nas diferentes fases avaliadas.

Rações	Pâncreas	Pâncreas	Pâncreas
	1 a 7 dias (g)	8 a 14 dias (g)	15 a 21 dias (g)
Dieta Basal (DB)	0,90	1,56	2,38
DB + Celulase 500g/t	0,80	1,58	2,41
DB + Celulase 1000g/t	0,80	1,48	2,48
DB + Celulase 500mL/t	0,90	1,48	2,35
CV (%)	10,54	9,24	11,60
Valor de P	0,095	>0,05	>0,05

TABELA 10. Atividade da amilase pancreática nas diferentes fases avaliadas.

Rações	Amilase (UI/L)	Amilase (UI/L)	Amilase (UI/L)
	1 a 7 dias	8 a 14 dias	15 a 21 dias
Dieta Basal (DB)	797,82	790,70	779,47
DB + Celulase 500g/t	798,64	799,6	795,43
DB + Celulase 1000g/t	798,62	802,52	803,67
DB + Celulase 500mL/t	799,52	775,94	801,08
CV (%)	2,25	6,32	3,00
Valor de P	>0,05	>0,05	0,321

Tanto para tipo quanto concentração na celulase utilizada para ambas às fases, a atividade da amilase pancreática não houve diferença significativa.

LIMA et al. (2002), verificaram que a adição de amilase exógena na ração proporcionou maiores atividades de amilase pancreática aos 14 dias de idade, porém os autores concluíram que o uso de enzimas em rações de frango de corte não tem efeito persistente na atividade das enzimas pancreáticas, não interferindo diretamente na produção das mesmas, e encontra respaldo neste estudo.

A amilase pancreática, maltase e sacarase atingem atividade específica máxima dentro de três a quatro dias (MARCHAIN e KULKA, 1967). NOY & SKLAN (1995),

trabalhando com pintainhos de quatro dias de idade demonstraram que a digestão de amido aumentou pouco entre o quarto e o 21º dia de vida das aves, passando de 82 para 89%, respectivamente.

NITSAN et al. (1991), observaram que o valor máximo de amilase no pâncreas ocorre no oitavo dia de vida, sendo que no intestino delgado o valor máximo foi encontrado no 17º dia. Estes resultados podem explicar a fato de não ter ocorrido diferença estatística entre os tratamentos quanto aos níveis de amilase encontrados no período de 15 a 21 dias.

Os resultados encontrados demonstram que as adições da celulase nas rações não interferem na produção de amilase pelo pâncreas e nem no seu peso absoluto.

Há pouca informação sobre a dosagem de amilase em aves, e na literatura há poucos dados para discussão uma vez que as metodologias utilizadas são diferentes, em função dos kits e equipamentos utilizados (MINAFRA, ARRUDA & REZENDE, 2008).

Atividades enzimáticas da fosfatase alcalina, transaminases e teor proteico do fígado

Os pesos médios do fígado se encontram na Tabela 11.

TABELA 11. Peso médio absoluto do fígado para os diferentes tratamentos durante o período experimental

Rações	Peso absoluto do fígado		
	Fígado (g) 1 a 7 dias	Fígado (g) 8 a 14 dias	Fígado (g) 15 a 21 dias
Dieta Basal (DB)	7,32	11,94	22,28
DB + Celulase 500g/t	7,38	13,11	22,85
DB + Celulase 1000g/t	7,83	13,81	25,15
DB + Celulase 500mL/t	7,83	13,30	24,13
CV (%)	8,08	9,25	12,09
Valor de P	0,317	0,080	0,325

Durante todo o período experimental não houve diferença significativa para peso absoluto do fígado com adição da enzima celulase. Os resultados demonstraram o aumento crescente no peso deste órgão conforme aumentam os dias de vida da ave. Isto se refere ao crescimento normal da vísceras em aves de crescimento rápido.

A determinação dos parâmetros enzimáticos teciduais da fosfatase alcalina (FA),

glutamato-oxalacetato transaminase (GOT), glutamato-piruvato transaminase (GPT) e dos níveis de proteína no fígado se encontram na Tabela 12.

Neste trabalho houve alterações para os níveis de proteína e GPT somente no período entre oito e 14 dias, quando foi adicionada celulase a ração. Aves que consumiram somente dieta basal obtiveram maior percentual de proteína que os demais tratamentos e níveis de GPT menores com adição da celulase com 1000g/t e 500mL/t sendo que os parâmetros não se mantiveram alterados no período de 15 a 21 dias. Isto pode ser explicado por alguma alteração metabólica na ave, que possa ter interferido nestes valores como stress por calor ou frio, ausência ou baixo consumo de água, restrição de alimento ou até mesmo manejo na ave pra colheita de material.

