

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Mariane de Oliveira Fernandes

**SUPERDOSE DE FITASE, DIFERENTES pH DE ÁGUA E DOIS
SISTEMAS DE AVIÁRIOS SOBRE A EFICIÊNCIA PRODUTIVA DE
FRANGOS DE CORTE**

Santa Maria, RS
2020

Mariane de Oliveira Fernandes

**SUPERDOSE DE FITASE, DIFERENTES pH DE ÁGUA E DOIS SISTEMAS DE
AVIÁRIOS SOBRE A EFICIÊNCIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Zootecnia**.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Pires Rosa

Santa Maria, RS
2020

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Fernandes, Mariane de Oliveira
Superdose de fitase, diferentes pH de água e dois sistemas de aviários sobre a eficiência produtiva de frangos de corte / Mariane de Oliveira Fernandes.- 2020.
95 p.; 30 cm

Orientador: Alexandre Pires Rosa
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Zootecnia, RS, 2020

1. Aviários 2. Enzima 3. Parâmetros zootécnicos 4. Qualidade de água I. Rosa, Alexandre Pires II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, MARIANE DE OLIVEIRA FERNANDES, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Mariane de Oliveira Fernandes

SUPERDOSE DE FITASE, DIFERENTES pH DE ÁGUA E DOIS SISTEMAS DE AVIÁRIOS SOBRE A EFICIÊNCIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Zootecnia**.

Aprovado em 24 de março de 2020:

Alexandre Pires Rosa, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Antônio Carlos Mortari, Dr. (UFSM) - Parecer

Naglezi de Menezes Lovatto, Dr^a. (UFSM) - Parecer

Levy do Vale Teixeira, Dr. (DSM) - Parecer

Nei André Arruda Barbosa, Dr. (EVONIK) - Parecer

Santa Maria, RS
2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar saúde, coragem e força para alcançar meus objetivos!

A minha família, que foi meu suporte e exemplo para chegar até aqui! Meu pai, Mario Abrilino de Oliveira Fernandes agradeço pela educação que me foi dada, os valores que me foram passados, o Senhor é um grande homem e sempre será meu exemplo de uma pessoa de caráter, humilde, ético e de respeito.

Minha mãe, Eloisa de Oliveira Fernandes, obrigada por sempre estar preocupada comigo, sempre me ligando para saber como estou, obrigada por sempre me apoiar nas minhas decisões, sempre quis dar orgulho a você pois sabemos por tudo que passamos durante a minha infância e da minha irmã para que pudéssemos ter suporte na escola e na mesa!

Agradeço minha irmã, Tanise de Oliveira Fernandes por todo apoio, amizade, conversas e principalmente por me dar meu maior presente, meu sobrinho Caetano, que amo de todo meu coração e que me fez amolecer e ficar mais sentimental nesse último ano!

Agradeço toda a equipe do Laboratório de Avicultura, a Bety, Professor Alexandre, a equipe de Pós-Graduação e principalmente os estagiários que me ajudaram no experimento, foram 42 dias de experimento a campo, dias de muito trabalho e inúmeras análises em laboratório que foram de grande aprendizagem!

Obrigada a Universidade Federal de Santa Maria por todo o suporte dado, pelas instalações cedidas ao experimento, obrigada por ser minha casa durante esses anos de Doutorado, agradeço a CAPES pelo suporte financeiro durante os 3 anos que fui bolsista!

Obrigada a Empresa DSM por financiar e oportunizar a realização deste projeto inovador, agradecemos a confiança!

Obrigada meus amigos, por todo companheirismo, por toda amizade, sem amigos não somos nada!

Muito obrigada!

RESUMO

SUPERDOSE DE FITASE, DIFERENTES pH DE ÁGUA E DOIS SISTEMAS DE AVIÁRIOS SOBRE A EFICIÊNCIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE

AUTORA: Mariane de Oliveira Fernandes

ORIENTADOR: Alexandre Pires Rosa

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da superdose de fitase, diferentes pH de água em diferentes sistemas de climatização sobre o desempenho, digestibilidade ileal, parâmetros sanguíneos, qualidade óssea, pH intestinal e mio-inositol circulante de frangos de corte. Foi realizado um estudo na Universidade Federal de Santa Maria o qual é descrito nos capítulos I e II. No capítulo I: EFEITOS INTERATIVOS DO pH DE ÁGUA DE BEBIDA, SISTEMAS DE CLIMATIZAÇÃO E DA FITASE MICROBIANA EXÓGENA SOBRE O DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE ILEAL DE NUTRIENTES, pH INTESTINAL, QUALIDADE ÓSSEA E CONCENTRAÇÃO DE MIO-INOSITOL NO PLASMA DE FRANGOS DE CORTE, foram utilizados 4000 frangos de corte da linhagem Cobb-500 distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 4x2x2, sendo: 4 dietas: dieta 1: controle positivo (PC) sem suplementação de fitase, dieta 2: controle negativo [NC – redução de 0,15% de cálcio (ca) e 0,15% de fósforo (avP)], dieta 3: controle negativo com suplementação de 1000 FYT/kg de fitase e dieta 4: controle negativo com suplementação de 2500 FYT/kg de fitase, dois pH de água (6,2 e 8,2) e dois sistemas de climatização (aviário convencional e climatizado), totalizando 16 tratamentos, sendo 8 tratamentos com 7 repetições com 50 frangos no aviário climatizado e 8 tratamentos com 6 repetições com 25 frangos no aviário convencional. O pH 6,2 influenciou a eficiência da fitase na fase inicial de frangos de corte, o pH 8,2 melhorou o GP, CA na fase final de criação e aumentou o pH de conteúdo de moela. As diferentes inclusões de fitase melhoraram a digestibilidade ileal aparente de Ca, P e N. A concentração de mio-inositol no plasma foi maior em aves alojadas em aviário convencional suplementadas com fitase. A inclusão de 2500 FYT/kg de fitase melhorou as características ósseas (Cinza, Ca e P) dos frangos. No capítulo II: EFEITOS DE DIFERENTES SISTEMAS DE ALOJAMENTO E pH DE ÁGUA NO DESEMPENHO, PH INTESTINAL E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE FRANGOS DE CORTE, foram utilizados 1000 frangos de corte da linhagem Cobb-500 distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 2x2, sendo 2 sistemas de aviários (convencional e climatizado) e 2 pH de água de bebida (6,2 e 8,2), totalizando 4 tratamentos, sendo 2 tratamentos com 7 repetições de 50 aves cada no galpão climatizado e 2 tratamentos com 6 repetições de 25 aves cada no galpão convencional. Para elevar o pH de água de 6,2 para 8,2 foi utilizada uma solução concentrada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). O pH 8,2 melhorou o desempenho e os níveis séricos de glicose circulante de aves alojadas em aviários convencionais. Em conclusão, a utilização de superdose de fitase pode ser utilizada em dietas com redução de Ca e P sem causar prejuízos ao desempenho de frangos de corte, além de melhorar resultados de digestibilidade ileal, qualidade óssea, mio-inositol circulante, além disso, o pH de água 8,2 ajuda a reduzir impactos de estresse por calor em frangos alojados em aviário convencional.

Palavras-chave: Aviários. Enzima. Parâmetros zootécnicos. Qualidade de água.

ABSTRACT

HIGH DOSE OF PHYTASE, DIFFERENT WATER pH AND TWO HOUSING SYSTEMS ON THE PRODUCTION EFFICIENCY OF BROILERS

AUTHOR: Mariane de Oliveira Fernandes

ADVISOR: Alexandre Pires Rosa

The objective of this study was to evaluate the effect of high dose of phytase, different pH of water in different housing systems on performance, ileal digestibility, blood parameters, bone quality, intestinal pH and circulating myo-inositol of broilers. A study was carried out at the Federal University of Santa Maria which is described in chapters I and II. In Chapter I: INTERACTIVE EFFECTS OF DRINKING WATER pH, POULTRY HOUSING SYSTEM AND EXOGENOUS MICROBIAL PHYTASE ON GROWTH PERFORMANCE, ILEAL DIGESTIBILITY OF NUTRIENTS, INTESTINAL pH, SKELETAL INTEGRITY AND PLASMA MYO-INOSITOL CONCENTRATIONS IN BROILER CHICKENS, were used 4,000 broilers of the Cobb-500 line distributed in a completely randomized design, with a factorial arrangement 4x2x2, being: 4 diets: diet 1: positive control (CP) without supplementation of phytase, diet 2: negative control [NC - reduction of 0.15% calcium (ca) and 0.15% phosphorus (avP)], diet 3: negative control with supplementation of 1,000 FYT / kg of phytase and diet 4: negative control with supplementation of 2,500 FYT / kg of phytase , two water pH (6.2 and 8.2) and two housing systems (conventional and climate-controlled poultry), totaling 16 treatments, 8 treatments with 7 repetitions with 50 chickens in the climate-controlled and 8 treatments with 6 repetitions with 25 broilers in the conventional house. The pH 6.2 influenced the efficiency of phytase in the initial phase of broilers, pH 8.2 improved the GP, CA in the final phase of creation and increased the pH of gizzard content. The different phytase inclusions improved the apparent ileal digestibility of Ca, P and N. The concentration of myo-inositol in plasma was higher in broilers housed in conventional house supplemented with phytase. The inclusion of 2,500FYT/kg of phytase improved the bone characteristics (ash, Ca and P) of the broilers. In chapter II: EFFECTS OF HOUSING SYSTEMS AND WATER pH ON PERFORMANCE, INTESTINAL pH AND SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BROILERS, 1,000 broilers of the Cobb-500 line were used distributed in a completely randomized design, with a factorial arrangement 2x2, with 2 housing systems (conventional and acclimatized poultry house) and 2 pH of drinking water (6.2 and 8.2), totaling 4 treatments, 2 treatments with 7 repetitions of 50 birds each in the acclimatized poultry house and 2 treatments with 6 repetitions of 25 birds each in the conventional house. To raise the water pH from 6.2 to 8.2, a concentrated sodium bicarbonate solution (NaHCO₃) was used. The pH 8.2 improved the performance and serum levels of circulating glucose in broilers housed in conventional house. In conclusion, the use of high dose of phytase can be used in diets with reduced nivel Ca and P without causing damage to the performance of broilers, and improve ileal digestibility, bone quality and circulating myo-inositol, in addition, water pH 8.2 helps to reduce impacts of heat stress in broilers housed in a conventional poultry house.

Keywords: Broilers house. Enzyme. Performance parameters. Water quality.

LISTA DE FIGURAS

APRESENTAÇÃO

Figura 1 – Interação do fitato com minerais e aminoácidos.....	14
--	----

CAPÍTULO I

Figure 1. Interaction between diet and pH in myo-inositol concentration in plasma (mg/l) of broilers. Means were obtained from 13 replicate box. Means for a myo-inositol whit different letters (a, b or c) are significantly different ($P < 0.05$).	56
Figure 2. Interaction between diet and pH in plasma myo-inositol concentration (mg / l) of broilers comparing BWG (1-42 days).	57
Figure 3. Interaction between aviary and pH in myo-inositol concentration in plasma (mg/l) of broilers. Means for a myo-inositol whit different letters (a, b or c) are significantly different ($P < 0.05$).	58
Figure 4. pH of intestinal contents (gizzard, duodenum and ileum) in the main factor pH. The pH of water 8.2 only altered the pH of gizzard contents ($P = 0.0367$), the other variables were not affected.....	59
Figure 5. Temperature control at different times in climate-controlled poultry house.....	60
Figure 6. Temperature control at the different times in conventional poultry house.	61

CAPÍTULO II

Figure 1. Temperature control at different times in Acclimatized Poultry House.	83
Figure 2. Temperature control at the different times in conventional poultry house.	84

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Table 1. Ingredient and nutrient composition of the study diets to broilers in the different phases	51
Table 2. Feed intake (FI, g) and body weight gain (BWG, g) of broilers fed diets supplemented with phytase in different pH of water in two housing systems.....	53
Table 3. Feed conversion rate (FCR) of broilers fed diets supplemented with phytase in different pH of water in two housing systems.....	54
Table 4. Apparent ileal digestibility (%), tibia bone mineralization (%) and plasma myo-inositol concentration (mg/l) in broilers fed diets supplemented with phytase in different pH of water in two housing systems.....	55

CAPÍTULO II

Table 1. Ingredient and nutrient composition of the study diets to broilers in the different phases	77
Table 2. Body weight (g) ¹ and feed intake (g) ¹ in the different phases of creation.....	79
Table 3. Body weight gain (g) ¹ , feed conversion rate (kg) ¹ and European Productive Efficiency Index (EPEI) ¹ in the different phases of creation	80
Table 4. Serum biochemical parameters ¹ of broilers submitted to different treatments	81
Table 5. pH content of duodenum ¹ , ileum ¹ and gizzard ¹ of broiler chickens submitted to different treatments.....	82

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	12
2.1	HIPÓTESES	12
2.2	OBJETIVOS.....	12
2.2.1	Geral	12
2.2.2	Específicos	12
3	ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	14
3.1	FITATO.....	14
3.2	ENZIMA FITASE NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE	15
3.2.1	Fitase na digestibilidade ileal de frangos de corte	17
3.2.2	Fitase e características ósseas.....	18
3.2.3	Superdose de fitase	20
3.2.3.1	<i>Mio-inositol</i>	21
3.2.4	pH intestinal e enzima fitase.....	22
3.3	QUALIDADE DA ÁGUA NA AVICULTURA	23
3.3.1	pH de água de bebida.....	24
3.3.2	Bicarbonato de sódio (NaHCO₃).....	25
3.4	DIFERENTES SISTEMAS DE CLIMATIZAÇÃO E AMBIENTE INTERNO	26
4	CAPÍTULO I – INTERACTIVE EFFECTS OF DRINKING WATER pH, POULTRY HOUSING SYSTEM AND EXOGENOUS MICROBIAL PHYTASE ON GROWTH PERFORMANCE, ILEAL DIGESTIBILITY OF NUTRIENTS, INTESTINAL pH, SKELETAL INTEGRITY AND PLASMA MYO-INOSITOL CONCENTRATIONS IN BROILER CHICKENS.....	28
5	CAPÍTULO II – EFFECTS OF HOUSING SYSTEMS AND WATER pH ON PERFORMANCE, INTESTINAL pH AND SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BROILERS.....	62
6	DISCUSSÃO	85
7	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as dietas para frangos de corte são basicamente formuladas à base de milho e soja, sendo que aproximadamente 66% do fósforo (P) destes grãos estão armazenados na forma de ácido fítico (mio-inositol hexafosfato). O ácido fítico na forma iônica pode formar sais insolúveis (fitatos) com cálcio, cobre, magnésio, ferro, zinco e potássio além de complexar-se com proteínas, aminoácidos e carboidratos, ocasionando inibição da atividade de algumas enzimas digestivas como pepsina, tripsina e alfa-amilase (LELIS et al., 2010; SELLE; RAVIDRAN, 2007). Nos vegetais, a hidrólise do fitato ocorre pela ação da enzima fitase por eles produzidos. No entanto, o organismo das aves não produz enzima fitase, e em consequência, o uso de fitase exógena na dieta têm sido eficiente.

Fitases exógenas têm sido utilizadas, comercialmente, desde o início da década de 1990 a fim de reduzir o impacto ambiental na produção intensiva de animais e para melhorar a rentabilidade de produção de aves e suínos (SELLE; RAVINDRAN, 2007, 2008). Esses efeitos estão associados, principalmente, à melhoria na retenção de P-fítico por animais alimentados com fitase e uma redução no uso de fontes inorgânicas de fósforo na dieta.

Com o uso de fitase exógena e a degradação do fitato, o fósforo inorgânico ou outras fontes de fósforo, podem ser substituídos em parte na dieta pelo fósforo fítico sem influenciar negativamente o desempenho das aves (GOMIDE et al., 2011). Vários estudos têm demonstrado que a adição de fitase microbiana na dieta das aves pode melhorar a utilização de outros nutrientes além do fósforo, incluindo macro elementos, aminoácidos e aproveitamento da energia dietética (SELLE; RAVIDRAN, 2007).

O uso econômico da fitase exógena como fonte de fosfato limitava-se a inclusão de aproximadamente 500 FTU/kg e 1000 FTU/kg de fitase em dietas de frangos de corte para melhorar o desempenho das aves (SILVA et al., 2008). Além de melhorar a digestibilidade de fósforo e reduzir os efeitos antinutritivos do fitato, o efeito sobre o desempenho das aves vai além do que pode ser explicado (COWIESON et al., 2011). Com isso, têm-se estimulado o uso de maiores dosagens de fitase, devido ao desempenho das aves continuar aumentando com níveis crescentes de fitase na dieta, acima das recomendações atuais da indústria, conceituado como “superdose” (COWIESON et al., 2004).

A eficiência da fitase em dietas para frangos é dependente de fatores como presença de substrato, pH do trato intestinal, concentração de Ca na dieta, etc, devido a isso, os cuidados com a água de bebida também são necessários. A quantidade de água ingerida, e o pH da mesma tem importante papel nos processos biológicos, um dos quais tem o poder de

influenciar a atividade (cultura) de enzimas como a fitase (hexafosfato de mio-inositol fosfohidrolase), que hidrolisam fitato e inositam fosfatos de inositol (COWIESON et al., 2011). Um dos elementos mais importantes da água é o pH, que representa o conteúdo de dióxido de carbono livre, ácidos minerais e sais de ácidos fortes, que, por dissociação, resultam em íons hidrogênio em solução (MACÊDO, 2007).

O intervalo de pH de água para aves recomendado pela maioria dos pesquisadores é entre 6-9, o consumo de água fora dessa faixa pode alterar o desempenho produtivo de frangos de corte e poedeiras (POMIANO, 2002). Assim, é necessário dar a devida importância à grande variabilidade de pH da água que os frangos de corte consomem em todo território mundial.

Na produção avícola, a água é considerada o nutriente essencial mais importante e, no entanto, sua importância é subestimada pela maioria dos técnicos avícolas (VIOLA et al., 2009). Ainda, o consumo de água também é afetado pelo tipo de aviário, o que pode afetar o desempenho das aves. Frangos alojados em aviário convencional podem apresentar sinais de estresse por calor, sendo assim, diminuem o consumo de ração para reduzir a produção de calor metabólico, e assim manter a homeotermia, que afeta negativamente o ganho de peso e conversão alimentar (OLIVEIRA et al., 2006).

O fósforo participa dos processos de utilização e transferência de energia, com relevância no transporte de ácidos graxos, absorção e deposição de gorduras e formação de proteínas em situação de estresse por calor em que o consumo de ração é afetado, o atendimento da exigência desse mineral, em função de seu papel metabólico, é crucial para a produtividade.

Na literatura encontram-se informações relacionando pH intestinal e atividade de enzimas digestivas, porém, são escassas as informações que relacionam a influência do pH da água de bebida na atividade enzimática. Diante do exposto, este estudo busca maiores informações sobre a associação de pH da água e superdose de fitase em dietas para frangos de corte em diferentes tipos de aviários.

2 HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESES

A inclusão das diferentes doses de fitase poderá melhorar o desempenho de frangos de corte alojados em diferentes sistemas de climatização e consumindo água com diferentes pH.

As diferentes doses de fitase poderão melhorar a digestibilidade de nitrogênio, energia bruta, cálcio e fósforo em frangos de corte alojados em galpão climatizado e convencional consumindo água com pH 6,2 e 8,2.

A adição de fitase poderá melhorar a porcentagem de cinzas ósseas, cálcio e fósforo das tíbias de frangos de corte alojados em aviário convencional e climatizado.

A fitase poderá influir na concentração de mio-inositol circulante no plasma de frangos de corte alojados em diferentes galpões.

Os diferentes pH de água poderão alterar o pH de conteúdo de moela, duodeno e íleo.

Os diferentes pH de água poderão melhorar os parâmetros sanguíneos de frangos de corte alojados em ambiente convencional e climatizado.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Geral

O presente estudo tem como objetivo avaliar a superdose de fitase no desempenho, qualidade óssea, parâmetros digestórios e hematológicos, de frangos de corte recebendo água de bebida com diferentes pH sobre diferentes sistemas de climatização.

2.2.2 Específicos

Avaliar a eficácia da utilização da superdose de fitase em relação ao desempenho zootécnico (peso corporal, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar).

Avaliar a digestibilidade ileal do nitrogênio, energia bruta, cálcio e fósforo em frangos de corte com 42 dias de idade, consumindo dietas com diferentes níveis de fitase e diferentes pH de água.

Determinar a composição óssea (Cinza, Cálcio e Fósforo) na tíbia de frangos de corte com diferentes doses de fitase.

Avaliar a concentração de mio-inositol circulante quando consumindo dietas com superdose de fitase.

Avaliar os diferentes pH de água (6,2 e 8,2) sobre o pH de conteúdo de moela, duodeno e íleo.