Não teve diferença significativa entre os tratamentos nos períodos entre um e sete e 15 a 21 dias para os parâmetros avaliados. Nestas fases a adição de celulase não interferiu na atividade enzimática e nos níveis de proteínas no fígado. A medição das enzimas é útil para detectar dano recente ou inicial em aves, mais que para avaliar a função normal do órgão. As mudanças na atividade de uma enzima (aumento ou diminuição) podem ajudar no diagnóstico da saúde das aves.

A produção de FA não teve diferença significativamente durante todas as fases avaliadas. No fígado ela não está presente em quantidades suficientes para ser significativa (FUDGE, 2000), porém o aumento na sua atividade geralmente é reflexo de uma desordem hepática (HARRISON & RITCHIE, 1994) mesmo não sendo um indicador sensível (CUBAS, SILVA, & CATÃO DIAS, 2007). Por causa da atividade osteoblástica que ocorre na fase de crescimento as aves mais jovens apresentam valores mais elevados quando comparadas aos animais adultos

Uma diminuição do seu nível é encontrada em animais com carência de zinco (HARRISON, RITCHIE, 1994), e acreditam que em casos de necrose hepática induzida por aflatoxina B1 há aumento enzimático de FA (VALLER et al., 2008).

Segundo BATINA et al. (2004), a diminuição das concentrações séricas de proteína e albumina são indicadores confiáveis de hepatotoxicidade e inflamações agudas ou crônicas em frangos e perus. Nas aves a maior fração proteica (40-60%) é a albumina que é sintetizada 100% no fígado, por isso sua medição pode ser a ajuda que complementaria no diagnóstico das doenças hepáticas.

As concentrações baixas de proteínas obedecem à desnutrição, infecções agudas e hemorragias (SWENSON & O'REECE, 1996; BOETTCHER, 2004). As causas de hipoalbuminemia podem ser por perda (via glomerular, em enteropatias, por lesões

cutâneas, e em hemorragias severas), por diminuição da sua produção (em casos de insuficiência hepática, má alimentação, má digestão, má absorção), e por diminuição por sequestro (ascite aviar).

TABELA 12. Determinação das concentrações de proteína (Prot) e das enzimas fosfatase alcalina (FA), glutamato-oxalacetato transaminase (GOT) e glutamato-piruvato transaminase (GPT) no fígado de 1 a 21 dias.

Atividade enzimática de 1 a 7 dias				
Rações	Prot (g/dl)	FA (UI/L)	GOT (UI/L)	GPT (UI/L)
Dieta Basal (DB)	2,07	217,34	308,01	31,57
DB + Celulase 500g/t	2,32	206,58	262,39	27,99
DB + Celulase 1000g/t	2,12	205,78	260,68	29,87
DB + Celulase 500mL/t	2,3	211,58	266,62	29,06
CV (%)	8,90	5,70	16,09	11,44
Valor de P	0,088	0,336	0,230	0,339
Atividade enzimática de 8 a 14 dias				
Rações	Prot (g/dl)	FA (UI/L)	GOT (UI/L)	GPT (UI/L)
Dieta Basal (DB)	2,60A	220,63	314,44 A	23,41B
DB + Celulase 500g/t	1,86B	208,26	280,37B	24,81AB
DB + Celulase 1000g/t	1,61B	215,22	281,81B	26,63A
DB + Celulase 500mL/t	1,76B	230,63	284,09B	26,68A
CV (%)	8,87	13,56	6,17	7,01
Valor de P	0,000	>0,05	0,010	0,012
Atividade enzimática de 15 a 21 dias				
Rações	Prot (g/dl)	FA (UI/L)	GOT (UI/L)	GPT (UI/L)
Dieta Basal (DB)	2,13	209,16	262,67	31,50
DB + Celulase 500g/t	2,22	206,58	262,39	28,74
DB + Celulase 1000g/t	2,12	205,78	260,68	29,87
DB + Celulase 500mL/t	2,16	207,8	266,62	29,06
CV (%)	5,22	5,53	11,77	10,03
Valor de P	>0,05	>0,05	>0,05	0,407

Tradicionalmente, elevações da atividade da GPT estão relacionadas à lesão hepática ou muscular (HARR, 2002; GRUNKEMEYER, 2010). A atividade da GPT nas aves pode estar elevada em decorrência de dano em múltiplos tecidos, dificultando a sua interpretação (JAENSCH, 2000; GRUNKEMEYER, 2010). Ao contrário do que ocorre em alguns mamíferos, nas aves a GPT não é hepatoespecífica, podendo ser

encontrada em diversos tecidos (FUDGE, 2000).

A baixa atividade enzimática da GPT no fígado pode ser demonstrada pelo fato de diversas aves com desordens hepáticas não apresentarem alterações nos níveis séricos de GPT. Em alguns animais a atividade da GPT é tão baixa que não pode ser detectada pelos analisadores usados rotineiramente (HÁRRISON, RITCHIE, 1994).

No período de 8 a 14 dias os níveis de GOT para o tratamento sem adição de enzima foram maiores significativamente que os demais tratamentos. A atividade da GOT existe em múltiplos tecidos, mais os principais são o fígado e o músculo. A GOT não é específica para dano hepatocelular nem para lesão muscular, mas em psitacídeos, sempre se apresenta aumentada com dano hepático de qualquer etiologia (CAPITELLI & CROSTA, 2013).

É importante destacar a falta de intervalos de referência para muitos parâmetros (DONELEY, 2011; TANG et al., 2013). Na clínica de aves é comum utilizar intervalos de referência baseados na literatura, em que foram usadas amostras com número pequeno de animais, que não foram corretamente caracterizadas e sem descrições detalhadas das metodologias utilizadas para os exames laboratoriais. A maioria dos clínicos está ciente deste problema e acaba definindo os seus próprios valores se baseando em experiência individual (TANG et al., 2013).

Todavia, pela falta de resultados atualizados fica difícil a discussão de valores de proteína, FA, GOT e GPT no fígado, uma vez que há uma enorme variabilidade de kits comerciais e metodologias aplicadas.

Determinação do perfil bioquímico sérico nas fases pré-inicial e inicial

Perfis séricos de nutrientes são apresentados na literatura para diferentes dietas, linhagens e metodologias de análise empregadas. Além disso, os valores das enzimas e dos minerais no soro diferem de alguns autores, por causa também, da aparelhagem usada para as dosagens e o método de obtenção do soro (MINAFRA et. al., 2007).

Nas aves, como em outras espécies, os minerais exercem três tipos de funções, são componentes estruturais dos órgãos e tecidos, constituintes dos fluidos corporais e dos tecidos envolvidos na manutenção da pressão osmótica, no balanço ácido-base, permeabilidade de membrana e irritabilidade de tecido e catalisadores nos sistemas enzimáticos e hormonais, no papel de componentes integrais ou específicos da estrutura das metaloenzimas (BERCHIERI et al., 2009).

Segundo MARQUES, (2007), no Brasil, há escassez de dados sobre níveis de referência para valores hematológicos e bioquímicos em frangos de corte, por isso a importância de se traçar o perfil bioquímico sanguíneo das aves nas diversas situações experimentais.

As concentrações médias de cálcio, fósforo, proteína, cloreto, fosfatase, potássio e relação cálcio e fósforo no soro sanguíneo para a fase pré-inicial e inicial estão presentes na Tabela 13.

Houve diferença significativa para as concentrações séricas de cálcio, fósforo, cloreto e proteína, no período de um a sete dias. Para o período de oito a 14 dias não houve diferença significativa somente para a fosfatase alcalina, para eletrólitos, relação cálcio e fósforo e proteína, houve diferença significativa. Para os parâmetros cálcio, cloreto, proteína e potássio houve diferença significativa com 21 dias de idade.

O cálcio é o mineral mais prevalente no corpo, forma parte dos ossos e a casca do ovo e tem importante papel em muitas reações bioquímicas (DE MATOS, 2008). As utilizações das celulases testadas mantiveram os parâmetros sanguíneos iguais quanto aos níveis de fósforo, fosfatase, potássio e relação cálcio e fósforo.

Elevações destes elementos também podem acontecer em condições patológicas. A hipercalcemia ($>11\text{mg/dL}$) tem sido relacionada com hipervitaminose D3, lesões ósseas osteolíticas secundárias a neoplasias e hiperalbuminemia. Por outro lado, a hipocalcemia ($<8\text{mg/dL}$) pode estar relacionada com má nutrição (deficiência de vitamina D3, excesso de fósforo na dieta), alcalose, hipoalbuminemia (DE MATOS, 2008; CAPITELLI & CROSTA, 2013). Os resultados encontrados para o tratamento contendo dieta basal mesmo maiores significativamente estão dentro na normalidade para as aves.

No período entre um a sete dias os níveis de cálcio foram inferiores aos parâmetros normais das aves, quando adicionado enzima celulase a ração. Porém, mesmo nos casos de deficiência severa de cálcio, os mecanismos de mobilização do cálcio ósseo pelo paratormônio mantêm as concentrações de cálcio dentro dos níveis mínimos (HOCHLEITHNER, 1994; DE MATOS, 2008).