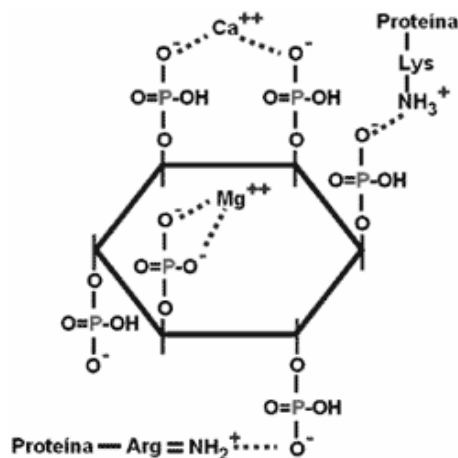
Avaliar os parâmetros hematológicos dos frangos de corte submetidos a diferentes pH de água em diferentes sistemas de climatização.

3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

3.1 FITATO

O fósforo (P) é um importante mineral estrutural presente nos componentes fosfatados das membranas celulares e participa nos processos fisiológicos, enzimáticos, na absorção de nutrientes, na mineralização óssea, além de ser um dos minerais que mais onera os custos das rações para aves. Contudo, as dietas de frangos são basicamente compostas por alimentos de origem vegetal (milho e farelo de soja), sendo que, aproximadamente 66% do fósforo está na forma de ácido fítico ou fitato. Existem três terminologias utilizadas na literatura para descrever o substrato para a enzima fitase: fitato, fitina e ácido fítico. O termo mais utilizado é o fitato, que é uma mistura de sais de ácido fítico (hexafosfato de mio-inositol; IP6), ligado a íons de Na (sódio), Mg (magnésio), K (potássio), Ca (cálcio), e Zn (zinco), entre outros (FIGURA 1). O termo fitina refere-se, especificamente, ao complexo depositado de IP6 com K, Mg e Ca, como acontece em plantas, considerando que ácido fítico é a forma livre de IP6. Os minerais e outros nutrientes, uma vez ligados à molécula de ácido fítico, tornam-se indisponíveis ao animal, ou seja, não são digeridos (DOURADO et al., 2014).

Figura 1 – Interação do fitato com minerais e aminoácidos



A maioria das sementes apresenta de 50-85% do fósforo complexado ao ácido fítico. Vários autores relatam que a molécula do ácido fítico contém aproximadamente 28,2% de fósforo com propriedade antinutricional devido sua complexação ao inositol e a capacidade de ligação com proteínas, aminoácidos, cátions, amido e enzimas, como pepsina, tripsina, α -amilase e cofatores enzimáticos. Desse modo, a solubilidade e a digestibilidade da dieta

podem ser drasticamente reduzidas pela formação de complexos insolúveis entre o ácido fítico e as substâncias acima citadas (DOURADO et al., 2014).

Segundo Cowieson e Ravindran (2007), o fitato é um antinutriente dietético que, através de mecanismos eletrostáticos, reduz a solubilidade da proteína e impede a digestão, aumentando a perda de nutrientes endógenos. Esses efeitos podem ser substanciais, embora a magnitude dependa da concentração de fitato, fonte e características da proteína, do equilíbrio de cátions/ ânions e vários outros fatores (BYE et al., 2013; COWIESON et al., 2011).

Segundo Cowieson et al. (2006a), o fitato tem a capacidade de alterar o *turnover* das células intestinais, aumentando a excreção de mucinas e conseqüentemente a perda de nitrogênio endógeno. A excreção excessiva de mucina pode superar a síntese de mucina, comprometendo assim a integridade da mucosa intestinal. A produção de citoquinas no nível intestinal como resposta a tais irritações pode comprometer ainda mais a integridade intestinal (MCKAY; BAIRD, 1999). Segundo Olukosi et al. (2013) é concebível que o ácido fítico, devido ao seu papel no aumento das perdas de nutrientes endógenos e na excreção de mucina, pode comprometer a saúde intestinal e que a fitase pode contrariar esse efeito e assim reduzir os custos metabólicos e as conseqüências da reação imune ao fitato da dieta.

Outro ponto importante é a formação do fitato de cálcio, Selle et al. (2007) destacam a importância da interação do cálcio e da fitase, pois altas concentrações de cálcio podem se precipitar ao fitato formando fitato de cálcio, um complexo insolúvel no intestino que impede a atuação da fitase por causa da competição do cálcio com os sítios ativos da enzima. Powell et al. (2011), mostraram que o calcário, fosfato monocálcico, fosfato bicálcico e a concentração de cálcio na dieta afetam a utilização de fósforo, desempenho e a mineralização óssea. McKnight (1999) afirmou que níveis de cálcio acima de 0,70% em pH 6,0 é suficiente para permitir a reação do fitato de cálcio.

3.2 ENZIMA FITASE NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

As fitases alimentares estão divididas em duas categorias, que dependem do local onde é iniciada a hidrólise da molécula de fitato. São denominadas de 3 ou 6 fitases, pois iniciam a hidrólise a partir dos carbonos 3 e 6, respectivamente.

As reações sucessivas catalisadas pelas fitases são feitas por etapas e promovem a desfosforilação dos ésteres de mio-inositol fostato (IP6) até a liberação de cinco grupos fosfatos, restando apenas uma molécula de mio-inositol fosfato ligada a um grupo fosfato (mio-inositol monofosfato), no carbono 2 (C2), por ser resistente à hidrólise enzimática (IP1).

Teoricamente a hidrólise deveria render seis moléculas inorgânicas de fósforo e um inositol, entretanto a adição de fitases exógenas hidrolisa menos que 35% do fitato dietético (Selle e Ravindran, 2007), isso porque o tempo de trânsito e as limitações de pH no trato digestório dos monogástricos não permitem a completa desfosforilação do ácido fítico em inositol e fosfatos.

A fitase ou mio-inositol hexaquifosfato fosfohidrolase é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases de histidina ácida, que hidrolisa o ácido fítico (mio-inositol hexafosfato) e seus sais (fitato), produzindo inositol, inositol monofosfato e fósforo inorgânico (CASEY; WALSH, 2004). A fitase também promove a redução na suplementação de fósforo da dieta e na excreção de fósforo no ambiente. Podem ser originadas a partir da mucosa intestinal das aves (fitase endógena), vegetais ou de microrganismos (bactérias, fungos e leveduras), sendo os últimos a principal fonte das enzimas existentes no mercado atualmente.

As fitases microbianas são produzidas por várias espécies de bactérias e fungos geneticamente modificados ou não (PANDEY et al., 2001). As fontes mais promissoras de fitase são as provenientes das bactérias *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp. e *Escherichia coli*; das leveduras *Arxula adenivorans* e *Hansenula polymorpha* e fungos filamentosos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Talaromyces thermophilus* (BUSO et al., 2011).

A fitase proveniente da cultura do fungo *Aspergillus* sp é a mais comum proveniente dos microrganismos, e sua ação pode diferir em função da estabilidade térmica e proteolítica, dos níveis de inclusão da enzima, concentração de ácido fítico nos ingredientes da ração, idade do animal, pH do trato gastrointestinal, entre outros fatores (BUSO et al., 2011). A atividade da fitase é expressa em FTU ou simplesmente U (unidade de fitase ativa, definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um μmol de fósforo inorgânico por minuto em substrato de sódio fitato a temperatura de 37°C e pH 5,5).

A maioria das fitases existentes no mercado deve ser capaz de atuar eficientemente no trato gastrointestinal (TGI) superior, mais precisamente no proventrículo e moela das aves, isto é, em meio ácido, mantendo a molécula do ácido fítico em estado solúvel. Quando a digesta se move para o intestino delgado (pH 6-7), a molécula de ácido fítico se liga a minerais como cálcio e zinco formando precipitados insolúveis, no qual causará inibição da ligação do complexo fitase-fitato, impedindo a desfosforilação. Portanto para uma atividade ótima da fitase, deve atuar em meio ácido do TGI e também ser resistente à proteólise (AUGSPURGER et al., 2003).

A suplementação de fitase nas dietas possibilita a hidrólise do fitato e o aumento na disponibilidade de fósforo e de outros minerais, além de melhorar a eficiência da utilização de

proteínas, aminoácidos e energia pelas aves (SELLE; RAVINDRAN, 2007). Essa enzima também é usada na intenção de diminuir a excreção de fósforo e nitrogênio pelos monogástricos e reduzir os custos das dietas na produção destes animais (HANNAS; PUPA, 2003).

Fukayama et al. (2008) mostraram que aves ao consumirem uma dieta com redução de 2% na energia metabolizável, 0,93% de PB, 36% de fósforo disponível, 6,25% de cálcio e 750 FTU/kg de ração obtiveram desempenho semelhante à dieta controle positivo, melhores características de mineralização óssea e de digestibilidade de nutrientes.

Pirgozliev et al. (2009) comparando os efeitos de diferentes concentrações de fitase (250 FTU/kg; 500 FTU/kg; 2500 FTU/kg de ração na dieta) com baixas concentrações de fósforo disponível (28 g/kg na fase inicial e 23 g/kg na fase de crescimento), mostraram que a ingestão de ração e o ganho de peso aumentaram de modo linear em resposta à dosagem de fitase quando comparados aos frangos alimentados com a baixa quantidade de fósforo na dieta. Os resultados ainda mostraram que aves alimentadas com 2500 FTU/kg de ração tiveram 6,6% maior ganho de peso e 2,4% maior conversão alimentar quando comparados aos frangos alimentados com 500 FTU/kg de ração.

A adição de fitase também está relacionada ao aumento de fósforo disponível no plasma. Em um estudo realizado por Shirley et al. (2003), no qual frangos de corte de 1 a 16 dias consumindo uma dieta deficiente em fósforo disponível (0,19%) suplementada com níveis crescentes de fitase (de 0 a 1200 U/Kg), houve o aumento do nível plasmático de fósforo com a suplementação da ração com fitase. Conte et al. (2002), em estudo com frangos de corte de 32 a 37 dias de idade alimentados com uma ração contendo 0,16% de fósforo disponível suplementada com 0; 400; 800 e 1200 U/Kg, também observaram aumento de 3,6 para 5,4; 6,5 e 7,3 mg/dL, respectivamente, nos níveis de fósforo no plasma.

3.2.1 Fitase na digestibilidade ileal de frangos de corte

A utilização de fitases exógenas nas dietas de frangos de corte podem melhorar os parâmetros de desempenho, assim como, a retenção de minerais, a energia metabolizável aparente e a digestibilidade dos aminoácidos (RUTHERFURD et al., 2012).

Tejedor et al. (2001) avaliaram duas fontes distintas de fitase: fonte 1 (500 FTU/kg) e fonte 2 (750 FTU/kg da dieta), e constataram aumento nos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta de 1 e 1,7%, respectivamente. Lan et al. (2002) verificaram que a suplementação de 250 FTU/kg em dieta deficiente de Pd (fósforo digestível), melhorou a

digestibilidade da proteína bruta em 8,9%, em relação à digestibilidade observada nas aves que consumiram dieta com nível convencional de fósforo disponível (0,354%), sem fitase.

De acordo com Lelis et al. (2010), a suplementação de fitase em 500 FTU/kg melhora o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta e do fósforo, a retenção de fósforo pelas aves diminui sua excreção para o meio ambiente. Entretanto, no estudo de Manangi e Conn (2008), trabalhando com dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte até 21 dias de idade verificaram que a taxa que proporciona uma hidrólise quase completa do fitato (99,45%) é a inclusão de fitase em 1000 FTU/kg, sendo que suplementações menores não proporcionam digestão eficiente.

Shirley e Edwards Jr. (2003) verificaram que a suplementação de 12000 FTU/kg da dieta melhora a retenção do fósforo, do nitrogênio e a energia metabolizável aparente, respectivamente, em 157%, 134% e 106%. Cowieson et al. (2008) avaliando duas concentrações de 8,5 g/kg e 14,5 g/kg de ácido fítico, duas fontes de fitase: de origem fúngica e bacteriana com 500 FTU/kg sobre a passagem de aminoácidos endógenos no íleo de frangos, concluíram que a suplementação de ambas as fitases reduzem a passagem de aminoácidos endógenos, sendo que a redução foi maior para a fitase de origem bacteriana em comparação a fitase fúngica.

Pirgozliev et al. (2009) mostraram que a suplementação de fitase em até 2500 FTU/kg de ração aumentou a energia metabolizável aparente, o coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio, dos aminoácidos e do fósforo quando comparados com frangos alimentados com dieta controle.

A melhora na retenção de matéria seca, fósforo, nitrogênio e aminoácidos foram obtidos com o acréscimo de até 1000 FTU/kg de ração (DILGER et al., 2004). A redução de cálcio e fósforo disponível e a suplementação de 500 FTU/kg não comprometeu o desempenho, a energia metabolizável aparente, o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca e melhorou a mineralização óssea de frangos (SANTOS et al., 2011).

3.2.2 Fitase e características ósseas

Níveis inadequados de fósforo e de cálcio na dieta podem comprometer a formação óssea das aves, o aumento de risco de fraturas. Dessa forma, manipulações com níveis adequados de fósforo, cálcio na dieta e a adição de fitase microbiana devem ser suficientes para garantir a manutenção de desempenho, boa formação e resistência óssea (ASSUENA et al., 2009).

Segundo Pereira et al. (2012) a quantidade de cinzas ósseas, em miligramas, é a variável mais eficaz para estimativa de fósforo liberado pela fitase de uma dieta à base de milho e farelo de soja. Aves que consumiram fitase apresentaram aumento na porcentagem de cinzas ósseas resultante da melhoria na hidrólise de fósforo fítico (NELSON et al., 1971).

Walk et al. (2012) mostraram que a suplementação de fitase até 2500 FTU/ kg de ração aumentou linearmente a porcentagem de cinzas nas tíbias. Shaw et al. (2011) observaram melhorias na porcentagem de cinzas ósseas, quando se utilizaram níveis crescentes de fitase de 500, 1000 e 2000 FYT/kg em dietas de frangos de corte com 21 dias, houve um aumento de 35,3, 37,37 e 38,78%. O aumento do conteúdo de matéria mineral através da inclusão de fitase sugere uma melhora da mineralização óssea pelo aumento do uso de cálcio e fósforo.

Em um estudo realizado por Dilger et al. (2004) com diferentes doses de fitase microbiana (500 e 1000 FTU/Kg) apresentaram respostas com efeito linear crescente para ganho de peso, eficiência alimentar e mineralização óssea assim como para digestibilidade ileal aparente de fósforo, valina e triptofano. Catalá-Gregori et al. (2006) trabalhando com quantidades menores de fitase (600 FTU/kg), verificaram que baixas quantidades de fósforo em dietas à base de trigo e farelo de soja foram suficientes para otimizar o ganho de peso e a mineralização na tíbia de frangos.

Fukayma et al. (2008) testaram duas dietas, um controle positivo e um controle negativo com redução de 2% na energia metabolizável; 0,93% de PB; 36% de fósforo digestível e 6,25% de cálcio em relação a dieta controle positivo. À dieta controle negativo foi adicionada três níveis de fitase (500, 750 e 1000 FTU/kg), os autores observaram que a adição de 750 FTU/kg de ração proporcionou o máximo desempenho e os melhores resultados de mineralização e resistência ósseas dos tíbios-tarsos dos frangos de corte aos 20 dias de idade.

Em um estudo realizado, Cardoso Júnior et al. (2010), concluíram que é possível reduzir o nível de fósforo disponível em 0,15% e o de cálcio em 0,30% em relação à ração controle, mantendo-se a relação cálcio: fósforo disponível em 2:1 em rações suplementadas com 500 FTU/Kg de fitase sem afetar a porcentagem de cinzas na tíbia. Viveros et al. (2002) constataram que a suplementação de 500 U/Kg de fitase microbiana em dietas com baixo fósforo disponível aumentou significativamente as cinzas na tíbia em 5,1%. Segundo os autores, o melhoramento na porcentagem de cinzas na tíbia pode ser relacionado ao aumento da retenção de cálcio, fósforo, magnésio e zinco do complexo fítico-mineral pela adição de fitase.

Segundo Olukosi e Fru-nji (2014) a suplementação de 1000 FTU/kg de fitase em dieta controle negativo e relação Ca:Pd 2:1 e uma dieta com a suplementação de 2000 FTU/kg de fitase na ração e relação Ca:Pd 2,5:1, melhoraram o desempenho e a porcentagem de fósforo na tíbia de frangos em relação ao grupo controle.

3.2.3 Superdose de fitase

O mercado de fitase evoluiu através de três estágios distintos desde a sua criação, nomeadamente o deslocamento de fósforo inorgânico, os efeitos extrafosfóricos associados em grande parte aos efeitos eletrostáticos (antinutritivos) do fitato e, mais recentemente, a chamada “superdose” (> 2000 FYT /kg) estratégias que envolvem a liberação de mio-inositol (COWIESON et al., 2011, 2014).

Embora, a superdose de fitase, mio-inositol e as interações entre fitato, proteína e minerais sejam claramente importantes, também é crucial atribuir valores apropriados da matriz de fósforo às fitases e acomodá-las na formulação de menor custo sem comprometer o desempenho das aves (COWIESON et al., 2015).

A partir do momento que as matrizes nutricionais das enzimas passaram a proporcionar melhorias quando consideradas nas formulações das dietas, tornou-se, ponto positivo pelo fato de diminuir os custos de produção, através de substituições de ingredientes pela fitase na alimentação de frangos de corte, como por exemplo, a substituição do fosfato bicálcico pela fitase, tornando o processo de produção mais eficiente. Aliado ao conceito de matriz nutricional e o maior conhecimento dos benefícios da utilização da fitase para eficiente hidrólise da molécula de ácido fítico, novas pesquisas a fim de encontrar efeitos extrafosfóricos da fitase estão sendo realizadas, por meio do uso de superdose, na qual recomenda-se maiores doses de fitase além dos 500 FTU's convencionais já implantados pela indústria (FREITAS, 2016).

Estudos com dosagens de fitase acima de 500 FTU/kg de ração têm sido realizados e contribuído para uma variabilidade de respostas na literatura. Assim, com a hidrólise dos grupos fosfatos, as fitases podem liberar o fósforo, reduzir os efeitos anti-nutricionais do fitato e disponibilizar outros minerais, proteínas e energia às dietas (WALK et al., 2012).

Segundo Choct et al. (2006), a suplementação de fitase acima de 1000 FTU/Kg, em dietas com baixos níveis de P, pode ser considerada uma estratégia nutricional promissora visando à redução da excreção ambiental. Cowieson et al. (2014), trabalhando com doses logarítmicas de fitase de 1000 FYT/kg a 3000 FYT/kg na ração, verificaram uma melhora no

ganho de peso, conversão alimentar, na digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos e da energia metabolizável e no teor de cinzas na tibia.

Meneghetti et al. (2011) avaliaram os efeitos de altos níveis de fitase (1500 FTU/kg; 3000 FTU/kg; 4500 FTU/kg; 6000 FTU/kg; 8000 FTU/kg e 10000 FTU/kg de ração) associados à redução de fósforo disponível, cálcio, aminoácidos, e energia metabolizável aparente. Os resultados mostraram que a partir do nível de inclusão de 4500 FTU/kg de ração o desempenho das aves foi semelhante ao do grupo controle. Não foram apresentadas diferenças significativas entre os tratamentos para digestibilidade de proteína bruta e energia metabolizável, porém na fase inicial houve um melhor aproveitamento da matéria seca com altos níveis de fitase. A retenção aparente de fósforo foi maior em todos os tratamentos suplementados com fitase ($P < 0,01$), atingindo 63% de retenção com a inclusão de 10000 FTU/kg de ração e representando um acréscimo de 31,7% em relação ao tratamento controle.

O conceito de “*Superdosing*” ainda é considerado novo e em desenvolvimento, porém, vários efeitos benéficos já foram observados, como melhora no desempenho das aves, melhor aproveitamento dos nutrientes das dietas, maior deposição de cinzas e fósforo ósseo e também a hidrólise parcial ou total da molécula de ácido fítico (BEDFORD, 2012).

3.2.3.1 Mio-inositol

O mio-inositol é um poliálcool cíclico com uma fórmula semelhante à glicose e núcleo do ácido fítico. O papel do mio-inositol na nutrição não é claro e é uma área ativa para a pesquisa. É considerado um análogo da insulina e, portanto, pode regular o transporte de glicose, a gluconeogênese e a deposição de proteínas. O mio-inositol estimula a translocação de GLUT4 (o transportador primário de glicose sensível à insulina em mamíferos) para a membrana plasmática (YAMASHITA et al., 2013). Dessa maneira, a suplementação de fitase na dieta não está apenas ligada à liberação de P e redução do efeito antinutricional do fitato, mas também aos benefícios do mio-inositol.