Quanto aos níveis de cálcio somente foram diferentes significativamente entre 15 e 21 dias, em que a adição de celulase em pó com 1000g/t foi menor que os demais tratamentos.

TABELA 13. Níveis séricos dos minerais presentes no soro durante o período experimental.

Análise sanguínea 1° ao 7° dia							
Tratamentos	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mmol/L)	Relação CalXFos	Cloretos (mmol/L)	Potássio (mmol/L)	Proteína (mg/dL)	Fosfatase (UI/L)
Dieta Basal (DB)	10,88A	5,55A	1,95	80,07B	6,55	3,55A	211,57
DB + Celulase 500g/t	7,15B	3,51B	2,01	100,27A	6,09	2,11B	229,09
DB + Celulase 1000g/t	7,24B	3,36B	2,15	90,77A	6,35	2,06B	218,80
DB + Celulase 500mL/t	6,81B	3,12B	2,19	99,68A	6,20	2,26B	228,38
CV (%)	12,26	7,21	10,02	7,93	8,14	9,26	6,28
Valor de P	0,000	0,000	0,203	0,000	>0,05	0,000	0,124
Análise sanguínea 8° ao 14° dia							
Tratamentos	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mmol/L)	Relação CalXFos	Cloretos (mmol/L)	Potássio (mmol/L)	Proteína (mg/dL)	Fosfatase (UI/L)
Dieta Basal (DB)	9,33B	5,52A	1,769B	85,01A	7,89A	2,50B	256,58
DB + Celulase 500g/t	9,85A	5,05B	1,95A	69,39B	6,41B	2,88A	261,19
DB + Celulase 1000g/t	9,82A	5,07B	1,94A	67,19B	6,49B	2,89A	264,42
DB + Celulase 500mL/t	9,55AB	5,03B	1,90A	69,93B	6,13B	2,84A	259,1
CV (%)	2,12	5,05	6,03	9,26	4,40	6,82	5,57
Valor de P	0,000	0,012	0,002	0,001	0,000	0,005	>0,05
Análise sanguínea 15° ao 21° dia							
Tratamentos	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mmol/L)	Relação CalXFos	Cloretos (mmol/L)	Potássio (mmol/L)	Proteína (mg/dL)	Fosfatase (UI/L)
Dieta Basal (DB)	10,98A	5,60	1,98	73,97B	8,16A	3,35A	203,92
DB + Celulase 500g/t	10,53A	5,23	2,02	90,21A	7,18B	2,56B	208,82
DB + Celulase 1000g/t	9,85B	5,17	1,90	90,72A	7,27B	2,65B	208,50
DB + Celulase 500mL/t	10,99A	5,59	1,96	94,34A	7,10B	2,52B	203,43
CV (%)	2,85	7,78	7,70	8,39	4,71	5,81	8,82
Valor de P	0,000	0,187	>0,05	0,001	0,000	0,000	>0,05

Os valores de cálcio iônico não são afetados pela concentração de albumina, enquanto o cálcio plasmático total diminui com a hipoalbuminemia e aumenta na hiperalbuminemia (CAPITELLI & CROSTA, 2013). Isto explica os dados encontrados de um a sete dias em que houve diminuição da proteína e conseqüentemente dos níveis de cálcio no sangue para os tratamentos com adição de enzimas e o contrário ocorreu no período entre 15 e 21 dias, em que o aumento nos níveis de proteína houve aumento dos níveis de cálcio.

Os valores de cálcio iônico não são afetados pela concentração de albumina, enquanto o cálcio plasmático total diminui com a hipoalbuminemia e aumenta na hiperalbuminemia (CAPITELLI & CROSTA, 2013). Isto explica os dados encontrados de um a sete dias em que houve diminuição da proteína e conseqüentemente dos níveis de cálcio no sangue para os tratamentos com adição de enzimas e o contrário ocorreu no período entre 15 e 21 dias, em que com o aumento nos níveis de proteína houve aumento dos níveis de cálcio.

A relação entre Ca:P é muito importante para a manutenção das funções normais nas aves. Na ração considera-se como adequada a relação Ca:P de 2:1; embora, o valor diagnóstico do P sérico nas aves não é consistente e poucas vezes se usa a medição deste mineral no diagnóstico de uma condição clínica (SCHMIDT et al., 2007).

Não teve diferença significativa entre um e sete dias e 15 a 21 para a relação cálcio:fósforo, no período entre oito e 14 dias a relação foi menor significativamente quando não foi adicionada enzima a ração. Devido às médias maiores de cálcio e fósforo houve um desequilíbrio na relação cálcio e fósforo no tratamento sem adição de enzima.

Segundo ANCHIETA et al. (2008), os macroelementos cálcio e fósforo constituem a base da formação esquelética, enquanto sódio, cloro e potássio, estão distribuídos em maiores concentrações nos tecidos moles, controlando o equilíbrio ácido-básico.

As concentrações de proteína foram significativamente diferentes em todo período analisado. Quando foi adicionada enzima celulase a ração houve menores níveis de proteína no soro, com 15 a 21 dias.

A grande maioria das proteínas circulantes no plasma são sintetizadas pelo fígado, a exceção das imunoglobulinas. As principais funções destas moléculas são manter o volume sanguíneo por meio do efeito osmótico coloidal, participar na manutenção do pH do sangue, uma vez que apresentam capacidade tampão (do 15% a 20% da capacidade tampão total), fazer o transporte de hormônios e fármacos, participar da coagulação celular e catalisar (enzimas) e regular (hormônios) processos biológicos. Algumas delas também são indispensáveis nas reações inflamatórias, imunes e nos processos de regeneração e reparação tissular, quando são chamadas de proteínas de fase aguda (MELILLO, 2013).

Por causa das inúmeras funções das proteínas presentes no sangue a sua elevação no soro pode ser por muitas causas. Isto pode justificar as variações

encontradas neste trabalho em que os níveis de proteína foram maiores no período de um a sete e 15 a 21 dias e menores entre oito e 14 dias, quando não foi adicionada enzima celulase a ração.

A diminuição nas concentrações de proteína também foi reportada em situações de restrição alimentar em frangos de corte, quando a síntese hepática de proteínas diminuiu à metade (RAJMAN et al., 2006).

Devido à alta voracidade e a competição natural das aves pelo alimento é natural que algumas passem por intervalos sem consumir alimento. Isto pode justificar os níveis de proteína inferiores encontrados no período de 15 a 21 dias.

CARDOSO & TESSARI 2003 em seu trabalho, alimentaram pintos machos com ração comercial à base de milho e soja e avaliaram por meio da metodologia de refratometria, a quantidade de proteína plasmática destas aves durante 52 semanas, e obtiveram valores de concentração de proteína de 3,30 g/dL na primeira semana. Mesmas concentrações encontradas neste trabalho quando foi utilizada a enzima celulase em todos os períodos avaliados.

As concentrações de cloretos foram diferentes estatisticamente em todo período analisado. O potássio só não foi diferente estatisticamente aos sete dias, mas foi as 14 e 21 dias.

SOUZA et al. (2004) alimentaram frangos de corte com rações à base de farelo de soja e milho, com vários níveis de cloreto de potássio e obtiveram concentrações médias de cloro e potássio de 106,37 e 6,16 $\mu\text{mol/L}$. As médias identificadas para cloretos neste trabalho foram inferiores as mencionadas anteriormente tanto para cloro como potássio.

O grau de mudanças artificiais (pós-colheita) do sangue, para o parâmetro potássio parece seguir padrões espécie específico (HARR, 2002). O processamento rápido das amostras é essencial para quantificar este íon, pois foram observadas diminuições de até 60% nas concentrações de potássio no sangue de pombos após as duas horas da colheita. Já em frangos, esta diminuição foi de 30%.

A atividade enzimática da fosfatase alcalina no soro das aves aos sete, 14 e 21 dias no soro, não diferiram estatisticamente. Quando avaliados os níveis fosfatase alcalina, verifica-se que os níveis da enzima no soro foram mais expressivos nas primeiras semanas de idade das aves, sugerindo maior demanda do metabolismo e adaptação da ave à fase em que não há maturidade fisiológica. Ressalta-se que esses valores aumentaram, indicando que alterações do esqueleto estão relacionadas à

remodelação óssea (HARPER, 1994) em linhagens de frangos de corte de crescimento rápido.

BORSA et al. (2006) demonstraram valores de atividade de FA para frangos de corte na fase pré-inicial alimentados com ração comercial de 143,48 UI/L. Níveis maiores foram encontrados no presente trabalho.

KANASHIRO et al. (2001), avaliaram se a administração contínua de probióticos a frangos de corte alimentados com rações comerciais provocaria alterações a nível enzimático sérico da fosfatase alcalina e amilase. E identificaram que a fosfatase apresentou picos de atividade aos sete dias em aves controle, não demonstrando diferença estatística das aves tratadas (939,17 UI/L). Resultados semelhantes encontrados durante as fases avaliadas com a adição da celulase.

Resultados semelhantes foram encontrados por MINAFRA et al., (2008), que trabalhando com adição da enzima amilase não encontrou diferença significativa para fosfatase alcalina aos sete dias de idade (974,77 UI/L) e aos 21 dias (966,90 UI/L).