Os frangos não possuem GLUT4 (TOKUSHIMA et al., 2005) e, portanto, o efeito estimulante de mio-inositol na translocação GLUT4 pode ser restringido à suínos e outros mamíferos. Contudo, as galinhas são sensíveis à insulina, sendo provável que haja transportadores alternativos de glicose em espécies aviárias envolvidas nesses efeitos (SWEAZEA; BRAUN 2006; TOKUSHIMA et al., 2005).

Nos últimos anos várias pesquisas foram executadas a fim de conhecer a verdadeira resposta do fosfato de mio-inositol, relacionado ao conceito de superdose. Os benefícios de

uma suplementação elevada de fitase foram mostrados em vários estudos com frangos de corte através do fornecimento de inositol e destruição de fitato (WALK et al., 2014), que permite a melhoria da digestibilidade de Ca e P, bem como uma melhora geral no desempenho do crescimento (COWIESON et al., 2011; WALK et al., 2014).

Segundo Lee e Bedford (2016), é possível que uma grande parte do benefício da superdose de fitase seja pela produção de mio-inositol, que posteriormente é absorvido e utilizado em várias funções biológicas dentro do animal. Embora a maioria dos animais seja capaz de sintetizar o mio-inositol, de novo, a partir de Glicose-6-P em diversos tecidos, sua importância para a sobrevivência e crescimento celular é evidente (HOLUB, 1986). A re-fosforilação específica do mio-inositol dentro dos tecidos determina seu papel dentro do corpo, potencialmente proporcionando muitos dos benefícios que atribuímos à superdosagem.

Walk et al. (2014), utilizando diferentes níveis: 500, 1000 e 1500 U/Kg de fitase na dieta de frangos de corte, observaram a hidrólise quase completa do Inositol- 6-P e conseqüentemente o aumento das concentrações de inositol na moela em 1,57, 2,12 e 2,22 $\mu\text{mol/g}$, respectivamente, também foram observadas melhorias no ganho de peso e conversão alimentar. Segundo os autores os benefícios com os maiores níveis de fitase podem estar associados com a destruição do fitato e no fornecimento de inositol em vez do excesso de fósforo e cálcio.

Cowieson et al. (2014) trabalhando com duas dietas, um controle negativo (CN) (redução de Ca e P) e controle positivo (CP) com suplementação de 1000, 2000 e 3000 FYT/kg de fitase, observaram um aumento de 39 mg/l no CP sem fitase para 67 mg/l no CN com 3000 FYT/kg de fitase ($P < 0.001$), ou seja, um aumento de 71% na concentração plasmática de mio-inositol. Segundo os autores, os chamados efeitos “extra-fosfóricos” podem se estender da digestibilidade de aminoácidos, energia e oligoelementos para aumentos significativos na concentração plasmática de inositol.

3.2.4 pH intestinal e enzima fitase

Entre a maioria das fitases comerciais atuais, o pH ótimo para a atividade máxima da enzima é entre 3 e 5 (BREJNHOLT et al., 2011), sugerindo que os segmentos superiores (proventrículo, moela e possivelmente o papo) do trato gastrointestinal (TGI) são os principais sítios ativos para que a fitase tenha seu efeito (LI et al., 2016). No intestino delgado (pH 6-7), a molécula do ácido fítico se liga a minerais como o cálcio e o zinco e forma precipitados

insolúveis, que inibem a ação da fitase, dificultando a fosforilação (AUGSPURGUER; UGALDE, 2009).

Segundo Liebert et al. (1993), a hidrólise de fitato ocorre principalmente no aparelho digestório anterior onde o pH é mais propício para a ação da fitase e o substrato fitato é mais solúvel em água, facilitando a hidrólise enzimática. Portanto, as condições e o tempo de trânsito da digestão no intestino são importantes determinantes para eficácia da fitase.

A fitase derivada da *Escherichia coli*, isolada do cólon de suíno e produzida em levedura *Pichia pastoris* possui atividade ótima de pH de 2,5 a 4,0 comparada à fitase de *Peniophora. lycii* de pH 4,5 e a fitase do *Aspergillus. niger* de pH bimodal 2,5 e 5,5. O pH observado no proventrículo e moela das aves varia de 2 a 4, portanto, a relativa atividade da fitase derivada de *E. coli* é muito maior que as fitases comercialmente disponíveis derivadas de *A. niger* ou *P. lycii*.

Em condições apropriadas, todas as fitases são capazes de separar o fósforo da molécula de fitato. Entretanto, deve-se reconhecer que as características bioquímicas não são as mesmas entre as fitases existentes no mercado. Do modo geral, o que determina quão bem uma fitase irá funcionar nas aves são as características bioquímicas de cada uma, tais como, perfil de atividade em diferentes pH, atividade específica e resistência ao ataque das proteases endógenas (MENEGHETTI, 2011).

3.3 QUALIDADE DA ÁGUA NA AVICULTURA

Para aves de produção, a água é considerada o nutriente essencial mais importante, e está envolvido em muitas funções fisiológicas do organismo do animal e, ainda assim, sua importância é subestimada pelos profissionais da área avícola. Contudo, problemas de desempenho podem ser atribuídos a este componente nutricional (KRABBE; ROMANI, 2013).

O fornecimento de água de boa qualidade e em quantidade é essencial para a criação de aves, pois a água representa 70% do volume de sangue, auxilia na absorção dos nutrientes no trato gastrointestinal, eliminação do bolo fecal, regulação da temperatura, sendo vital para a funcionalidade dos órgãos (MACARI; SOARES, 2012). Além disso, a água representa 70% do peso corporal da ave. Deste volume, 70% localiza-se dentro das células e os restantes 30% correspondem a fluidos extracelulares e sangue. Portanto, para um ganho de peso diário de 55 g, este frango armazena 38 g de água e 17 g de outros compostos (proteínas, gorduras, minerais). Entretanto, para reter estas 38 g de água diárias, esta ave consumiu entre 75 a 115 g

de água, ou seja, 2 a 3 vezes a ingestão de ração. Com base nestes dados, pode-se observar que a qualidade e a quantidade de água disponível para frangos de corte são de extrema importância (KRABBE; ROMANI, 2013).

A legislação brasileira por meio da Resolução do Conama nº 357, de 17 de março de 2005, e Resolução do Conama nº 396, de 3 de abril de 2008, estabelecem os parâmetros para água de dessedentação de animais, a água de consumo natural para os animais pertence à categoria de águas doces na classe 3 com salinidade igual ou inferior a 0,5%. Entretanto, para a exploração comercial de aves, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, estabeleceu a periodicidade, segundo a aptidão da exploração, e por meio da Instrução Normativa nº 56 e do anexo II do Ofício Circular Conjunto DFIP-DAS nº 1/2008, os sete parâmetros a serem monitorados na água utilizada pelas empresas avícolas. Entretanto, vários estudos indicam que a água destinada ao consumo animal deve ter as mesmas características da água potável consumida pelos seres humanos (MACARI; SOARES, 2012).

Os parâmetros a serem monitorados nos estabelecimentos avícolas são: os sólidos dissolvidos totais (SDT) até 500 mg/l, o pH na faixa recomendada de 6 a 9, dureza total com valor máximo permitido de até 110 mg de carbonato de cálcio /l, cloretos até 250 mg/l, nitratos até 10 mg/l, sulfatos com valor máximo permitido de 250 mg/l e *Escherichia coli* que o valor máximo permitido é 0 organismos / 100ml (MOUCHREK, 2003). Logo, para obter uma produção animal com qualidade e economicamente conveniente, deve-se dar a água uma importância semelhante a que se dá a outros fatores de produção, como instalações, alimentação e manejo (AMARAL, 2001).

3.3.1 pH de água de bebida

O pH da água representa o teor de dióxido de carbono livre, ácidos minerais e sais de ácidos fortes, os quais por dissociação resultam em íons hidrogênio em solução.

O consumo de água com pH diferente de 6 a 8, pode alterar o desempenho das aves, afetando performance de frangos, a produção e qualidade dos ovos, precipitar antibióticos e interferir na eficiência da cloração da água. Soares (2010), afirma que em experimentação, as aves não diminuíram o consumo de água com pH entre 2 e 10. Apesar disso, Oliveira (2009), estudando vários lotes de frangos de uma integração, observou uma correlação positiva entre o elevado pH da água e ocorrência de ascite. Valores de pH acima de 8 podem causar redução do consumo de água (FAIRCHILD; RITZ, 2009). Além disso, a acidez em nível elevado pode causar corrosão nas tubulações e prejudicar a ação de desinfetantes como a clorexidina e

compostos de iodo (PENZ, 2003). No entanto, o glutaraldeído melhora sua efetividade em pH alcalino (GAMA et al., 2008).

Gama et al. (2004) ao avaliarem os parâmetros químicos da água utilizada na dessedentação de aves em uma região conhecida, observaram que 45% das amostras de água dos poços apresentaram pH inferior a 6. Devido a essa acidez, os autores recomendaram a correção do pH, antes de proceder o fornecimento aos animais, assim como a desinfecção, medicação e vacinação por meio da água de bebida, pois valores extremos de pH prejudicam a sobrevivência dos vírus das vacinas quando diluídos em água para aplicação massal às aves.

3.3.2 Bicarbonato de sódio (NaHCO₃)

O NaHCO₃ tem sido usado pela indústria avícola na tentativa de minimizar as perdas por estresse calórico, particularmente durante o verão (BORGES et al., 2003). A suplementação de 0,63% de NaHCO₃ na água de bebida de frangos de corte em terminação submetidos a estresse calórico resultou em um aumento de 20% no consumo de água e em redução na mortalidade (SALVADOR et al., 1999). Sousa (2006), ao avaliar a suplementação de NaHCO₃ associado ao cloreto de amônio, em 6 diferentes níveis, não observou diferenças nos parâmetros de desempenho, na relação consumo de água/consumo de ração, temperatura retal, características de carcaça e não influenciou a umidade da cama, porém, diminuiu a mortalidade e aumentou o consumo de água dos frangos de corte criados sob condições naturais de estresse calórico no período de 22 a 42 dias de criação. Salvador (1999), salienta que devesse ter cuidado na utilização do bicarbonato, pois a adição de altas concentrações pode induzir alcalose metabólica, acentuando o problema de alcalose respiratória das aves quando estressadas pelo calor. Em um estudo realizado por Salvador et al. (1999), foi observado que a mortalidade em frangos de corte foi significativamente diminuída pela suplementação de 0,63% NaHCO₃ na água de bebida. Ahmad et al. (2006) ressaltam que a utilização de sais como o bicarbonato de sódio (NaHCO₃), resultam em melhor desempenho e redução da mortalidade em comparação com os sais de cloreto de sódio em frangos submetidos a altas temperaturas. Segundo Penz (1989), a ação do NaHCO₃ pode estar relacionada ao fato de que os animais, recebendo este sal aumentem o consumo de água, reduzindo assim os efeitos do calor.

3.4 DIFERENTES SISTEMAS DE CLIMATIZAÇÃO E AMBIENTE INTERNO

O desenvolvimento das aves é afetado pelas condições internas e externas do ambiente no qual se encontram alojadas (BARACHO et al., 2013). O modelo de criação adotado na produção de frangos de corte influencia diretamente na condição de bem-estar das aves promovendo o balanço de energia do sistema aves-galpão, na qualidade do ar e expressão do comportamento natural das aves, afetando o desempenho (PONCIANO et al., 2011).

Quando expostas às altas temperaturas, na tentativa de dissipar calor, as aves aumentam a área superficial corporal, mantendo as asas afastadas do corpo, eriçando as penas e intensificando a circulação periférica (WELKER et al., 2008). A perda de calor não evaporativo pode ocorrer com o aumento da produção de urina, caso em que a perda de água é compensada pelo maior consumo de água fria (OLIVEIRA, 2006). Outra resposta fisiológica importante, diz respeito ao aumento na frequência respiratória, com perdas excessivas de dióxido de carbono, capaz de diminuir a pressão parcial de CO₂, e provocar queda na concentração de ácido carbônico e íon hidrogênio do sangue. Os rins, por sua vez, aumentam a excreção de bicarbonato (HCO₃⁻) e reduzem a excreção de H⁺ na tentativa de manter o equilíbrio ácido-base da ave, esta alteração no equilíbrio ácido-base desencadeia a alcalose respiratória (BORGES et al., 2003).

Devido às altas temperaturas e as altas umidades relativas dentro dos aviários encontrados no Brasil, o organismo das aves tem dificuldade em dissipar calor para o ambiente, e expressam com alteração do comportamento e queda no desempenho produtivo. Pesquisas indicam que o aumento de temperatura corporal das aves está relacionado à elevação da temperatura ambiente (BROWN-BRANDL et al., 1997; WELKER et al., 2008). Em estudo realizado por Dahlke et al. (2005) os autores demonstraram que, frangos de linhagens comerciais de rápido crescimento apresentaram menor tolerância ao calor, devido a um aumento de temperatura corporal interna, quando criados em ambiente quente.

Condições inadequadas afetam a produção de frangos de corte, sendo necessário aperfeiçoar os galpões e buscar por alternativas relacionadas ao manejo que possam ajudar as aves a superarem os efeitos prejudiciais provenientes do calor (FURTADO; TINÔCO, 2003), pois o tipo de galpão, associado ao macro clima local, a topografia e vegetação de entorno, influência nas condições de microclima interno: temperaturas, ventilação e fluxo, velocidade e umidade relativa do ar são fatores que afetam diretamente no desempenho produtivo das aves.

Nos ambientes considerados confortáveis, as aves apresentam maior produtividade e melhores parâmetros zootécnicos, no entanto quando expostas a altas temperaturas, diminuem

o consumo de ração para reduzir a produção de calor metabólico e manter a homeotermia, o que interfere negativamente no ganho de peso e na conversão alimentar (OLIVEIRA et al., 2006).

O Brasil possui significativa diversidade climática e, por isso, diferentes tipos de aviários foram e ainda são construídos no território nacional. Existem, basicamente, duas formas de promover artificialmente a movimentação do ar no interior dos aviários, por pressão positiva ou por pressão negativa (NASS et al., 2014).

No sistema de ventilação por pressão negativa, o ar é succionado por exaustores de dentro para fora, criando um vácuo parcial no interior da instalação. No sistema de ventilação positiva o ar externo é forçado, por meio de ventiladores, a entrar no galpão, criando gradiente de pressão de fora para dentro da instalação. Esse sistema é o mais comum nos aviários convencionais (aviários de construção aberta), podendo ser de dois tipos: em modos túnel e lateral (ABREU; ABREU, 2000; FURTADO; TINÔCO, 2003). Em ambos os sistemas o gradiente de pressão interno-externo gerado acarreta o deslocamento do ar interno para fora do aviário (SANTOS et al., 2009).

4 CAPÍTULO I – INTERACTIVE EFFECTS OF DRINKING WATER pH, POULTRY HOUSING SYSTEM AND EXOGENOUS MICROBIAL PHYTASE ON GROWTH PERFORMANCE, ILEAL DIGESTIBILITY OF NUTRIENTS, INTESTINAL pH, SKELETAL INTEGRITY AND PLASMA MYO-INOSITOL CONCENTRATIONS IN BROILER CHICKENS

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação no Periódico **Poultry Science**.

Interactive effects of drinking water pH, poultry housing system and exogenous microbial phytase on growth performance, ileal digestibility of nutrients, intestinal pH, skeletal integrity and plasma myo-inositol concentrations in broiler chickens

M. O. Fernandes, ^{*1} A. P. Rosa, * J. O. B. Sorbara[†], A. J. Cowieson[†]

* Poultry Science Laboratory, Department of Animal Sciences, Federal University of Santa Maria, 97105-000 Brazil

[†] DSM Nutritional Products, Switzerland.

Corresponding author:

Mariane de Oliveira Fernandes

Laboratório de Avicultura, Prédio 81

Avenida Roraima nº 1000, Campus Universitário

Camobi, Santa Maria, RS, Brasil.

CEP: 97105-900

Telephone: 55 55 999665426

e-mail: mariane-of@hotmail.com

Scientific Section

Metabolism and Nutrition

ABSTRACT - A study was conducted to evaluate the effect of drinking water pH and type of broiler housing system on the efficacy of phytase on performance, ileal digestibility, myo-inositol (**MYO**) concentration, intestinal pH and bone quality parameters of broilers chickens. A total of 4,000 males of the Cobb-500 strain were used, which were distributed in a completely randomized design with a 4x2x2 factorial arrangement: 4 diets: **PC** - a positive control without supplemental phytase, **NC** - a negative control with reduction of 0.15% calcium (Ca) and 0.15% available phosphorus (avP), **NC+1FYT** - a NC diet (with reduction of 0.15% Ca and 0.15% avP) with 1,000 FYT/kg of phytase and **NC+2.5FYT** - a NC diet (with reduction of 0.15% Ca and 0.15% avP) with 2,500 FYT/kg of phytase; two water pH (6.2 and 8.2) and two housing systems (conventional (**CO**) or climated-controlled (**CC**)). In the climate-controlled poultry house were used 7 replicates with 50 chickens and in the conventional poultry house were 6 with 25 chickens. Thirty-nine birds per treatment were euthanized for collection of gizzard, duodenum and ileum content for pH analysis. The digestibility of nitrogen (**N**), gross energy, Ca and P was determined in the ileal content. The left tibia of each bird was removed for analysis of ash, Ca and P. The BWG was the highest in the treatment CO+8.2pH from 1-42d. The FCR was higher in the CO+6.2pH than others. The highest MYO was in plasma in broilers fed with NC1FYT+6.2pH and NC+2.5FYT at pH 6.2 as well as, in broilers housed in a CO+8.2pH and CO+6.2pH. For the ileal digestibility: the treatment NC1FYT+6.2pH presented the higher N than NC+6.2pH and PC+6.2pH; the treatment CO+8.2pH was the highest gross energy; the P was highest in the treatments NC2.5FYT+CO and NC2.5FYT+CO and, the Ca was the lowest in the diet NC+6.2pH. For the tibia: the lowest ash was in the NC+CO and NC+CC; the highest P was in the PC and, the lowest Ca was in the NC+CO. Gizzard pH was increased with water pH 8.2. Alkaline pH (8.2) in conventional poultry allowed improvement in performance. It can be concluded that

the inclusion of phytase improves performance, digestibility, MYO in plasma and bone quality of broiler chickens.

Key words: aviaries, broilers, enzyme, high dose, quality of water.

INTRODUCTION

In poultry production, water is considered the most important essential nutrient although its importance is often underestimated by poultry technicians (Viola and Cols, 2009). Water is responsible for the transport of nutrients and metabolites, cellular excretions, regulation of body temperature and maintaining homeostasis, participating in reactions that control pH, osmotic pressure and electrolyte concentration (Lesson and Summers, 2001). Water represents 58 to 65% (Riek and Cols, 2008) and 85% (Lesson and Summers, 2001) of body weight of adult birds and chicks, respectively.

The broiler performance is related to water consumption and also housing systems. Broilers housed in conventional poultry may show signs of heat stress, due to high temperatures they decrease feed intake to reduce metabolic heat production and maintain homoeothermic, which negatively affects weight gain and feed conversion (Oliveira et al., 2006). In poultry houses where the environment is controlled the effects of heat stress are minimized, reducing the effects of high temperatures on broiler performance.

Water consumption increases around 6% for each 1°C increase in temperature from 20°C. However, has been shown that this effect is transient, disappearing when birds are acclimatized (May and Lott, 1992).

One of the most important characteristics of water is pH, which represents the content of free carbon dioxide, mineral acids and salts of strong acids, which, by dissociation, results in hydrogen ions in solution (Macêdo, 2007).

The pH of water also has a role in biological processes, one of which has the power to influence the activity (crop) of enzymes such as phytase, which catalyzes the hydrolysis of phytate and lower inositol phosphates (Cowieson et al., 2011). Diets for broilers are typically formulated with corn and soybean meal, and approximately 60–80% of the total phosphorus (P) in of these grains are in the form of phytic acid (1, 2, 3, 4, 5, 6 myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate; IP6) (Eeckhout and De Paepe, 1994). Exogenous phytases are used commercially to improve the bioavailability of phosphorus (Camden et al., 2001; Rutherford et al., 2004; Cowieson et al., 2015), other minerals such as calcium, magnesium, potassium and zinc (Ravindran et al., 2008; Santos et al., 2008; Saima et al., 2009), and amino acids (Rutherford et al., 2004). Reducing the environmental impact of intensive animal husbandry and improving profitability in production by reducing costs.

As any enzyme utilized in feeds, conditions that affect substrate degradation also affect enzyme functionality under the conditions in the lumen of the gastrointestinal tract (Konietzny and Greiner, 2002). Among the majority of the current commercial phytases, optima pH for maximum enzyme activity are between 3 and 5 (Brejnholt et al., 2011), suggesting the upper segments proventriculus, gizzard and possibly the crop of the gastrointestinal tract are the major active sites for phytase (Li et al., 2016). New nutritional strategies through the use of phytase supplementation have been studied during recent years as the use of levels above that recommended in the literature and industry, so-called ‘super-dosing’. Super-dosing is the addition of phytase at levels around or above 2,500 FTU/kg (Adeola and Cowieson, 2011). Improvements in growth performance observed are likely to be partly a result of an increase in availability of the nutrients that had previously been bound with phytate, including protein, and minerals such as calcium, zinc, and sodium (Maenz, 2001; Applegate et al., 2003; Adeola and Cowieson, 2011).

The objective of this work was to evaluate the effect of super-dosing of phytase, on different pH of drinking water and two climatization systems on performance, ileal digestibility, myo-inositol concentration, intestinal pH and bone quality parameters of broilers chickens.

MATERIALS AND METHODS

The present study was carried out at the Poultry Science Laboratory of the Federal University of Santa Maria, UFSM, Brazil. This research was based on compliance with the Welfare Standards and it was approved by the Ethics Committee of UFSM (8848280119).

Animal Husbandry

A total of 4,000 male broiler chicks of the Cobb- 500 strain were randomly allocated to 104 experimental pens with 48 pens in a conventional poultry house and 56 pens in a climate-controlled poultry house. The housing densities were 25 and 50 birds/ m², respectively. The birds used in the study had an average weight of 42g with a variation of \pm 2.5%.

In the climate-controlled house the 56 pens were 1.8 x 2.3 m in size with an internal area of 4.14 m². One side of the poultry house is equipped with five hoods and other side with evaporative cooling plates system. Each pen was equipped with a nipple drinker system, a tray-type feeder, for pre-initial, and a tubular semi-automatic (metal with plastic tray, 20 kg capacity) for other phases. In the conventional poultry house with the pens had an internal area of 2.25 m². The poultry house is equipped with fans and nebulizers. Each pen contained a bell drinker, a tray-type feeder for pre-initial phase and a tubular semi-automatic feeder for the other phases. The heating in both poultry houses during the initial phase was accomplished with a 100 watts lamp per box.

In both housing systems the lighting program was 24 hours lighting up to 28 days of age and after, only natural light. The room temperature was recorded in three different hours of the day in the two houses (Figure 5 and 6). Birds had ad libitum access to water and feed.

To raise the normal pH (6.2) of the water to 8.2 a concentrated solution of sodium bicarbonate (NaHCO_3) was added to the storage containers of water in a ratio of 1 kg of NaHCO_3 to 500 liters of water. The experiment was conducted in the summer season.

Diets and Study Design

Pelleted diets based on corn and soybean meal were used (Table 1) and the nutritional requirements were determined according to the recommendations of the Cobb-500[®] and Rostagno et al. (2011). The NaHCO_3 was used to raise the pH of the water to 8.2 had a concentration of 27.43% sodium and this value was used to adjust the Na concentration of the diets offered to the birds that received NaHCO_3 via drinking water.

The birds were distributed in a completely randomized design with 4x2x2 factorial arrangement, with 6 replications of 25 birds in the conventional house and 7 replicates of 50 birds in the climate-controlled. The factorial arrangement consisted in 4 diets: **PC** - a positive control without supplemental phytase (0.4% available phosphorus (avP)), **NC** - a negative control with reduction of 0.15% calcium (Ca) and 0.15% avP, **NC+1FYT** - a NC diet (with reduction of 0.15% Ca and 0.15% avP) with 1,000 FYT/kg of phytase (1 FYT, phytase unit, is defined as the activity that releases 1 μ mol of inorganic phosphate from 5.0 mM sodium phytate per minute at pH 5.5 and 37°C) and **NC+2.5FYT** - a NC diet (with reduction of 0.15% Ca and 0.15% avP) with 2,500 FYT/kg of phytase; two water pH (6.2 and 8.2) and two housing systems (conventional (**CO**) or climate-controlled (**CC**)).

Ronozyme Hiphos is a 6-microbial phytase expressed by synthetic genes of *Aspergillus oryzae*, which has phytase activity (FYT) of 10,000 FYT units/g. One phytase

unit is the amount of enzyme need to release 1 μmol of inorganic phosphate under regular conditions (acetate buffer 0.25 μ , pH 5.5, temperature of 37°C, and 5 μmol of sodium phytate), (Novozymes A/S, Copenhagen, Denmark).

Experimental responses measured

Body wain gain (**BWG**), feed intake (**FI**), feed conversion rate (**FCR**) were determined at 7, 21, 35 and 42 d.

At 41 days of age, blood was collected from 3 broilers per replicate via the ulnar cutaneous vein. The samples were centrifuged for separation of the plasma, frozen at -20°C and sent to the DSM Laboratory (Kaiseraugst, Switzerland) for determination of myo-inositol concentration. Plasma concentrations of myo-inositol were measured by mass spectrometry using an UPLC-TQD system (Water, MA 01757, Milford, USA). These measurements were recorded based on the method described by Leung et al. (2011).

At 42 d, 3 broilers per replicate (n = 312) were randomly selected and euthanized by CO₂ asphyxiation for collection of gizzard, duodenum and ileum contents, and removal of the tibia. The samples were homogenized, and a pool was generated per replicate. To measure pH indicator strips with a 0 to 14 scale was used (model K36-014, Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil).

Immediately after euthanasia, the intestinal contents from 30 cm after the ileum, located between the Meckel's diverticulum and the ileocecal junction, were collected, according to the procedure described by Zanella et al. (1999). After the collection and pH measurement, the ileum content of each repetition was homogenized and frozen for later analysis. Samples were dried by the process of lyophilization for 72 hours and then ground to pass a 0.5mm screen. The ileal samples together with the experimental feed samples were sent to the laboratory for determination of dry matter, nitrogen, calcium, phosphorus, gross energy

and acid insoluble ash. Dry matter (DM) analysis of samples was performed after oven drying the samples at 105°C for 16 h (method 934.01; AOAC International, 2006). Ca and P concentrations were determined in the feed and digested samples following nitric and perchloric acid wet-ash digestion (AOAC International, 2000). Acid insoluble ash concentration in the diets, and ileum samples was determined using the method described by Vogtmann et al. (1975) and Choct and Annison (1992). Phosphorous concentrations were estimated by spectrophotometer SP 1105. Calcium concentrations in the digested samples were determined by flame atomic absorption spectroscopy method. The total nitrogen was determined through an Elemental Analyzer CHNS, model Flash EA 1112 mark Thermo Finnigan (Milan / Italy), and gross energy was determined through a calorimetric bomb (Model Parr 6400 Calorimeter).

The left tibia from the 3 birds in each replicate were obtained, cleaned of any tissues and placed in labelled containers according to repetition. Samples were dried at 105°C for 12h and were then defatted using ether ethyl. Bones were dried again at 105°C for 12h, being weighed and ashed in a muffle furnace at 600°C for 8h. Ash and total P and Ca concentration were determined according to AOAC International 2000, methods for ash (930.15), Ca (968.08), and P (946.06).

The pH of the water was measured twice a day in both aviaries and in both pH (6.2 and 8.2) (totaling 336 measurements) using a digital pHmeter (model K39-1014B, Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil). To raise the normal pH of the water to 8.2 a concentrated solution of sodium bicarbonate (NaHCO_3) was added to the water storage containers.

Statistical Analysis

All data were analyzed based in a two-way ANOVA using the General Linear Models procedure of SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA, 2011). Model terms were

diet (PC, NC, NC+1,000, NC+2,500), housing system (conventional or climate-controlled) and water pH (6.2 or 8.2). Significance was accepted at probability level of 0.05 and means differences were separated using Tukey's Honest Significance Difference test.

RESULTS

From 1 to 42d, there was interaction between diet x pH, where, the FI was the highest in the treatment PC + 8.2pH. In the phase's d22-35, d36-42 and d1-42 the birds housed in conventional poultry house consuming water with pH 8.2 presented highest FI. For the BWG variable d1-7 there was interaction between diet x pH, where broilers consuming water with pH 6.2 fed with PC (177g), NC +1FYT (176g) and NC + 2.5FYT (178g) diets had better weight gain than to the others. Birds consuming to NC diet at pH 8.2 had the lowest BWG (137g) in this phase. In the pH x housing systems, BWG of d1-7 was higher in birds housed in conventional poultry house and consuming water with pH 6.2 (P=0.0013). In the d8-21 there was interaction between diet x pH x housing systems, where the highest BWG was obtained in the NC + 2.5FYT in water pH 6.2 in conventional poultry house (P = 0.0033). In the other phases: d22-35, d36-42 and d1-42 there was interaction pH*housing systems. In the phase's d22-35 and d1-42 the birds housed in conventional poultry house consuming water with pH of 8.2 presented higher BWG (P < 0.0001). From d36-42 days the highest BWG were in birds housed in climate-controlled house in both pH (Table 2).

In the phases d1-7, d8-21, d22-35 and 36-42 there was interaction between diet x pH. In the d1-7 birds fed with NC + 8.2 pH presented the worst FCR than others. In the d8-21 broilers fed with PC + 6.2 pH presented the worst FCR than others. However, in the d22-35 broilers fed with PC + 6.2 pH presented the better FCR. Broilers fed with NC + 8.2 pH presented the better FCR the d1-42. There was no effect of water pH on the d1-42 FCR of birds that were reared in the climate-controlled poultry house whereas in the conventional

poultry house higher drinking water pH was associated with lower FCR, resulting in an interaction between housing system and water pH ($P < 0.001$). In the other phases: 22 to 35, 36 to 42 and 1 to 42 there was interaction between pH x housing systems where birds housed in conventional house consuming water with pH 6.2 presented worse FCR ($P < 0.05$) in comparison to the other treatments (Table 3).

For the ileal apparent digestibility variable of N there was interaction between diet x pH and diet x housing systems. Between diet and pH the best digestibility was observed in the NC + 1FYT at pH 6.2 compared to the PC and NC diet with pH 6.2. In the diet x housing systems interaction the NC + 2.5FYT in climate-controlled house presented better digestibility ($P = 0.0163$) followed by NC + 1FYT in both housing systems (Table 4).

For gross energy there was interaction between diet x pH ($P < 0.0001$) where the worse digestibility was in the PC + 8.2 pH, NC + 6.2 pH and NC + 2.5FYT at pH 8.2. In the diet x housing systems interaction ($P < 0.0001$) the lowest digestibility was presented in the NC diet in climate-controlled house and NC + 2.5FYT in conventional poultry house. And in the pH x housing systems interaction the pH 8.2 in conventional house presented better gross energy digestibility ($P = 0.0363$) (Table 4).

In the apparent ileal digestibility of P the best digestibility ($P = 0.0220$) was through the supplementation of 2,500 FYT/Kg at pH 8.2 and 6.2 followed by the inclusion of 1,000 FYT/Kg in both pH compared to treatments without phytase inclusion, resulting in an interaction between diet x pH. The NC diet with 2,500 FYT/Kg in both aviaries and the diet with 1,000 FYT/Kg in climate-controlled house presented better digestibility ($P = 0.0158$) in relation to the other treatments, resulting in an interaction between diet x housing systems (Table 4).

For apparent ileal digestibility of Ca, the NC diet with inclusion of 2,500 FYT/kg at pH 8.2 in climate-controlled house was significantly higher than NC at pH 6.2 in conventional

poultry house, resulting in an interaction between the three factors: diet x pH x housing systems ($P = 0.0301$) (Table 4).

Phytase inclusion at both 1,000 and 2,500 FYT/kg increased plasma myo-inositol concentration to a greater extent in birds that received the drinking water with low pH compared with those that received drinking water with high pH resulting in a significant water pH x diet interaction ($P < 0.01$) (Figure 2). In the pH x housing systems interaction, the conventional house in both pH (6.2 and 8.2) the MYO concentrated was higher than in the chickens housed in climate-controlled ($P = 0.0322$) (Figure 3).

In the bone quality variables were evaluated percentage of ash (% ash) of calcium (Ca%) and phosphorus (P%). For the variable ash the NC diet in the two housing systems presented lower percentage of ashes compared to PC, and diets with 2,500 FYT/Kg in both aviaries presented better percentage of ashes than 1,000 FYT/Kg in climate-controlled house, resulting in an interaction between diet x housing systems (Table 4). In the present study the diets PC and NC with 2,500 FYT/Kg had a higher percentage of bone ash in both aviary compared to NC without phytase.

For Ca (%) there was interaction between diet and pH where NC with 1,000 FYT/Kg and pH 6.2 differed significantly ($P = 0.0026$) compared to NC without phytase in both pH and also in comparison to NC with 1,000 FYT/Kg and pH 8.2 (Table 4). The percentage of P in the tibia, only significant effect ($P < 0.0001$) was found for diet factor, where PC and NC with 2,500 FYT/Kg followed by NC with 1,000 FYT/Kg were superior to NC without phytase (Table 4).

For the intestinal pH variables, there was only difference in gizzard content pH ($P = 0.0367$). Chickens consuming pH 8.2 water showed an increase in the pH of the gizzard contents (3.55) compared to birds consuming water with pH 6.2 (3.32). No significant differences were found for pH content of duodenum and ileum ($P > 0.05$) (Figure 4).

DISCUSSION

The results of BWG in this study are similar those found by Olukosi et al. (2013), who supplemented phytase in broilers diets confirmed the efficiency of the enzyme in the partial or total hydrolysis of the phytic acid molecule in order to maintain maintenance without decreasing in productive indices. Ravindran et al. (2000) and Tejedor et al. (2001) attributed the increase in BWG by the addition of the enzyme phytase to the increase in ileal digestibility of crude protein, calcium and phosphorus. Birds consuming water with pH 6.2 associated with phytase supplementation presented better BWG. This can be explained by the functional requirements of the current commercial phytases, and the optimum pH for the maximum activity of the enzyme between 3 and 5 (Brejnholt et al., 2011), suggesting that the upper segments (proventriculus (Prov), gizzard (Giz) and possibly the crop) of the gastrointestinal tract (GIT) are the main active sites for phytase to have their 'effect (Li et al., 2016).

The higher BWG may be related to higher water consumption, this increase is related to the higher ambient temperature of the conventional poultry house and the addition of sodium bicarbonate via water, which stimulated water consumption and consequently higher feed intake. The results are in accordance with Penz (1989) who mentioned that the action of NaHCO_3 may be conditioned by the fact that animals receiving this salt increase water consumption, reducing the harmful effects of heat. Pesti et al. (1985) and Smith and Teeter (1987) reported that water consumption in high temperatures (caloric stress) is significantly higher than water consumption under thermoneutral conditions.

In this study, the best FCR (pre-starter) were provided by inclusion of phytase at pH 6.2, being 0.9708 and 0.9651 for 1,000 FYT/Kg and 2,500 FYT/Kg respectively, presenting a reduction of up to 0.10 units in comparison to the other treatments. In the 8 to 21 days phase the best FCR was obtained in the NC diet with 2,500 FYT/Kg of phytase with pH 8.2, in

which there was a reduction of 0.1053 units compared to the PC treatment with pH 6.2. These results are similar to those found by Shaw et al. (2011), that working with different levels of phytase found improvements ($P > 0.05$) in the FCR with inclusion of 1,000 and 2,500 FTY/Kg, presenting a reduction of 0.07 to 0.08 units in the FCR compared to treatment with 0.38% npP in broilers whit 21 days.

In the other phases: 22 to 35, 36 to 42 and 1 to 42 the birds housed in conventional house consuming water with pH 6.2 presented worse FCR in comparison to the other treatments.

This can be explained by the unfavorable environmental conditions of the aviary that consequently affected the weight gain of the birds, being that the birds housed in the same aviary and consuming water with pH 8.2 presented better FCR due to the inclusion of NaHCO_3 via water that minimizes the effects of heat. According to Ponciano et al. (2011) animals kept in suitable temperatures avoid the waste of metabolic energy contained in the diet provided, since there are practically no expenses for the maintenance of body temperature, highlighting the results of FCR found in the present study. Gallo (2009) analyzing FCR in broilers housed in different environments: conventional system, negative ventilation system and dark house, found a highly significant effect with a mean of 1.825 for dark house aviaries, 1.872 for aviary with negative ventilation and 1.901 for positive ventilation.

For the ileal apparent digestibility variable of N, the better digestibility was observed in the NC diet with 1,000 FYT/Kg at pH 6.2 in comparison to the PC and NC diet with pH 6.2. Also, the NC diet with 2,500 FYT/Kg in climate-controlled house presented better digestibility followed by NC diets with 1,000 FYT/Kg of phytase in both housing systems.

Several studies have reported that enzymatic supplementation in broilers diets showed positive effects on nutrient digestibility (Cowieson and Ravindran, 2007, Woyengo et al.,

2010, Karimi et al., 2013). When we talk about phytase, there is already concrete information about its effects on the use of nutrients (Selle and Ravindran, 2007; Adeola and Cowieson, 2011). In addition, it is common to reduce nutritional levels of diets supplemented with phytase, considering their nutritional matrix (Shelton et al., 2004; Silversides and Hruby, 2009).

Similar results were found by Gallardo et al., (2017) who, working with the inclusion of 500 FTU / kg in association with other enzymes, obtained better N digestibility compared to the other treatments. According to Selle et al. (2000), through phytate degradation, phytase prevented phytate-protein complexes with subsequent increase in N digestibility. Cowieson and Ravindran (2007) working with phytase obtained an increase in the digestibility of N, which was associated with the reduction of the flow of endogenous protein and the losses of N. This is related to the synthesis of endogenous proteins that decreases with the addition of exogenous enzymes, improving protein efficiency (Adeola and Cowieson, 2011; Cowieson et al., 2011).

Ravindran et al. (2006) working with 0, 500, 750 and 1,000 FTU / kg, found positive results in the metabolizable energy (AME) values, indicating that the negative influence of phytic acid can be overcome using phytase supplementation. Positive effects of phytase on the AME of corn and soybean diets have been reported by Camden et al. (2001) found an improvement of 35.82 kcal / kg DM in corn and soybean diets supplemented with 500 FTU / kg of a 6-phytase. Cowieson and Ravindran (2007) supplementing phytase reported the increase in energy use that was related to reduced energy flow and degradation of fibrous complexes. In this study, the gross energy the better digestibility was presented in the PC diet at pH 8.2, NC+1FYT at pH 6.2 and 8.2 and NC+2.5FYT at pH 6.2.

Phytase supplementation as expected improved the apparent ileal digestibility of P and Ca. Inclusion of 2,500 FYT/Kg had a better digestibility of P compared to inclusion of 1,000

FYT/Kg, independent of pH water. These results agree with Ravindran et al. (2006) that working with inclusions of 500 and 1,000 FTU / kg in diets based on corn and soybean meal with low phytate content obtained a linear improvement in the digestibility of P.

Olukosi et al. (2013), observed an increase in P digestibility in phytase-supplemented diets (at 1,000FYT/kg) in two studies, representing an additional extraction of 0.232 and 0.285 g extra P per kg of diet, respectively. There was an increase in digestibility of P at 2,000FYT/kg in relation to treatment without phytase of 14.2% and 9.2% in relation to 1,000FYT.

Phytase inclusion at both 1,000 and 2,500 FYT/kg increased plasma myo-inositol concentration to a greater extent in birds that received the drinking water with low pH compared with those that received drinking water with high pH. Can be explained by the fact that most phytases act efficiently in the upper gastrointestinal tract of chickens, more precisely in the crop with pH 3 and proventriculus and gizzard with pH 5.5, that is, in acidic environment, keeping the phytic acid molecule in soluble state (Augsburg et al., 2003; Liebert et al., 1993; Yu et al., 2004).

With inclusion of NC+1FYT and NC+2.5FYT in the diet there was an increase of 15.13 and 15.63 mg / l of circulating myo-inositol compared to NC without phytase. According to Lee and Bedford (2016), it is possible that a large part of the benefit of phytase overdosage is produced through the production of myo-inositol, which is subsequently absorbed and used in various biological functions within the animal.

Cowieson et al. (2014) working with two diets, an NC (reduction of Ca and P) and other PC both with supplementation of 1,000, 2,000 and 3,000FYT/kg of phytase, they observed an increase of 39 mg / l in PC without phytase to 67 mg / l in the NC with 3,000 FYT/kg phytase ($P < 0.001$), that is, a 71% increase in myo-inositol plasma concentration. In

this study comparing NC without phytase and NC with 2,500FYT/kg phytase at a pH 6.2 of water, an increase of 49.49% was observed. At pH 8.2 there was an increase of 33.2%.

In the conventional house in both pH, the MYO concentrated was higher than in the chickens housed in climate-controlled. The higher concentration of myo-inositol in the plasma of broilers housed in conventional poultry house may be related to BWG in almost all phases. In a study by Cowieson et al. (2014), phytase addition increased ($P < 0.0001$) myo-inositol plasma concentrations from about 50mg / l to almost 70mg / l, according to the author, these effects were reflected in a better body weight gain due to extra phosphoric effects.