A hemólise e o prolongado contato com os eritrócitos por demora na separação do plasma ou soro podem afetar as concentrações potássio, cálcio, fósforo, e atividade sérica da fosfatase alcalina (QUEST et al., 1990; DONELEY, 2011). Nas aves, o prazo de 60 minutos para a centrifugação das amostras não é aceitável, sendo preciso que esta ocorra imediatamente após a colheita. Com a demora, a primeira alteração que ocorre é a diminuição acentuada dos valores de potássio, que se desloca para o interior das células (LUMEIJ, 2008).

CONCLUSÕES

A suplementação da enzima celulase líquida e em pó nas rações aos 21 dias afetou o consumo de ração, digestibilidade e concentrações sanguíneas dos eletrólitos. A biometria dos órgãos digestórios e análises das vísceras de pâncreas e fígado não foram alteradas, o que pode ser indicativo de desenvolvimento normal da ave e ausência de toxicidade.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatórios 2014. **Disponível em** <http://www.ubabef.com.br/noticias/1038?m=62>. Acesso em 16 de junho de 2014.
- AFTA, U. Exogenous carbohydrases in corn-soy diets for broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.68, p.447- 464, 2012.
- AMERAH, A. M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R. G.; TOMAS, D. G.; Influence of feed particle size and feed form on the performance, energy utilization, digestive tract development, and digsta parameters of broiler starters. **Poultry Science, Champaign**, v. 86, n. 12, p. 2615-2623, 2007.
- ANCHIETA, J; VILAR da Silva, J; AMÂNCIO, O; BATISTA, C; Alves de Oliveira, H. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, p.53-60, 2008.
- BATINA, P. Perfil bioquímico de frangos de corte experimentalmente intoxicados com aflatoxina com e sem a adição de montmorilonita sódica na dieta alimentar. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Santa Maria, 2004.
- BERCHIERI, A. Jr, SILVA, E.N., Fábio, J.D., Sesti, L., Zuanaze, M.A. (Eds.). **Doenças das Aves**. 2 ed., FACTA Brasil. 2009. 1.104p.
- BOETTCHER, A. Valores bioquímicos sanguíneos del cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*, Molina 1782), en una población silvestre, de Valdivia, Chile. **Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al título de Médico Veterinario**. Universidad Australde Chile. 2004.
- BORSA, A. KOHAYAGAWA, L. P.; BORETTI, M. E.; SAITO, M. E. KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.
- BRENES, A., GUENTER, W., MARQUARDT, R. R., ROTTER, B. A., 1993. Effect of- glucanase/ pentosanase enzyme supplementation on the performance of chickens

- and laying hens fed wheat, barley, naked oats and rye diets. *Can. J. Animal Science*. 73,941-951.
- BRITO, C.O.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; DIONÍZIO, M.A.; CARVALHO, D.C.O. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.457-461, 2006.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L.. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, Texas, v. 16, n. 1, p. 71–120, 2013.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Estudos dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 70, n.4, p.419-424, 2003.
- CARVALHO, J. C. C., BERTECHINI, A. G., RIOS, R. L., MESQUITA, F. R., LIMA, E. M. C., SORBARA, J. O. B., 2009. Use of a protease to enhance the utilization of corn amino acids by broilers. *Poultry Science*., 88 (Supl. 1), 69-70 (Abstr).
- CASPARY, W.F. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. Journal Clinical Nutrition*, v.55, p.299-308, 1992.
- CROOM, W. J.; BRAKE, J.; COLES, B. A. Is intestinal absorption capacity rate-limiting for performance in poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 8, p. 242-252, 1999.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO DIAS, J. L. Tratado de Animais Selvagens. **São Paulo: Roca, 2007.**
- DE MATOS, R. Calcium metabolism in birds. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, Texas, v. 11, n. 1, p. 59–82, 2008.
- DONELEY, B. Clinical technique: techniques in the practice diagnostic laboratory: a review. *Journal of Exotic Pet Medicine*, v. 20, n. 2, p. 117–123, 2011.
- FAGUNDES N. S. Desenvolvimento do sistema digestório e da capacidade digestiva de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de energia metabolizável. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Medicina Veterinária, Setembro de 2011.
- FISCHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, n. 1, p. 402-410, 2002.
- FOYE, O. T.; UNI, Z.; FERKET, P. R. Effect of in ovo feeding eggs white protein, B-hydroxi-B-methylbutyrate, and carohydrases on glycogen status and neonatal growth of turkeys. *Poultry science*, Champingn, v. 85, n. 7, p. 1185-1192, 2006.

- FUDGE, ALAN M. Diagnosis and treatment of avian bacterial disease. **Seminars in avian and exotic pet Medicine**. Vol. 10. No. 1. WB Saunders, 2000.
- GRUNKEMEYER, V. L. Advanced diagnostic approaches and current management of avian hepatic disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 13, n. 3, p. 413-427, 2010.
- HARPER, H.A. **Manual de química fisiológica**. 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 529p.
- HARR, K. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n.3, 2002. (HARR, 2002).
- HARRISON, G. J. RITCHIE, B. W.; Formulary. **Avian medicine: Principles and application**, p. 227-253, 1994.
- HOCHLEITHNER, M. Biochemistries In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 176-198.
- JAENSCH, S. Diagnosis of avian hepatic disease. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 9, n. 3, p. 126-135, 2000.
- KANASHIRO, A.M.I.; BOTTINO, J.A.; CASTRO, A.G.M. et al. Influência da administração contínua de probióticos a frangos de corte sobre atividades enzimáticas séricas e concentração de colesterol plasmático. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, n.2, p.11-17, 2001.
- LEITE, P. R. S. C.; LENADRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; GOMES, N. A.; JARDIM FILHO, R. M. Desempenho de frangos de corte e digestibilidade de rações com sorgo ou milho e complexo enzimático. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p.280-286, 2011.
- LIMA, A. C. F.; MACARI, M.; PIZAURO JÚNIOR, J. M.; MALHEIROS, E. B. Atividade enzimática pancreática de frangos de corte alimentados com dietas contendo enzimas ou probióticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 389-396, 2002.
- LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p 839-872.
- MARCHAIM, U.; KULKA R. G. The non-parallel increase of amylase, chymotrypsinogen and procarboxypeptidase in the developing chick pancreas. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Ezimology**, Amsterdam, v. 146, n. 2, p. 553-559, nov., 1967.
- MARQUES S. F. F. Biotecnologia enzimática: produção de complexo multienzimático de *trichoderma harzianum* e sua aplicação na alimentação de frangos de corte. **Dissertação - Universidade Federal de Goiás, Programa de pós-graduação em ciência animal (2007)**.

- MATTERSON, L.D., POTTER, L.M., STUTZ, M.W., SINGSEN, E.P. 1965. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. Storrs, Connecticut: The University of Connecticut, **Agricultural Experiment Station**; 1965. p.11. Research Report, 7.
- MELILLO, A. Applications of serum protein electrophoresis in exotic pet medicine. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, n. 1, p. 211–225, 2013.
- MENEGHETTI, C.; JÚNIOR, A.P.G.; SALDANHA, M.M. Carboidratos exógenos em rações para frangos de corte. **Revista Eletrônica de Pesquisa Animal**, v.02, n.01, p.34-46, 2014.
- MINAFRA, C. S., ARRUDA, M. L. T., REZENDE, C. S. M., ANDRADE, M., MESQUITA, A. J. D., COELHO, K. O. Salmonella sp. em corações e fígados normais e denados de frangos de corte abatidos no estado de Goiás e identificação da suscetibilidade a antimicrobianos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 67(2) (2007), 142-147.
- MINAFRA, C.S.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P. et al. Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.11, p.1973-1977, 2008.
- NITSAN, Z. IÇ BEM-AURAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, London, v. 32, n.3, p. 515-523, 1991.
- NOY, Y.; SKALN, D. Digestion and absorption in the young chick. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 2, p. 366-373, 1995.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Nutrient use in chicks during the first week posthatch. **Poultry Science**, v. 81, p.391-399, 2002.
- ODETALLAH, N.H.; WANG, J.J.; GARLICH J.D.; SHIH, J.C.H. Versazyme supplementation of broiler diets improves market growth performance. **Poultry Science**, v.84 p.858-864, 2005.
- OLIVEIRA, A.; HACKENHAAR, L. **AveWorld 2008**. Disponível em <http://www.aveworld.com.br/default.php?acao=documentado&cod=4323>. Acesso: 14 de jun de 2014.
- OLIVEIRA, P.A.V. Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos. Concórdia: **Embrapa Suínos e Aves** – CNPSA, 1994. 188p. (Documentos, 27).
- OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually and in combination in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, p. 77-78, 2007.