For Ca (%) was bigger in the NC + 1FYT diet and pH 6.2 ($P = 0.0026$) than NC without phytase in both pH and also in comparison to NC + 1FYT and pH 8.2. The percentage of P in the tibia was higher to PC+2.5FYT and NC+2.5FYT followed by NC+1FYT than only NC. These results of bone mineralization are similar to those found by Olukosi and Fru-Nji (2014), where the percentage of ash in the tibia and P were lower ($P < 0.01$) in NC in relation to PC diets and when phytase was added (100 and 200 ppm) there was a linear increase in the percentage of ashes and P of the tibias. This author concluded that Phosphorus and Ca retention improved with phytase supplementation having been an increase in Ca and P retention in response to phytase supplementation. The weight gain response followed the same pattern as tibia ash response, which taken together confirmed that P was limiting for growth the diets used in the current studies and that phytase supplemented at more than 1,000 FYT/kg was still beneficial for growth in the experiment.

In the present study the diets PC and NC+2.5FYT had a higher percentage of bone ash in both aviaries compared to NC without phytase. Walk et al. (2012) showed that phytase supplementation up to 2,500 FTU/kg of feed increased linearly the percentage of ash in the tibias. Shaw et al. (2011) observed improvements in the percentage of bone ash (35.3, 37.37 and 38.78%) when using increasing levels of phytase (500, 1,000 and 2,000 FYT/kg) in diets

of chickens at 21 days of age. The increase of the mineral matter contents through the inclusion of phytase suggests an improvement of the bone mineralization by the increase of the use of calcium and phosphorus.

Chickens consuming pH 8.2 water showed higher in the pH of the gizzard contents than birds consuming water with pH 6.2. According to Brejnholt et al. (2011) alkaline water consumption increased the gizzard pH to 0.23, noting that the majority of the current commercial phytases, pH optima for maximum activity is between 3 and 5, suggesting the upper segments as the gizzard is one of the main active sites for phytase to have its effect. Highlighting, the importance of drinking water pH since it can change the pH of crop and of the gizzard affecting the activity of phytase.

CONCLUSIONS

1. The results of the present study demonstrate that the pH of water 6.2 influences the phytase efficiency in the initial phase of broilers.
2. Alkaline pH (8.2) in conventional poultry allows improvement in BWG, FCR in the final stage and increases the pH of gizzard contents.
3. The different phytase inclusions improve the apparent ileal digestibility of P, Ca, N.
4. The concentration of myo inositol in plasma is higher in birds housed in conventional aviaries and in birds supplemented with phytase.
5. Super-dose phytase (2,500 FYT/kg) improves the bone, P and Ca ash of broiler chickens.

REFERENCES

- AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- AOAC International. 2006. Official Methods of Analysis. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- Adeola, O., and A. J. Cowieson. 2011. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *J. Anim. Sci.* 89:3189–3218.
- Applegate, T. J., D. M. Webel, and X. G. Lei. 2003. Efficacy of a phytase derived from *Escherichia coli* and expressed in yeast on phosphorus utilization and bone mineralization in turkey poultry. *Poult. Sci.* 82:1726–1732.
- Augsburger N. I. Webel D. M. Lei X. G. Baker D. H. 2003. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. *J. Anim. Sci.* 81:474–483.
- Brejnholt, S. M., G. Dionisio, V. Glitsoe, L. K. Skov, and H. Brinch Pedersen. 2011. The degradation of phytate by microbial and wheat phytases is dependent on the phytate matrix and the phytase origin. *J. Sci. Food Agric.* 91:1398–1405
- Camden, B. J., P. C. H. Morel, D. V. Thomas, V. Ravindran, and M. R. Bedford. 2001. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. *Anim. Sci.* 73:289–297.
- Choct, M., and G. Annison. 1992. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: Roles of viscosity and gut microflora. *Br. Poult. Sci.* 33:821–834.
- Cobb–Vantress Inc., Siloam Springs, AR.

- Cowieson, A. J., and V. Ravindran. 2007. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. *Br. J. Nutr.* 98:745–752.
- Cowieson, A. J. Wilcocoek, and M. R. Bedford. 2011. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poult. Sci. J.* 67:225–235.
- Cowieson, A. J., F. Fru-Nji ^A and O. Adeola. Dietary phosphate equivalence of four forms of Pi contrasted with a novel microbial phytase from *Citrobacter braakii* in broiler chickens. *Animal Production Science*. v. 55, p. 1145–1151, 2015.
- Eeckhout, W., M. de Paepe. 1994. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 47: 19-29.
- Gallardo, C., J. C. Dadalt, E. Kiarie, and M. A. Trindade Neto. 2017. Effects of multi-carbohydrase and phytase on standardized ileal digestibility of amino acids and apparent metabolizable energy in canola meal fed to broiler chicks. *Poult. Sci.* 0:1–9.
- Gallo, B. B. 2009. Dark House: manejo x desempenho frente ao sistema tradicional. In: *Anais do X Simpósio Brasil Sul de Avicultura e I Brasil Sul Poultry Fair*. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves.
- Karimi, A., Y. Min, and C. Lu. 2013. Assessment of potential enhancing effects of a carbohydrase mixture on Phytase efficacy in male broiler chicks fed phosphorus-deficient diets from 1 to 18 days of age. *Poult. Sci.* 92:192–198.
- Konietzny, U., and R. Greiner. 2002. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). *Int. J. Food Sci. Technol.* 37:956–961.
- Lee, S. A., and M. R. Bedford. 2016. Inositol - an effective growth promotor? *World's Poult. Sci. J.* 72:743–760.
- Lesson, S.; Summers, J. D. 2001. *Nutrition of the chicken*. 4th Edition. University Books, P. O Box 1326, Guelph, Ontario, Canada: NIH 6N8. p.331-428.

- Leung, K. Y.; Mills, K.; Burren, K. A.; Copp, A. J.; Greene, N. D., 2011: Quantitative analysis of myo-inositol in urine, blood and nutritional supplements by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 879, 2759–2763.
- Li, W., R. Angel, S. W. Kim, K. Brady, S. Yu, and P. W. Plumstead. 2016. Impacts of dietary calcium, phytate, and nonphytate phosphorus concentrations in the presence or absence of phytase on inositol hexakisphosphate (IP6) degradation in different segments of broilers digestive tract. *Poult. Sci.* 95:581–589.
- Liebert, F., C. Wecke, and F. J. Schoner. 1993. Phytase activities in different gut contents of chickens as dependent on level of phosphorous and phytase supplementations. In: *Proceedings of 1st European Symposium Enzymes in Animal Nutrition*. pp. 202–205.
- Lichtenberg, J., P. B. Pedersen, S. G. ElvigJoergensen, L. K. Skov, C. L. Olsen, and L. V. Glitsoe. 2011. Toxicological studies on a novel phytase expressed from synthetic genes in *Aspergillus oryzae*. *Regul. Toxicol. Pharm.* 60:401–410.
- Macedo, J.A.B. 2007. *Águas e Águas*. Belo Horizonte: CRQ-MG. 1027p.
- Maenz D., D. 2001. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 61–84.
- May, J.D., and B.D. Lott, 1992. Feed consumption patterns of broilers at high environmental temperatures. *Poult. Sci.* 71, 331-336.
- Oliveira, R.F.M., J.L. Donzele, M.L.T. Abreu, R. A. Ferreira, R.G.M.V. Vaz., and P. S. Cella. 2006. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.3, p.797-803.

- Olukosi, O. A., C. Kong, F. Fru-Nji, K. M. Ajuwon, and O. Adeola. 2013. Assessment of a bacterial 6-phytase in the diets of broiler chickens. *Poult. Sci.* 92:2101–2108.
- Olukosi O. A., F. Fru-Nji. 2014. The interplay of dietary nutrient specification and varying calcium to total phosphorus ratio on efficacy of a bacterial phytase: 1. Growth performance and tibia mineralization. *Poult. Sci.* 93:3037–3043.
- Penz Jr, A. M. 1989. Estresse pelo calor: efeitos em frangos e matrizes; manipulação do equilíbrio ácido-base. In: conferência apinco de ciência de tecnologia avícolas, 1989, Campinas. Anais... Campinas: Apinco. p.139-146.
- Pesti, G. M., S. V. Amato., L. R. Minerar. 1985. Water consumption of broiler chickens under commercial conditions. *Poult. Sci.*, 64: p.803-808.
- Ponciano, P. F., M. A. Lopes., T. Yanagi Jr., G. A. S. Ferraz. 2011. Análise do ambiente para frangos por meio da lógica *fuzzy*: uma revisão. *Arch. de Zoote. Córdoba.* 60–1:13.
- Ronozyme HiPhos (GT), Novozymes A/S, Bagavaerd, Denmark.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and P. F. Euclides. 2011. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 3rd ed. UFV, Viçosa, MG, Brazil.
- Ravindran, V., S. Cabahug, G. Ravindran, P. H. Selle, and W.L. Bryden. 2000. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. *Br. Poult. Sci.* 41:193–2000.
- Ravindran, V., P. C. H. Morel, G. G. Partridge, M. Hruby, and J. S. Sands. 2006. Influence of an *E. coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starter fed diets containing varying concentrations of phytic acid. *Poult. Sci.* 85:82– 89.

- Ravindran, V., A. J. Cowieson, and P. H. Selle. 2008. Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. *Poult. Sci.* 87:677–688.
- Rutherford, S. M., T. K. Chung, P. C. H. Morel, and P. J. Moughan. 2004. Effect of microbial phytase on the ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a lowphosphorus diet for broilers. *Poult. Sci.* 83:61–68.
- Santos, F. R., M. Hruby, E. E. M. Pierson, J. C. Remus, and N. K. Sakomura. 2008. Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. *J. Appl. Poult. Res.* 17:191–201.
- Saima, M. Z., U. Khan, M. A. Jabbar, M. Ijaz, and M. A. Qadeer. 2009. Efficacy of microbial phytase at different levels on growth performance and mineral availability in broiler chickens. *J. Anim. Plant Sci.* 19:58–62.
- SAS Institute, *SAS User's Guide: Statistics, Version 9.4 Review Edition*. SAS Institute, Cary, NC, 2011.
- Selle, P. H., and V. Ravindran. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135:1–41.
- Selle, P. H., V. Ravindran, R. A. Caldwell, and W. L. Bryden. 2000. Phytate and phytase: Consequences for protein utilisation. *Nutr. Res. Rev.* 13:255–278.
- Shaw, A. L., J. B. Hess., J. P. Blake., and N. E. Ward. 2011. Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization, and phosphorus excretion in broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 20:561–566.
- Shelton, J. L., L. L. Southern, L. A. Gaston, and A. Foster. 2004. Evaluation of the nutrient matrix values for phytase in broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 13:213–221.
- Silversides, F. G., and M. Hruby. 2009. Feed formulation using phytase in laying hen diets. *J. Appl. Poult. Res.* 18:15–22.

- Smith, M.O. and R. G. Teeter. 1988. Effects of potassium chloride and fasting on broiler performance during summer. *Anim. Sci. Res. Rep. Agricultural Experimental Station, Oklahoma State University*. MP-125, 255–258.
- Tejedor, A. A., L. F. T. Albino., H. S. Rostagno., C. A. R. Lima. And F. M. Vieites. 2001. Effect of Enzymes Supplementation in Corn Soybean Meal Broiler Diets on Ileal Digestibility of Nutrients. *R. Bras. Zootec.* 30:809-816.
- Viola T. H., A. M. L, Ribeiro., A. M. Penz Junior., and E. S. Viola. 2009. Influence of water restriction on the performance and organ development of young broilers. *R. Bras. Zootec.* 38:323–327.
- Vogtmann, H., P. Frirter, and A. L. Prabuck. 1975. A new method of determining metabolizability of energy and digestibility of fatty acids in broiler diets. *Br. Poult. Sci.* 16:531–534.
- Yu, B., Y. C. Jan., T. K. Chung., T. T. Lee, and P. W. S. Chiou. 2004. Exogenous phytase activity in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:295–303.
- Zanella, I., N. K. Sakomura, F. G. Silversides, A. Figueirido, and M. Pack. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. *Poult. Sci.* 78:561–568.
- Walk, C. L., E. K. Addo-Chidie., M. R, Bedford., and O. Adeola. 2012. Evaluation of highly soluble calcium source and phytase in the diets of broilers chickens. *Poult. Scie.* 91:2255–2263.
- Woyengo, T. A., E. Kiarie, and C. M. Nyachoti. 2010. Energy and amino acid utilization in expeller-extracted canola meal fed to growing pigs. *J. Anim. Sci.* 88:1433–1441.

Table 1. Ingredient and nutrient composition of the study diets to broilers in the different phases

Item	Pre-starter (1-7 days)				Starter (8-21 days)				Grower (22-35 days)				Finisher (36-42 days)			
	PC	NC	NC+1 FYT	NC+2 .5FYT	PC	NC	NC+1 FYT	NC+2. 5FYT	PC	NC	NC+1 FYT	NC+2 .5FYT	PC	NC	NC+1 FYT	NC+2. 5FYT
Ingredients, %																
Corn (7.9% CP)	53.86	55.44	55.43	55.41	61.81	63.32	63.31	63.29	65.72	67.37	67.36	67.34	69.42	71.00	71.00	71.00
Soybean meal (48% CP)	38.94	38.65	38.65	38.65	32.10	31.82	31.82	31.82	28.71	28.41	28.41	28.41	25.36	25.08	25.08	25.08
Soybean oil	2.86	2.33	2.33	2.33	2.15	1.63	1.63	1.63	2.08	1.53	1.53	1.53	2.10	1.57	1.57	1.57
Dicalcium phosphate (23% Ca / 18% P)	2.08	1.25	1.25	1.25	1.73	0.89	0.89	0.89	1.47	0.63	0.63	0.63	1.21	0.37	0.37	0.37
Limestone (37 % Ca)	1.01	1.08	1.08	1.08	0.99	1.11	1.11	1.11	0.96	0.99	0.99	0.99	0.99	1.06	1.06	1.06
Salt	0.16	0.15	0.15	0.15	0.13	0.13	0.13	0.13	0.10	0.10	0.10	0.10	0.08	0.08	0.08	0.08
DL-Met, 99%	0.35	0.35	0.35	0.35	0.30	0.29	0.29	0.29	0.25	0.25	0.25	0.25	0.23	0.23	0.23	0.23
L-Lysine sulphate (54.6%)	0.40	0.41	0.41	0.41	0.52	0.52	0.52	0.52	0.48	0.48	0.48	0.48	0.43	0.44	0.44	0.44
L-Threonine, (98%)	0.11	0.11	0.11	0.11	0.08	0.08	0.08	0.08	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05
Vitamin premix ¹	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.12	0.12	0.12	0.12	0.08	0.08	0.08	0.08
Mineral premix ²	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Surmax	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Choline chloride, 60%	0.030	0.030	0.030	0.030	0.005	0.001	0.001	0.001								
Phytase ³			0.010	0.025			0.010	0.025			0.010	0.025			0.0100	0.0250
Calculated nutrient %																
AME, Kcal/kg	2.950	2.950	2.950	2.950	3.000	3.000	3.000	3.000	3.050	3.050	3.050	3.050	3.100	3.100	3.100	3.100
Crude Protein	23.34	23.34	23.34	23.34	20.75	20.75	20.75	20.75	19.38	19.38	19.38	19.38	18.03	18.02	18.02	18.02
Total Calcium	0.92	0.77	0.77	0.77	0.86	0.71	0.71	0.71	0.75	0.60	0.60	0.60	0.70	0.55	0.55	0.55
Total phosphorus	0.72	0.57	0.57	0.57	0.64	0.49	0.49	0.49	0.58	0.43	0.43	0.43	0.53	0.38	0.38	0.38
Disponible phosphorus	0.47	0.32	0.32	0.32	0.40	0.25	0.25	0.25	0.35	0.20	0.20	0.20	0.30	0.15	0.15	0.15
Na	0.22	0.22	0.22	0.22	0.21	0.21	0.21	0.21	0.20	0.20	0.20	0.20	0.19	0.19	0.19	0.19
Dig Lys	1.30	1.30	1.30	1.30	1.20	1.20	1.20	1.20	1.10	1.10	1.10	1.10	1.00	1.00	1.00	1.00

Dig Met	0.64	0.64	0.64	0.64	0.56	0.56	0.56	0.56	0.50	0.50	0.50	0.50	0.47	0.47	0.47	0.47
Dig Met + Cys	0.94	0.94	0.94	0.94	0.83	0.83	0.83	0.83	0.76	0.76	0.76	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71
Dig Thr	0.85	0.85	0.85	0.85	0.74	0.74	0.74	0.74	0.68	0.68	0.68	0.68	0.63	0.63	0.63	0.63

¹Composition per kilogram of feed: vitamin A, 9,000 IU; vitamin D3, 2,500 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K3, 2.5 mg; thiamine, 1.5 mg; riboflavina, 6 mg; pyridoxine, 3 mg; cyanocobalamin, 0.012 mg; pantothenic acid, 12 mg; niacina, 25 mg; folic acid, 0.8 mg; biotin, 0.06 mg; selenium, 0.25 mg,

²Composition per kilogram of feed: copper, 20 mg; iron, 100 mg; manganese, 160 mg; cobalt, 2 mg; iodine, 2 mg; zinc, 100 mg,

³Ronozyme HiPhos (GT) whit 10,000 FYT/ g (Novozymes A/S, Bagavaerd, Denmark); analyzed values for feeds with formulated 1,000 and 2,500 FYT/Kg,

Table 2. Feed intake (FI, g) and body weight gain (BWG, g) of broilers fed diets supplemented with phytase in different pH of water in two housing systems

Diet	FI, g					BWG, g				
	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42	1 a 42	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42	1 a 42
PC ¹	167.07 a	1189.10 a	2213.40 a	1263.10 a	4832.60 a	170.36 a	867.69 c	1323.65 a	697.96 ab	3059.67 a
NC ²	155.02 c	1105.20 b	2116.10 b	1182.20 c	4558.50 b	152.29 c	813.70 d	1232.34 c	662.96 b	2861.30 b
NC+1FYT ³	160.69 bc	1189.80 a	2171.80 ab	1216.60 bc	4738.90 a	162.93 b	906.36 b	1277.99 b	666.36 ab	3013.65 a
NC+2.5FYT ³	162.02 ab	1188.70 a	2203.50 a	1230.30 ab	4784.50 a	163.34 b	927.15 a	1272.96 b	701.56 a	3065.02 a
pH										
6.2	170.82	1170.10	2132.20	1260.20	4659.00	174.44	874.29	1245.56	661.73	2956.03
8.2	151.58	1166.30	2220.20	1185.90	4798.30	150.02	883.16	1307.91	702.69	3043.78
Housing Systems										
Conventional	163.94	1196.60	2236.60	1259.60	4856.70	165.16	905.63	1314.03	626.58	3011.4
Climate-controlled	158.46	1139.80	2115.80	1186.50	4600.60	159.71	855.67	1244.77	729.89	2990.05
<i>Main effects and interaction P-Values</i>										
Diet	0.0002	<0.0001	0.0041	0.0003	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0041	<0.0001
pH	<0.0001	n.s.	<0.0001	<0.0001	0.0002	<0.0001	n.s.	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Housing systems	0.0029	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	n.s.
Diet*pH	n.s.	<0.0001	n.s.	n.s.	0.0378	<0.0001	<0.0001	n.s.	n.s.	n.s.
Diet*Housing systems	n.s.	n.s.	n.s.	0.1400	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
pH*Housing systems	n.s.	n.s.	0.0008	<0.0001	0.0007	0.0013	n.s.	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Diet*pH*Housing systems	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0.0033	n.s.	n.s.	n.s.
SEM ⁴	6.13	33.01	67.28	42.53	117.70	4.96	24.40	52.2	49.04	87.12

^{a-c} Means with different superscript letters differ ($P < 0.05$) based on Tukey's significant test.

¹ PC- without supplemental phytase, was formulated to be adequate in all nutrients.

² NC - reduction of 0.15% Ca and 0.15% Avail. P

³ Ronozyme HiPhos (GT) with 10,000 FYT/g (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark); analyzed values for feeds with formulated 1,000 and 2,500 FYT/Kg.

⁴ From an ANOVA with all treatments.

Table 3. Feed conversion rate (FCR) of broilers fed diets supplemented with phytase in different pH of water in two housing systems

Diet	FCR (g/g)				
	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42	1 a 42
PC ¹	0.986 b	1.363 a	1.660 b	1.820	1.569 ab
NC ²	1.026 a	1.344 b	1.694 ab	1.810	1.579 a
NC+1FYT ³	0.993 b	1.321 c	1.706 a	1.855	1.578 a
NC+2.5FYT ³	0.993 b	1.289 d	1.716 a	1.778	1.558 b
pH					
6.2	0.977	1.338	1.709	1.845	1.578
8.2	1.022	1.321	1.680	1.787	1.563
Housing Systems					
Conventional	1.008	1.330	1.700	2.034	1.616
Climate-controlled	0.992	1.329	1.689	1.629	1.532
<i>Main effects and interactions P-Value</i>					
Diet	0.0001	<0.0001	0.0027	n.s.	0.0139
pH	<0.0001	0.0007	0.0032	0.0101	0.0021
Housing systems	0.0125	n.s.	n.s.	<0.0001	<0.0001
Diet*pH	0.0001	0.0386	0.0386	n.s.	n.s.
Diet*Housing systems	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
pH*Housing systems	n.s.	n.s.	0.0001	0.023	<0.0001
Diet*pH*Housing systems	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SEM ⁴	0.0318	0.0258	0.0545	0.1217	0.0269

^{a-b} Means with different superscript letters differ ($P < 0.05$) based on Tukey's significant test.

¹ PC- without supplemental phytase, was formulated to be adequate in all nutrients.

² NC - reduction of 0.15% Ca and 0.15% Avail. P

³ Ronozyme HiPhos (GT) with 10,000 FYT/ g (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark); analyzed values for feeds with formulated 1,000 and 2,500 FYT/Kg

⁴ From an ANOVA with all treatments.

Table 4. Apparent ileal digestibility (%), tibia bone mineralization (%) and plasma myo-inositol concentration (mg/l) in broilers fed diets supplemented whit phytase in different pH of water in two housing systems

Diet	Apparent ileal digestibility (%)				Tibia bone mineralization (%)			Plasma myo-inositol (mg/l)
	N	GE ³	Ca	P	Ash	Ca	P	
PC ¹	80.84 c	80.33 ab	59.82 ab	59.82 ab	52.17 a	20.37 a	9.06 a	39.54 b
NC ²	81.66 bc	79.26 b	59.65 b	59.65 b	49.72 c	19.62 b	7.35 c	31.43 c
NC+1FYT ³	84.06 a	80.91 a	61.89 ab	61.89 ab	51.17 b	20.44 a	8.50 b	43.51 a
NC+2.5FYT ³	82.82 ab	79.57 b	63.25 a	63.25 a	52.28 a	20.05 ab	8.69 ab	44.44 a
pH								
6.2	81.91	79.77	59.64	65.20	51.27	20.17	8.44	41.03
8.2	82.77	80.26	62.67	66.16	51.39	20.07	8.36	38.43
Housing Systems								
Conventional	81.72	80.4	58.41	64.88	51.61	19.77	8.48	44.31
Climate-controlled	82.88	79.69	63.5	66.37	51.09	20.42	8.34	35.15
<i>Main effects and interaction P-values</i>								
Diet	<0.0001	0.0011	0.0402	<0.0001	<0.0001	0.0130	<0.0001	<0.0001
pH	0.0478	n.s.	0.0034	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0.0089
Housing Systems	0.0115	0.0285	<0.0001	0.1217	0.0209	0.0015	n.s.	<0.0001
Diet*pH	0.0005	<0.0001	0.020	0.0220	n.s.	0.0026	n.s.	0.0066
Diet*Housing systems	0.0163	<0.0001	0.0442	0.0158	0.0364	n.s.	n.s.	n.s.
pH*Housing systems	n.s.	0.0363	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0.0322
Diet*pH*Housing systems	n.s.	n.s.	0.0301	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SEM ⁴	2.29	1.61	4.86	5.05	11225	10040	0.7524	7.64

^{a-b} Means whit different superscript letters differ ($P < 0.05$) based on Tukey's significant test.

¹ PC- without supplemental phytase, was formulated to be adequate in all nutrients.

² NC - reduction of 0.15% Ca and 0.15% Avail. P

³ Ronozyme HiPhos (GT) whit 10,000 FYT/ g (Novozymes A/S, Bagavaerd, Denmark); analyzed values for feeds with formulated 1,000 and 2,500 FYT/Kg.

⁴ From an ANOVA whit all treatments.

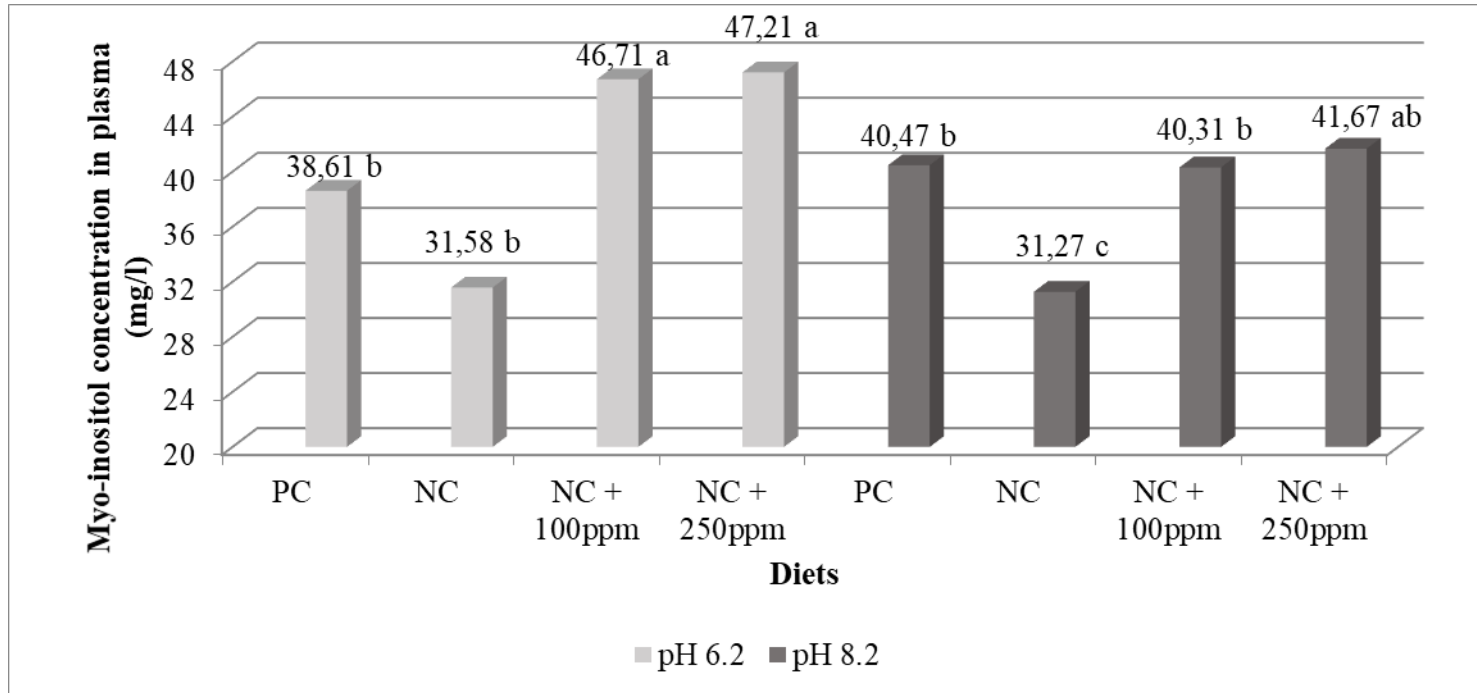


Figure 1. Interaction between diet and pH in myo-inositol concentration in plasma (mg/l) of broilers. Means were obtained from 13 replicate box. Means for a myo-inositol with different letters (a, b or c) are significantly different ($P < 0.05$).

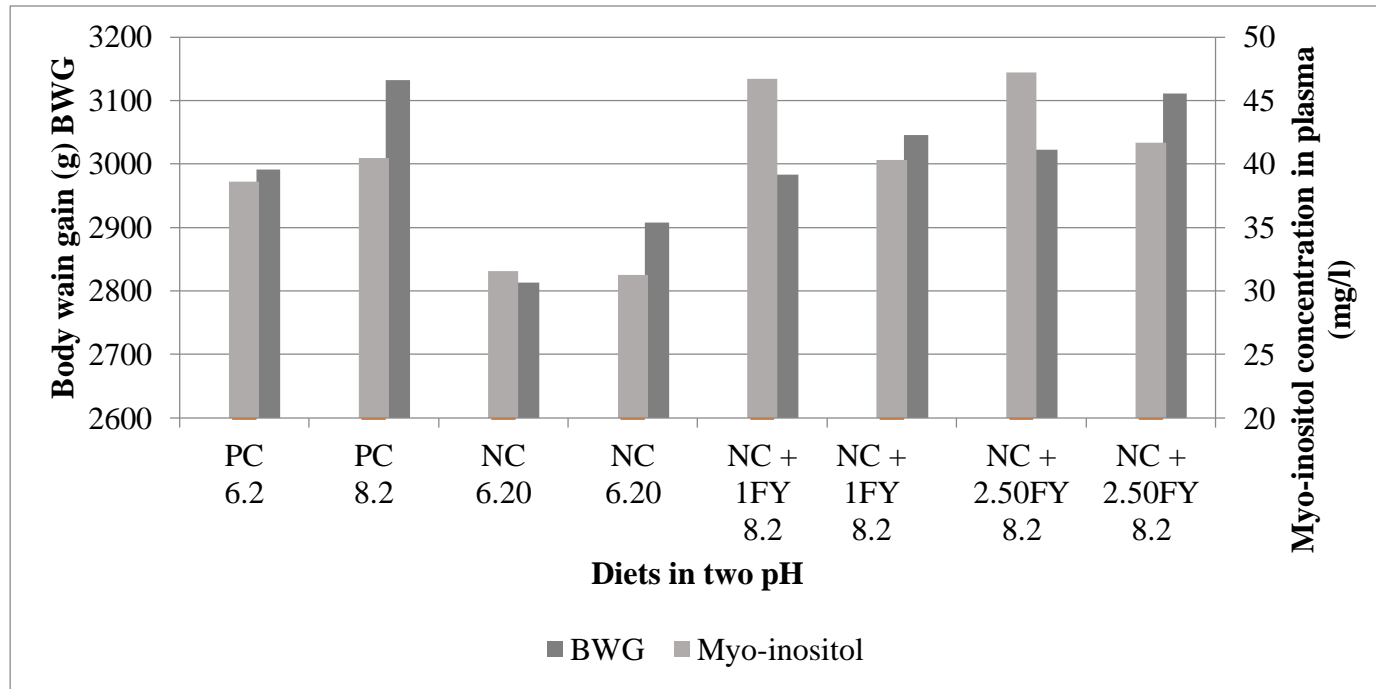


Figure 2. Interaction between diet and pH in plasma myo-inositol concentration (mg / l) of broilers comparing BWG (1-42 days).

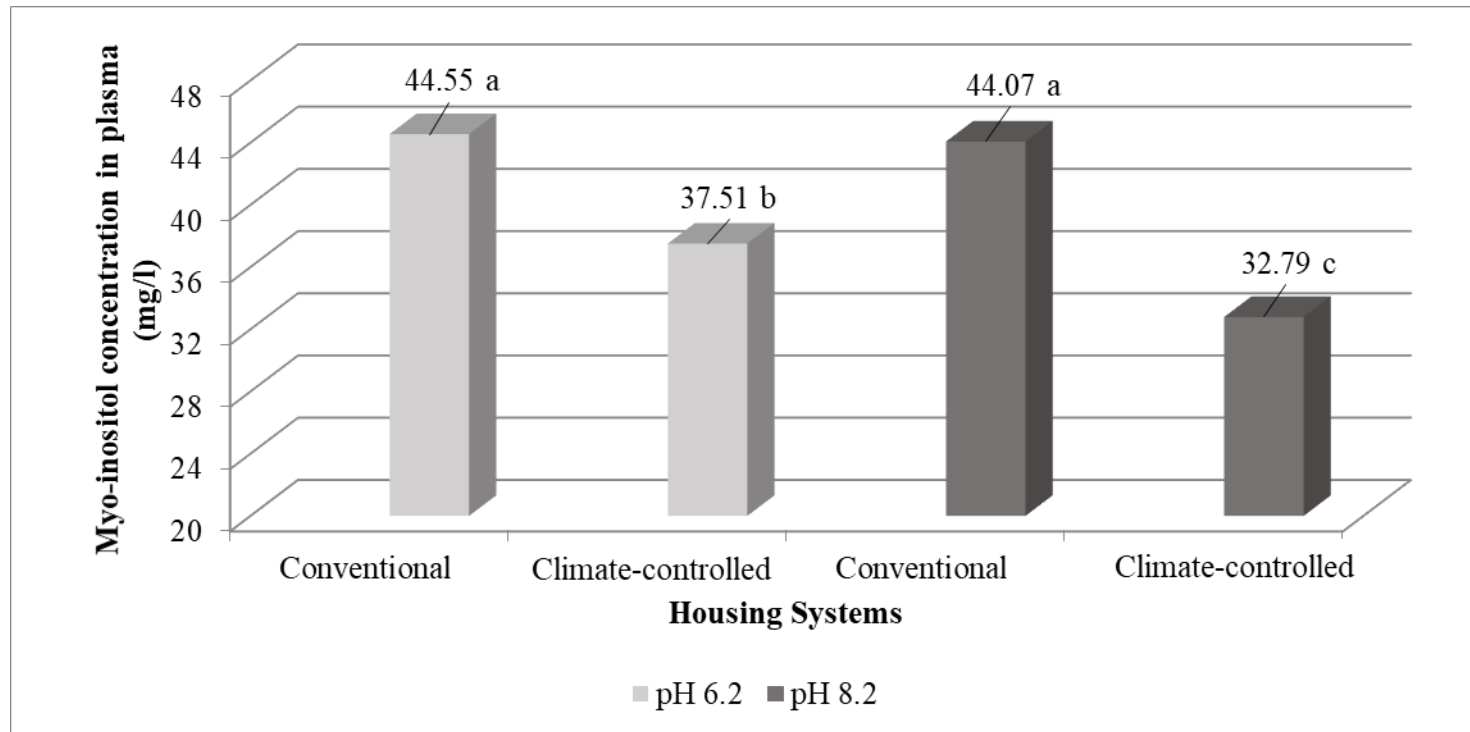


Figure 3. Interaction between aviary and pH in myo-inositol concentration in plasma (mg/l) of broilers. Means for a myo-inositol whit different letters (a, b or c) are significantly different ($P < 0.05$).

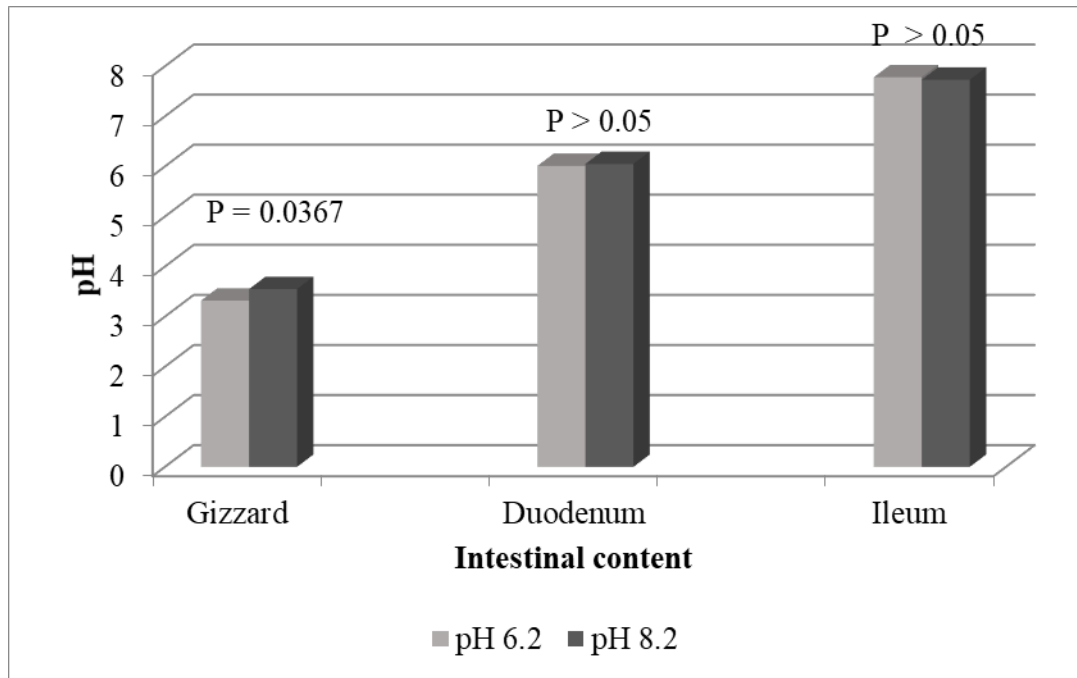


Figure 4. pH of intestinal contents (gizzard, duodenum and ileum) in the main factor pH. The pH of water 8.2 only altered the pH of gizzard contents ($P = 0.0367$), the other variables were not affected.

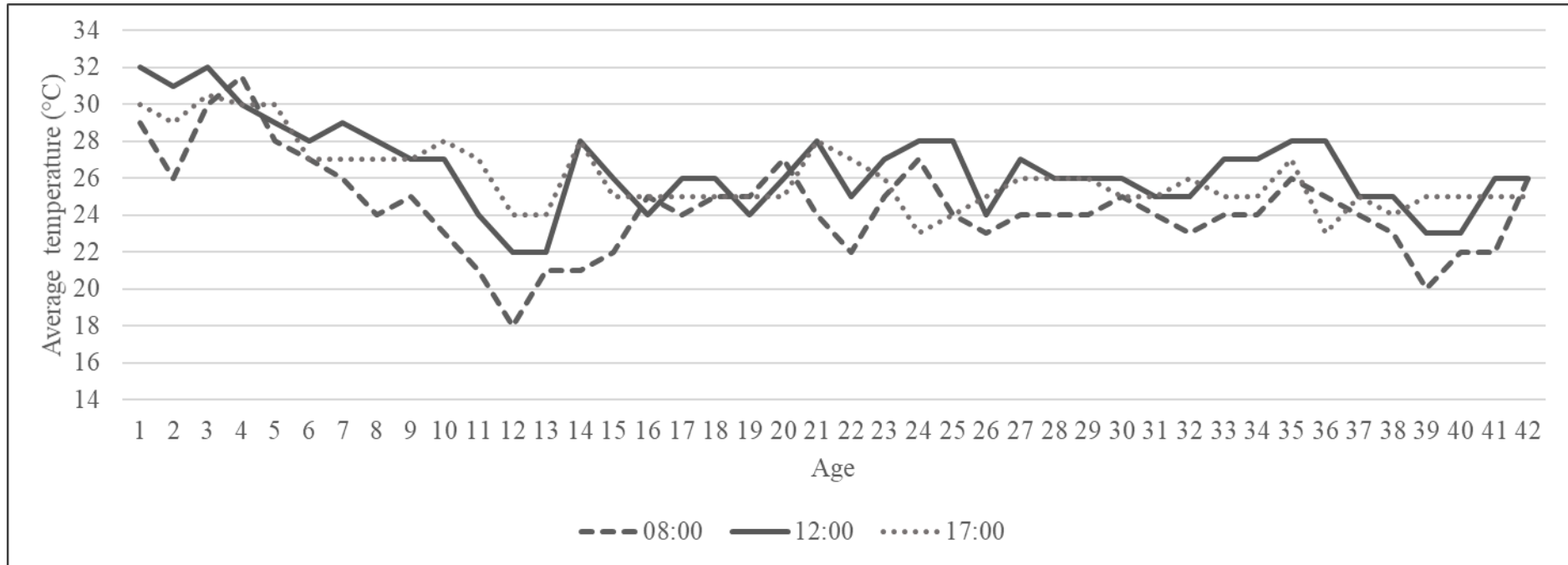


Figure 5. Temperature control at different times in climate-controlled poultry house.