- PEDROSO, A. A. BARBOSA, C. E.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M.; BARBOSA, V. T. Intervalo entre a retirada do nascedouro e o alojamento de pintos de diferentes pesos oriundos de matrizes jovens. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.3, p. 249-256, 2006.
- PINHEIRO, D. F. et al. Effect of early feed restriction and enzyme supplementation on digestive enzyme activities in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p. 1544-1550, 2004.
- QUEST, A. F. G.; EPPENBERGER, H. M.; WALLIMANN, T. Two different B-type creatine kinase subunits dimerize in a tissue-specific manner. **Elsevier Science Publishers Biomedical Division**, v. 262, n. 2, p. 299-304, 1990.
- RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOSOVA, D.; MACAJOVA, M.; SEDLACKOVA, M.; KOSTAL, L.; JEZOVA, D.; VYBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, n. 145, p. 363-371, 2006.
- RIZZOLI, P. W. Desempenho, incremento de energia e digestibilidade de nutrientes em rações de frangos de corte contendo enzimas exógenas. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2009.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed.** – Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011, 252p.
- SAEG. Sistema de análise estatísticas e genéticas - **versão 9.5**. Viçosa/MG 2007.
- SAKOMURA, N. K.; LONGO, F. A.; RABELLO, C. B.; WATANABE, K.; PELICIA, K.; FREITAS, E. R.; Efeito do nível de energia metabolizável da dieta no desenvolvimento e metabolismo energético de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33,n.6, p.1758-1767, 2004.
- SCHMIDT, E. M. S. et al. Patologia clínica em aves de produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9-20, 2007.
- SILVA, D. J & QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos), 2.ed. **Viçosa: Universidade Federal de Viçosa -Imprensa Universitária**, 2002, p. 165.
- SLOMINSKI, B.A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, 90, 2003-2023, 2011.
- SOUZA, B. B.; BERTECHINI, A. G. ; SANTOS, C. D. LIMA, J. A. F.; TEIXEIRA, A. S.; FREITAS, R. T. F. Balanço de potássio e desempenho de frangos de corte suplementados com KCl no verão. **Ciência Agrotécnica**, v 28, n. 5, p. 1160-1168, 2004.

- STEENFELDT S., 2001. The dietary effect of different wheat cultivars for broiler chickens. *Brit. Poultry Science*, 42, 595-609.
- STRADA, E. S. O.; ABREU, R. D.; OLIVEIRA, G. J. C. O.; COSTA, M. C. M. M.; CARVALHO, G. J. L.; FRANCA, A. S.; CLARTON, L.; AZEVEDO, J. L. M. Uso de enzimas na alimentação de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, n. 6, p. 2369-2375, 2005.
- STRINGHINI, J. H., ANDRADE, M. L., ANDRADE, L., XAVIER, S. A. G., CAFÉ, M. B., & LEANDRO, N. S. M. Desempenho, balanço e retenção de nutrientes e biometria dos órgãos digestivos de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de proteína na ração pré-inicial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(6), 2350-2358 2006.
- STRINGHINI, J. H.; RESENDE, A.; CAFÉ, M. B.; SUSANA, N.; MOGYCA, L.; ANDRADE M. A. Efeito do peso inicial dos pintos e do período da dieta pré-inicial sobre o desempenho de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 2, p.353-360, 2003.
- SWENSON, M. J.; O'REECE, W. Fisiologia dos animais domésticos. **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, 1996. 700p.
- TAKO, P.; FERKET, P. R.; UNI, Z. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta hydroxy methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poultry Science*, Champaign, v.83, n.12, p.2023-2028, 2004.
- TANG, F.; MESSINGER, S.; CRAY, C. Use of an indirect sampling method to produce reference intervals for hematologic and biochemical analyses in psittaciform species. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, Boca Raton, v. 27, n. 3, p. 194–203, 2013.
- THOMAS, D. V.; RAVINDRAN, V. Effect of cereal type on the performance, gastrointestinal tract development and intestinal morphology of the newly hatched broiler chick. *The Journal of Poultry Science*, Ibaraki, v.45, n. 1, p. 46-50, 2008.
- TOLEDO, G.S.P.; COSTA, P.T.C.; SILVA, J.H. Frangos de corte alimentados com dietas de diferentes densidades nutricionais suplementadas ou não com enzimas. *Ciencia Rural*, v.37, p.518-523, 2007.
- TORRES, D. M.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINE, A. G.; FREITAS, R. T. F.; SANTOS, E. C. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. *Ciência Agropecuária*, Lavras, v.27, n.6, p.1401-1408, 2003.
- UNI, Z., FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. *Word's Poultry Science Journal*, Cambridge, v.60, n. 1, p. 101-111,2004.
- VALLER, S. F.; ALLGAVERN, M. C.; PEREIRA, R. A.; BARCELLOS, L. J. G.; HLAVAC, N. R. C. Serum biochemical parameters of healthy male, female and

Young blue-and-yellow macaws (*Ara ararauna*) bred in captivity. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p. 711-716, mai-jun, 2008.

VERSTEGEN, M.W.A., POEL, A.F.B. (2009). Grains in Nutrition for Farm Animals. **XXV Curso de Especializacion. FEDNA.**