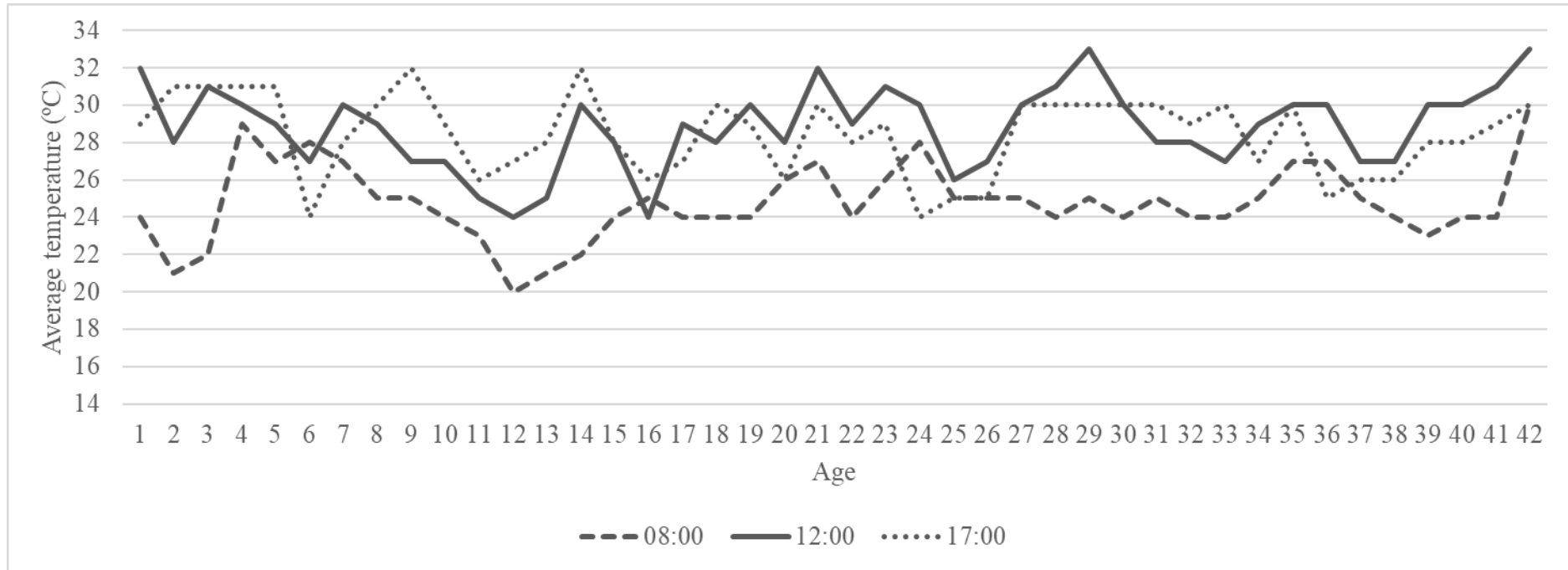


Figure 6. Temperature control at the different times in conventional poultry house.

5 CAPÍTULO II – EFFECTS OF HOUSING SYSTEMS AND WATER pH ON PERFORMANCE, INTESTINAL pH AND SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BROILERS

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação no Periódico **Journal of Applied Poultry Research**.

Effects of housing systems and water pH on performance, intestinal pH and serum biochemical parameters of broilers

Mariane de Oliveira Fernandes ^{(a),*}, Alexandre Pires Rosa^a, Angélica Londero^a, Leila Picolli da Silva^a, Silvino Teixeira da Costa^a, Janaína Moura^a, Natália Hettwer Pedroso^a, Natieli Santos^a

^a Poultry Science Laboratory, Department of Animal Science, Federal University of Santa Maria, Avenida Roraima nº 1000, ZIP Code: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil;

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effect of different drinking water pH on performance, intestinal pH and serum biochemical parameters of broilers housed in different housing system. A total of 1,000 broilers, males of the Cobb-500 strain were used, distributed in a completely randomized design with a 2x2 factorial arrangement: two water pH (6.2 and 8.2) and two housing systems (conventional and acclimatized poultry house), totaling 4 treatments with 7 replicates in the acclimatized poultry house and 6 in the conventional poultry house. Pelleted diets based on corn and soybean meal were used. Serum biochemical parameters (total protein, glucose, albumin and cholesterol) and gizzard, duodenum and ileum pH contents were evaluated in 3 birds per replicate. To raise the normal pH of the water to 8.2 it was added a concentrated solution of sodium bicarbonate (NaHCO_3) in the storage containers of water. The birds which were submitted to pH 8.2 in conventional poultry house, obtained a higher body weight, higher feed intake in the phases: d8-21, d22-35, d36-42 and d1-42, and greater weight gain in the phases: d8 -21, d22-35 and d1-42. Feed conversion was better in birds housed in acclimatized poultry housed in the d1-7, d36-42 and d1-42. Glucose was lower in birds submitted to pH 8.2 and housed in conventional poultry house. There was no significant difference for serum cholesterol and intestinal pH. The NaHCO_3 in drinking water of broilers improve the performance and decrease serum glucose levels of birds housed in conventional poultry house.

Key words: Caloric stress; housing system; performance; sodium bicarbonate.

DESCRIPTION OF PROBLEM

Poultry production evolution has been resulted in a broiler chicken with great efficiency to convert different feeds into quality animal protein. However, several metabolic and management problems have arisen, among them, problems related to caloric stress (Borges et al., 2003).

High environmental temperatures lead to a wide range of deleterious impacts on physiological and performance characteristics in broilers (El-Kholy et al., 2017). One of the consequences of stress is the change in acid-base balance due to increased respiratory rate causing greater losses of CO₂ which can result in increased blood pH and acid-base imbalance with the appearance of respiratory alkalosis (Toyomizu et al., 2005).

The type of poultry house is also related to water consumption and broiler performance. Broilers housed in conventional poultry house may show signs of heat stress, due to high temperatures they decrease feed intake to reduce metabolic heat production and to maintain the homoeothermic, which negatively affects weight gain and feed conversion (Oliveira et al., 2006). In poultry houses, where the environment is controlled, the effects of heat stress are minimized, reducing the effects of high temperatures on broiler performance.

Due to the high cost of poultry facilities for controlled environment to minimize the effects of high temperatures, alternative techniques have been proposed to correct alterations in the acid-base balance due to heat stress, such as: the provision of diets based on the concept electrolytic balance, manipulation of energy and protein levels of diets, supplementation of salts in water or in feeds for broilers (Vieites et al., 2011).

Hematological parameters are particularly sensitive to temperature changes, being an important indicator of physiological responses in birds submitted for stressing agents (Majekodunmi et al., 2013).

The supplementation of these salts promotes increased water consumption and an increase in the intake of specific ions, which prevents changes in the basic acid balance, not interfering in the weight gain and bird survival (Macari and Soares, 2012). It is an often used alternative for broilers to reduce losses due to caloric stress, especially when in conventional poultry house, where heat stress can be higher.

Among the main used salts, it stands out the sodium bicarbonate (NaHCO_3) (Borges et al., 2003) that is added in water or feed and can be used to combat the thermal stress of broilers (Ahmad, 1997; Mushtaq, 2005). In addition, the NaHCO_3 positively affects the pH of the blood providing bicarbonate ions (Ahmad et al., 2006).

Most electrolytes are considered more potent when applied via water rather than through ingestion feed, however, nutritionists typically prefer the certainty of electrolytic inclusion in feed rather than in water. Supplementing electrolytes through water not only stimulates water intake, but also counterbalance for electrolyte losses (Dai et al., 2009).

The water is a fundamental nutrient, but usually it is not given enough importance to the quality and quantity of water that is offered to the animals, however, performance problems can be attributed to this nutritional component (Krabbe and Romani, 2013).

This work aims to evaluate the effect of different drinking water pH on performance, intestinal pH and serum biochemical parameters of broilers housed in different housing systems.

MATERIALS AND METHODS

The present study was carried out at the Poultry Science Laboratory of Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Brazil. This research was based on compliance with the Welfare Standards and it was approved by the Ethics Committee of UFSM (8848280119).

A total of 1,000 broilers, males of the Cobb-500 strain, with initial mean weight of 42.95 ± 1.2 g were used. The birds used in the study had a range of $\pm 2.5\%$ from the average weight.

Fourteen pens structured in PVC cages with 1.8x2.3m wide and lengths were used in the acclimatized poultry house, respectively, with an internal area of 4.14 square meters. The poultry house has a 12m wide and 35m in length, ceiling height of 3.0 m, with steel sheet coverage, insulating core and textured aluminum film. The edges are built of bricks (0.47 m high) with side screen (mesh 3 cm) and with plastic curtains. One side of the poultry house is equipped with five exhaust fans and other the side with evaporative cooling plates system. Each box was equipped with 4 nozzles type nipple, a tray-type feeder, for the pre-initial phase, and a tubular semi-automatic (metal with plastic tray, 20kg capacity) for the other phases. In the conventional house, it was used twelve experimental pens with 2.25 m². The poultry house has 270m² with clay tiles and it is equipped with fans and nebulizers. Each pen contains a bell drinker, a tray-type feeder for pre-initial phase and a tubular semi-automatic feeder for the other phases. The heating in both poultry houses during the initial phase was accomplished with a 100 watts lamp per pen.

In both aviaries, the lighting program was used constantly, with 24 hours lighting up to 28 days of age and after, it was used only natural light. The experiment was conducted in the summer season. The room temperature was recorded in three different hours of the day in each aviary (Graphic 1 and 2).

Treatments

The broilers were distributed in a completely randomized design with a 2x2 factorial arrangement (two water pHs [6.2 and 8.2] and two housing systems), with 7 replicates in the acclimatized poultry house (50 broilers per pen) and 6 in the conventional poultry house (25

broiler per pen) for each pH. Pelleted diets based on corn and soybean meal were used (Table 1) and the nutritional requirements (Rostagno, 2011) were determined according to the recommendations of the Cobb-500®.

Experimental responses measured

The experimental period was divided into four phases: pre-initial (d1-7), initial (d8-21), growth (d22-35) and final (d36-42). Body weight (BW), body weight gain (BWG), feed intake (FI), feed conversion rate (FCR) and European Productive Efficiency Index (EPEI) were measured at the end of each phase. The variables of productive performance such as feed intake, body weight, body weight gain and feed conversion rate were evaluated weekly and the productive efficiency index at the end of the experiment.

At 41 days of age, blood was collected from 3 broilers per replicate via ulnar cutaneous vein. The collection was performed with withdrawing syringe around 2 -3 ml of blood per bird, which was stored in Eppendorf tubes containing anticoagulant. The samples were centrifuged for plasma separation, it was removed with micropipette and stored in Eppendorf tubes, after that the concentration of total protein, glucose, albumin and cholesterol were quantified, through colorimetric photo techniques, using reagent kits (Labtest Diagnóstica, Brazil).

At 42 days of age, 3 birds per replicate were slaughtered to evaluate: pH of gizzard, duodenum and ileum contents of each repetition. The samples homogenized and a pool was performed per repetition of each content. To measure pH it was used indicator strips with 0 to 14 scale (model K36-014, Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil).

To raise the normal pH of the water to 8.2, a concentrated solution of sodium bicarbonate (NaHCO_3) was added in the storage containers of water in a ratio of 1kg of NaHCO_3 to 500 liters of water. The pH of the water was measured twice a day in both

aviaries and in each pHs (6.2 and 8.2) using a digital pH meter (model K39-1014B, Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil). The bicarbonate used had a concentration of 27.43% sodium in its composition, and this value was used to adjust the Na concentrations in the diets of birds that received NaHCO_3 via drinking water.

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized in a factorial arrangement with two water pH (6.2 and 8.2) and two housing systems (conventional and acclimatized poultry house), totaling four treatments with six replicates in the conventional poultry house and seven replicate in the acclimatized poultry house. All data were subject to ANOVA. When significant differences were observed at 5% of the variance average Tukey test was applied for in order to compare the treatments. Statistical procedures were performed using SAS software (SAS, 2011).

RESULTS E DISCUSSION

For the variable body weight, there was interaction between pH and housing systems in all evaluated weeks. In the initial phase (d7-21), the birds that consumed water with pH 6.2 housed in conventional poultry house had the highest body weight. According to Philipsen (2006) the acidification of drinking water besides reducing the level of pathogens in the water, the crop and the proventriculus, thus regulating the intestinal microflora, provides the increase of the feed digestion and consequent improvement in the performance of the bird.

In the final phase (d35-42), the broilers that consumed water with pH 8.2 also housed in a conventional house, obtained a higher body weight compared to the other treatments ($P < 0.05$). The supplementation of NaHCO_3 in birds created in thermoneutrality, when the respiratory rate remains normal, does not bring any benefit (Balvane, 1993), which

corroborates with the data found in this study, where broilers housed in an acclimatized poultry house consuming water with pH 8.2 did not present better performance than broiler housed in conventional poultry house.

The feed intake of birds was also affected by pH 8.2 in conventional poultry house. During the phases d8-21, d22-35, d36-42 and d1-42, birds consuming water with alkaline pH had a higher feed intake compared to the other treatments ($P < 0.05$), except in the d1-7 where it was not observed an interaction of pH*housing system. However, there was an individual effect of pH 6.2, which allowed a higher feed intake, what can be explained due to the initial adaptation of the birds consuming NaHCO_3 via water.

There was also individual effect of aviary, where broilers housed in conventional poultry house presented a higher consumption compared to the acclimatized poultry house. According to Furlan et al. (2002), these positive responses with the use of sodium bicarbonate may be associated with increased water consumption, reducing the harmful effects of heat. Moreover, diets containing NaHCO_3 result in higher water consumption, consequently higher feed intake compared to diets containing Na_2CO_3 (sodium carbonate) and Na_2SO_4 (sodium sulfate) (Ahmad et al., 2006).

As for the variable body weight and feed intake, the alkaline pH in conventional poultry house allowed a greater weight gain in the: d8-21, d22-35 and d1-42, except for the first week where it presented a worse performance compared to the birds consuming basic pH water ($P < 0.05$).

Comparing the weight gain of birds housed in conventional poultry house consuming water with pH 8.2 to the other treatments, there is an increase of at least 159g / bird, which indicates an advantageous alternative of NaHCO_3 use in conventional house. These results corroborate whit Fisher et al. (1990), who added a 0.5% NaHCO_3 in the broilers feed from 1

to 42 days and observed a 45 g increase in weight gain and a 14% improvement in feed conversion (Fischer et al., 1994).

Interestingly, in a study performed by Mushtaq et al. (2007), the supplementation with different electrolytes (Na, Cl or Na × Cl) did not affect the development of broiler in the d28 to d42 reared in subtropical summer conditions.

The feed conversion rate (FCR) was better in birds housed in acclimatized poultry house in the phases d1-7, d36-42 and d1-42 compared to the conventional house ($P < 0.05$). In the d8-21 the alkaline pH provided a better FCR. There were interaction pH*housing systems in the d22-35 where the pH 6.2*acclimatized aviary presented a better FCR.

There was not an interaction between pH and the aviary for the variable EPEI. However, there was an individual effect of the pH and housing systems, where pH 8.2 and acclimatized poultry house provided higher EPEI values ($P < 0.05$). In a study by Branton and Leenstra (1986), it was observed that mortality in broiler chickens was significantly reduced by the supplementation of 0.63% NaHCO_3 in drinking water. Ahmad et al. (2006) emphasize that the use of salts such as sodium bicarbonate (NaHCO_3), results in improved performance and reduced mortality compared to sodium chloride salts in broilers exposed to high temperatures.

The serum albumin concentration was influenced by the alkaline pH, which presented an increase of 0.67 g / dl compared to the basic pH. In a study by Abbas et al. (2017) with laying hens during the summer period, it was observed a significant increase ($P < 0.05$) in serum values of total protein and albumin of the experimental birds. Hens fed with diets containing 1% NaHCO_3 had a higher concentration of these proteins compared to those of other groups ($P < 0.05$).

Hematological parameters are particularly sensitive to temperature changes, being an important indicator of physiological responses in broilers submitted to stressing agents

(Majekodunmi et al., 2013). Glucose was significantly higher at pH 6.2, the inclusion of NaHCO_3 via water resulted in a reduction of 20.11 mg / dl at the serum glucose level. The results of this study in relation to serum glucose concentration are in agreement with the findings of other authors (Abbas et al., 2017; Al-Hassani et al., 2001; Ahmad et al., 2005) who observed a significant decrease in the level of blood glucose in birds fed with a diet containing sodium bicarbonate than in those exposed to heat stress (controls). However, it was observed higher blood sugar levels at 23 and 28 ° C (223.6 and 221.7mg / 100ml) in broilers exposed to 12, 18, 23, 28 and 32 ° C of temperature (Yang et al., 1992). In contrast, Revidatti et al. (2002) was not observe significant differences in the glucose level of broilers submitted to stress.

In this study, broilers housed in acclimatized poultry house showed higher levels of serum glucose compared to conventional poultry house ($P = 0.0006$), which may be related to the greater effect of NaHCO_3 in broilers housed in a conventional poultry house. In thermoneutral broilers, when the respiratory rate remains normal, the inclusion of sodium bicarbonate has no beneficial effect.

Broiler chickens housed in a conventional house are exposed to a higher ambient temperature and a variation of this temperature, which may increase the serum glucose levels. These results disagree with González and Silva (2003) who found that the concentration of glucose increases with stress. The increase in glucose concentration is a response to the increased secretion of adrenaline, noradrenaline and glucocorticoids that in this study, fusing NaHCO_3 in broilers housed in conventional house, revealed a decrease in circulating glucose levels (Borges et al., 2003).

There was a significant decrease in the serum protein of birds housed in conventional poultry house ($P = 0.0437$), agreeing with Anjum (2000), who verified that the high ambient temperature decreased the serum protein content in birds.

There was no significant difference ($P > 0.05$) for the cholesterol variable. However, the inclusion of NaHCO_3 via water provided a reduction of 5.29 mg / dl compared to drinking water at pH 6.2. It can be seen that the use of sodium bicarbonate to raise the pH of drinking water from 6.2 to 8.2 decreased the serum cholesterol level of boilers housed in conventional house, decreasing from 100.67 mg / dl to 91 mg / dl cholesterol levels. As well as, broiler fed diets containing 1% NaHCO_3 had a significantly lower serum cholesterol concentration (141.63mg / dl) compared to the control group (161.25mg / dl) (Abbas et al, 2017). A probable explanation for the decrease in the concentration of this parameter may be that the use of bicarbonate has stimulated the synthesis of bile acids from cholesterol, leading to a decrease in serum cholesterol concentration in these birds (Naviglio et al., 2011).

There were no significant differences ($P > 0.05$) for pH of duodenum, ileum and gizzard content in the different treatments.

The sodium bicarbonate can help maintain proper pH balance, as well as facilitates metabolic process, ensuring maximum growth and productivity (Ahmad et al., 2005; Naseem et al., 2005). Moreover, its use as a dietary supplement may help increase the concentration of blood bicarbonate ions, which may favor better performance of birds (Naseem et al., 2005). The results of the present study corroborate with the authors quoted above where the pH 8.2 provided better body weight, body weight gain and lower serum glucose levels, indicating low levels of stress.

CONCLUSIONS AND APPLICATIONS

1. The pH 8.2 in broiler drinking water through inclusion of NaHCO_3 improves the performance and serum glucose levels of birds housed in conventional aviaries by maintaining electrolyte balance and increased water intake.

2. Thus, it is an alternative to reduce the impacts caused by thermal stress, especially in Brazil where high temperatures prevail.

REFERENCES AND NOTES

- Abbas, G., S. Mahmood, A. Haq, and H. Nawaz. 2017. Effect of dietary inclusion of sodium bicarbonate on blood profile of caged layers during summer. *Pak. J. Agri. Sci.* 4: 443-450.
- Ahmad, R. 1997. Growth performance and electrolyte balance of broiler as affected by two sources of sodium. Thesis, Department of Poultry Science, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.
- Ahmad, T., M. Sarwar, M. Nisa, A. Haq, and Z. Hasan. 2005. Influence of varying sources of dietary electrolytes on the performance of broilers reared in a high temperature environment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120:277-298.
- Ahmad, T., T. Mushtaq, Mahr-Un-Nisa, M. Sarwar, D. M. Hooge, and M. A. Mirza. 2006. Effect of different non-chloride sodium sources on the performance of heat-stressed broiler chickens. *Brit. Poult.Sci.* 47:249-256.
- Al-Hassani, D. H., H. J. Al-Daraji, and I. A. Abdul-Hassan, 2001. Effect of dietary sodium bicarbonate on some physiological parameters in Hisex Brown layers reared under high environmental temperature. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia.* 13:32A
- Anjum, M. S. 2000. Productive performance and physiological behavior of White Leghorn caged layers under different heat combating practices during summer. (PhD, Thesis) - Department of Poultry Science. University of Agriculture, Faisalabad.

- Balvane, D., and I. Gorman. 1993. A role of sodium bicarbonate supplements for growing broilers at high temperatures. *World's Poultry Science Journal* 49:236-41.
- Borges, S. A., D. A. Fisher, A. V. Silva, J. Ariki, D. M. Hooge, and K. R. Cummings. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens under moderately high ambient temperature and relative humidities. *Poult. Sci.* 82:301-308.
- Branton, S.L., and F. Leenstra. 1986. Use of ammonium chloride and sodium bicarbonate in acute heat exposure of broilers. *Poult. Sci.* 65:1659-63.
- Dai, N.V., Bessei, W. and N.H. Quang. 2009. The effects of sodium chloride and potassium chloride supplementation in drinking water on performance of broilers under tropical summer conditions. *Archive für Geflügelkunde* 73:41-48.
- El-Kholy, M. S., M. M. El-Hindawy, M. Alagawany, M. E. Abd El-Hack, and S.A.A. El-Sayed. 2017. Dietary supplementation of chromium can alleviate negative impacts of heat stress on performance, carcass yield, and some blood hematology and chemistry indices of growing Japanese quail. *Biol. Trace Elem. Res.* 179:148-157.
- Fischer S. A. V., J. S. Flemming, and S. G. Franco. 1994. Utilização de diferentes sais na prevenção do estresse calórico de frangos de corte criados em clima quente. *Rev. Setor de Ciências Agrárias*, 13:287-292.
- Furlan, R. L., M. Macari, and E. Gonzáles. 2002. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Pages 75-95 in 1^a ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, São Paulo.
- González, F. H. D., and S. C. Silva. 2003. Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária. Page 220 in Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Krabbe, E., and A. Romani. 2013. Importância da qualidade e do manejo da água na produção de frangos de corte. XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura e V Brasil Sul Poultry Fair - Chapecó, SC. (Abstr.)

- Macari, M., and N. M. Soares. 2012. Água na avicultura industrial. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. (Abstr.)
- Majekodunmi, B. C., O. A. Sokunbi, O. A., Ogunwole, and O. A. Adebisi. 2013. Influence of electrolytes and ascorbic acid supplementation on serum and erythrocytic indices of broiler chickens reared in a hot environment. *Afr. J. Agri. Res.* 8:701-706.
- Mushtaq, T., M. Sarwar, H. Nawaz, M. A. Mirza, and T. Ahmad. 2005. Effect and interactions of dietary sodium and chloride on broiler starter performance (hatching to twenty-eight days of age) under subtropical summer conditions. *Poult. Sci.* 84:1716-1722.
- Mushtaq, T., M. A. Mirza, M. Athar, D. M. Hooge, T. Ahmad, G. Ahmad, M. M. H. Mushtaq, and U. Noreen. 2007. Dietary sodium and chloride for twenty-nine to forty-two-day-old broiler chickens at constant electrolyte balance under subtropical summer conditions. *J. Appl. Poult. Res.* 16:161-170.
- Naviglio, D., M. Gallo, L. L. Grottaglie, C. Scala, L. Ferrara, and A. Santini. 2011. Determination of cholesterol in Italian chicken eggs. *J. Food Chem.* 11:3-7.
- Naseem, M.T., S. Naseem, M. Younus, Z.I. Chauhdary, A. Ghafoor, A. Aslam, and S. Akhter. 2005. Effect of potassium chloride and sodium bicarbonate supplementation on thermotolerance of broilersexposed to heat stress. *Int. J. Poult. Sci.* 4:891-895.
- Oliveira, R. F. M., J. L. Donzele, M. L. T. Abreu, R. A. Ferreira, L. R. G. M. V. Vaz, and P. S. Cella. 2006. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. *Rev. Bras. Zootec.* 35:797-803.
- Philipsen, I. P. L. J. 2006. Acidifying drinking water supports performance. *World Poultry Science.* 22:20-21.

- Revidatti, F.A., R.J. Fernandez, and J.C. Terraes. 2002. Modificaciones del peso corporal y indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo. *Revista Veterinaria Argentina*. 12:1.
- Rostagno, H. S. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Page 125 in 3 ed. Viçosa, Minas Gerais.
- SAS Institute. 2011. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.4 Review Edition. SAS Institute, Cary, NC.
- Toyomizu, M., M. Tokuda, M. Ahmad, and Y. Akiba. 2005. Progressive alteration to core temperature, respiration and blood acid-base balance in broiler chickens exposed to acute heat stress. *Japanese Poultry Sci.* 42:110-118.
- Yang, Q. M., Q. W. Mu, Z.H. Yu, and H. Lin. 1992. A study of influence of environmental temperature on some biochemical indices in serum of broilers. *J. Shandong Agri. Univ.* 23:363-367.
- Vieites, F. M., A. L. Fraga, C. S. Souza, G. M. Araújo, J. J. G. Vargas, R. V. Nunes, and G. S. S. Corrêa. 2011. Desempenho de frangos de corte alimentados com altos valores de balanço eletrolítico em região de clima quente. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 63:441-447.

Table 1. Ingredient and nutrient composition of the study diets to broilers in the different phases

Ingredients. %	Pre initial (1-7 days)		Initial (8-21 days)		Growth (22-35 days)		Finisher (35-42 days)	
	Basal	Adj* Na	Basal	Adj* Na	Basal	Adj* Na	Basal	Adj* Na
Corn 7.9% CP	53.18	53.86	61.10	61.81	65.06	65.72	68.73	69.42
Soybeanmeal 48% CP	39.04	38.94	32.20	32.10	28.80	28.71	25.50	25.36
Soybeanoil	3.10	2.86	2.40	2.15	2.30	2.08	2.30	2.10
Dicalcium phosphate (23% Ca/ 18% P)	2.08	2.08	1.73	1.73	1.47	1.47	1.21	1.21
Limestone (37% Ca)	1.01	1.01	0.99	0.99	0.96	0.96	0.99	0.99
Salt	0.50	0.16	0.48	0.13	0.46	0.10	0.43	0.08
DL-Met. 99%	0.35	0.35	0.30	0.30	0.25	0.25	0.23	0.23
L-Lysine Sulphate (54.6%)	0.40	0.40	0.52	0.52	0.48	0.48	0.43	0.43
L-Threonine (98%)	0.11	0.11	0.08	0.08	0.06	0.06	0.05	0.05
Vitamin premix ²	0.15	0.15	0.15	0.15	0.12	0.12	0.08	0.08
Mineral premix ³	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Avilamycin(Surmax)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Choline chloride, 60 %	0.03	0.03	0.01	0.01				
Calculated nutrient %								
Metabolizable Energy(Kcal/Kg)	2950	2950	3000	3000	3050	3050	3100	3100
Crude Protein	23.34	23.34	20.75	20.75	19.38	19.38	18.03	18.03
Total Calcium	0.92	0.92	0.86	0.86	0.75	0.75	0.70	0.70
Disponible phosphorus	0.47	0.47	0.40	0.40	0.35	0.35	0.30	0.30
Sodium	0.22	0.08	0.21	0.08	0.20	0.06	0.19	0.05
Potassium	1.04	1.04	0.91	0.91	0.84	0.84	0.77	0.77
Dig Met	0.64	0.64	0.56	0.56	0.50	0.50	0.47	0.47
Dig Lys	1.30	1.30	1.20	1.20	1.10	1.10	1.00	1.00

Dig Met + Cys	0.94	0.94	0.83	0.83	0.76	0.76	0.71	0.71
Dig Thr	0.85	0.85	0.74	0.74	0.68	0.68	0.63	0.63

¹Adjust*Na = corrected for sodium.

²Composition per kilogram of diet: vitamin A, 9,000 IU; vitamin D3, 2,500 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K3, 2.5mg; thiamine, 1.5mg; niacin, 6mg; pyridoxine, 3mg; cyanocobalamin, 0.012mg; pantothenic acid, 12mg; niacin, 2mg; folic acid, 0.8mg; biotin, 0.06mg; selenium, 0.2mg.

³Composition per kilogram of feed: copper, 20mg; iron, 100mg; manganese, 160mg; cobalt, 2mg; iodine, 2mg; zinc, 10 mg.

Table 2. Body weight (g)¹ and feed intake (g)¹ in the different phases of creation

Factor	Body weight (g)				Feed intake (g)				
	7 day	21 day	35 day	42 day	1-7days	8-21days	22-35days	36-42days	1-42days
pH									
6.2	220.48	1049.30	2347.20	3034.00	175.58	1143.70	2141.20	1234.20	2990.90
8.2	206.37	1117.80	2473.60	3175.00	161.12	1224.80	2260.30	1287.80	3132.10
Housing systems									
Conventional	214.84	1116.80	2484.75	3129.10	171.75	1221.37	2276.10	1319.55	3085.46
Acclimatized	212.01	1050.40	2336.01	3079.90	164.96	1147.19	2125.46	1202.47	3037.55
Interaction									
6.2 x Conventional	225.25 a	1101.99 b	2381.60 b	3002.90 b	180.68	1196.10 b	2166.80 b	1257.8 b	2959.10 b
6.2 x Acclimatized	215.72 b	996.66 b	2312.80 b	3065.00 b	170.48	1091.40 c	2115.70 b	1210.7 b	3022.70 b
8.2 x Conventional	204.43 c	1131.55 a	2587.90 a	3255.30 a	162.82	1246.60 a	2385.30 a	1381.3 a	3211.80 a
8.2 x Acclimatized	208.30bc	1104.06 b	2359.30 b	3094.70 b	159.43	1203.00 b	2135.20 b	1194.2 b	3052.40 b
Source of variation					<i>P</i> Value				
pH	<0.0001	<0.0001	0.0002	0.0016	<0.0001	<0.0001	0.0038	0.0131	0.0016
Housing systems	0.2245	<0.0001	<0.0001	0.2215	0.0115	<0.0001	0.0005	<0.0001	0.2337
Interaction	0.0072	<0.0001	0.0107	0.0094	0.1809	0.0089	0.0128	0.0019	0.0093
<i>Average</i>	213.42	1083.57	2410.39	3104.50	168.35	1184.26	2200.76	1261.00	3061.50
<i>SEM</i>	5.75	20.61	72.79	99.49	6.26	27.08	93.37	50.39	99.46
<i>CV (%)</i>	2.69	1.91	3.03	3.21	3.73	2.29	4.25	4.01	3.25

^{a-c}Means with different letters differ ($P < 0.05$) based on Tukey's significant test.

¹ Means are from 13 replications per treatment.

Table 3. Body weight gain (g)¹, feed conversion rate (kg)¹ and European Productive Efficiency Index (EPEI)¹in the different phases of creation

Factor	Body weight gain (g)					Feed conversion rate (g/g)					EPEI
	1-7 days	8-21 days	22-35 days	36-42 days	1-42 days	1-7 days	8-21 days	22-35 days	36-42 days	1-42days	
pH											
6.2	177.39	828.84	1297.90	686.79	2990.90	0.9899	1.3812	1.6521	1.8263	1.5708	424.60
8.2	163.45	911.43	1355.80	701.48	3132.10	0.9864	1.3440	1.6999	1.8487	1.5744	446.60
Housing systems											
Conventional	171.16	901.93	1367.98	644.39	3085.46	1.0042	1.3546	1.6665	2.0568	1.6176	420.46
Acclimatized	169.67	838.35	1285.65	743.88	3037.55	0.9721	1.3707	1.6556	1.6182	1.5277	450.74
Interaction											
6.2 x Conventional	181.41 a	876.74 b	1279.70 b	621.29	2959.10 b	0.9961	1.3644	1.6947 a	2.0410	1.6236	402.42
6.2 x Acclimatized	173.37 ab	780.95 c	1316.10 b	752.28	3022.70 b	0.9837	1.3979	1.6095 b	1.6116	1.5180	446.77
8.2 x Conventional	160.92 c	927.12 a	1456.30 a	667.49	3211.80 a	1.0124	1.3447	1.6381 ab	2.0725	1.6115	438.50
8.2 x Acclimatized	165.97 bc	895.75 ab	1255.20 b	735.47	3052.40 b	0.9605	1.3434	1.7017 a	1.6248	1.5374	454.71
Sourceofvariation						<i>P</i> value					
pH	<0.0001	<0.0001	0.0291	0.4176	0.0016	0.7599	0.0044	0.3896	0.6145	0.7514	0.0272
Housing systems	0.5167	<0.0001	0.0031	<0.0001	0.2337	0.0093	0.1830	0.5978	<0.0001	<0.0001	0.0036
Interaction	0.0085	0.0007	<0.0001	0.0904	0.0093	0.0930	0.1518	0.0013	0.8369	0.1783	0.1443
Average	170.41	870.13	1326.83	694.13	3061.50	0.9881	1.3626	1.6685	1.8375	1.5726	435.60
SEM	5.77	20.66	63.02	45.22	99.46	0.03	0.03	0.05	0.11	0.03	23.64
CV (%)	3.38	2.38	4.76	6.47	3.25	2.9	2.18	3.1	6.11	1.83	5.41

^{a-c}Means with different letters differ ($P < 0.05$) based on Tukey's significant test.

¹ Means are from 13 replications per treatment.

Table 4. Serum biochemical parameters¹ of broilers submitted to different treatments

Factor	Albumin (g/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Protein (g/dl)
pH				
6.2	3.34	94.62	221.25	2.52
8.2	4.01	89.33	201.14	2.61
Housing systems				
Conventional	3.93	88.12	200.30	2.46
Acclimatized	3.41	95.83	222.09	2.67
Interaction				
6.2 x Conventional	3.44 ab	100.67	209.00	2.37
6.2 x Acclimatized	3.23 b	88.58	233.50	2.67
8.2 x Conventional	4.41 a	91.00	191.60	2.67
8.2 x Acclimatized	3.60ab	87.67	210.68	2.55
Source of variation		<i>P</i> value		
pH	0.0158	0.4026	0.0015	0.3762
Housing systems	0.0601	0.2260	0.0006	0.0437
Interaction	0.2688	0.4881	0.6556	0.3606
Average	3.6	91.28	211.5	2.58
SEM	0.9	16.92	23.94	0.42
CV (%)	25.02	18.53	11.32	16.34

^{a-b}Means with different superscript letters differ ($P < 0.05$) based on Tukey's significant test.

¹ Means are from 13 replications per treatment.

Table 5. pH content of duodenum¹, ileum¹ and gizzard¹ of broiler chickens submitted to different treatments

Factor	Duodenum	Ileum	Gizzard
pH			
6.2	5.92	7.92	3.38
8.2	6.15	7.92	3.69
Housing systems			
Conventional	6.08	7.93	3.71
Acclimatized	6.00	7.91	3.33
Interaction			
6.2 x Conventional	6.00	7.83	3.16
6.2 x Acclimatized	5.85	8.00	3.57
8.2 x Conventional	6.16	8.00	3.50
8.2 x Acclimatized	6.14	7.86	3.86
Source of variation		<i>P</i> value	
pH	0.2192	0.9141	0.1742
Housing systems	0.6459	0.9141	0.0979
Interaction	0.7424	0.1699	0.9149
<i>Average</i>	6.03	7.92	3.53
<i>SEM</i>	0.4546	0.2772	0.5602
<i>CV (%)</i>	7.52	3.49	15.83

($P > 0.05$) no significant.

¹ Means are from 13 replications per treatment.

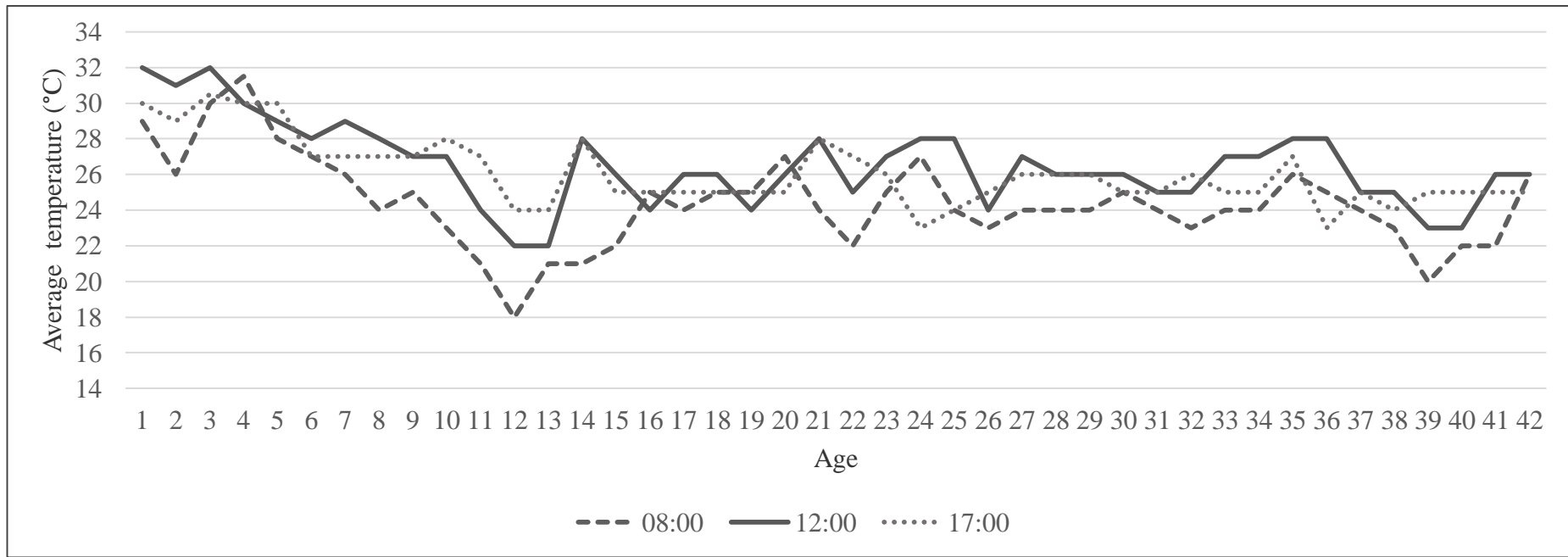


Figure 1. Temperature control at different times in Acclimatized Poultry House.

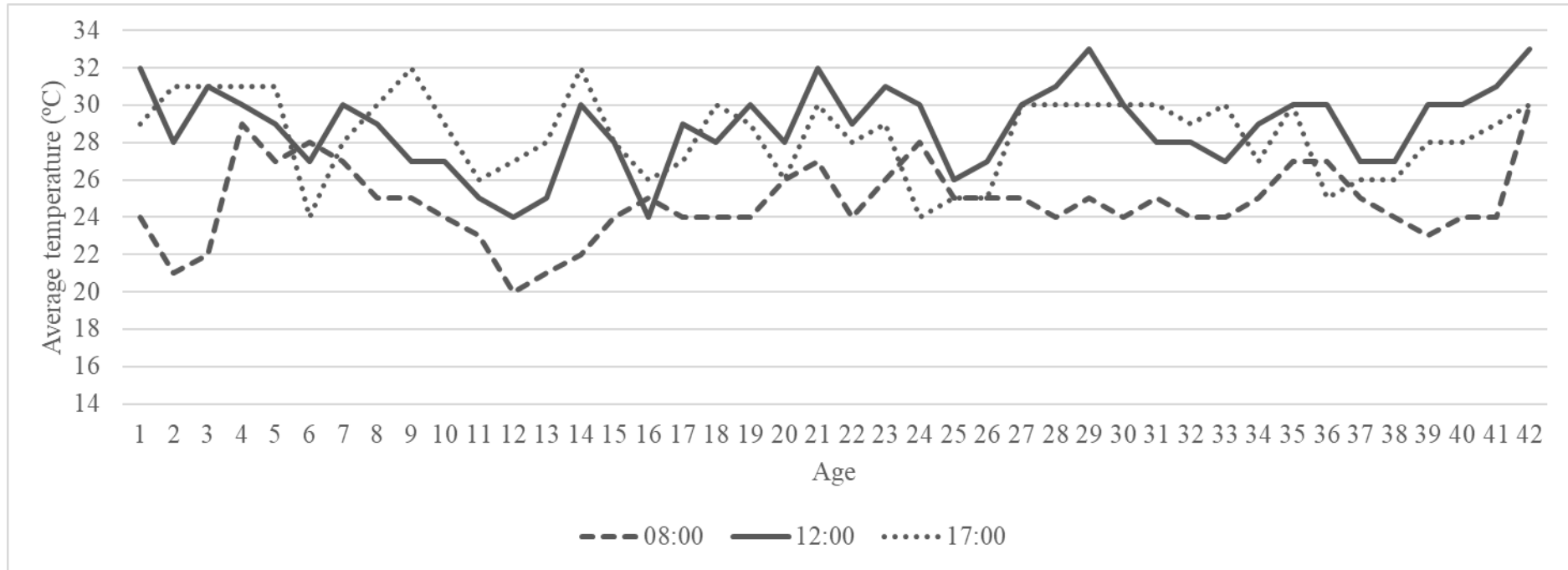


Figure 2. Temperature control at the different times in conventional poultry house.

6 DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no presente trabalho sugerem que a suplementação de fitase em diferentes níveis 1000 FTY/Kg e 2500 FTY/Kg melhora o desempenho de frangos de corte como ganho de peso, conversão alimentar, digestibilidade ileal, parâmetros de qualidade óssea e mio-inositol circulante em plasma, dados que foram discutidos no Capítulo I desse estudo. Nas fases 22-35d, 36-42d e 1-42d houve interação aviário*pH onde, aves consumindo água com pH 8,2 alojadas em aviário convencional apresentaram maior consumo de ração. De 1-42d houve interação dieta*pH onde a dieta CP e água com pH 8.2 proporcionaram maior consumo de ração.

Para a variável ganho de peso (GP) de 1-7d houve interação pH*dieta onde as dietas CP, CN + 1000 FTY/Kg e CN + 2500 FTY/kg apresentaram melhor GP, também foi apresentada a interação pH*aviário onde aves alojadas em aviário convencional consumindo água com pH 6,2 tiveram maior GP. Na fase de 8-21d houve interação dieta*pH*aviário onde a inclusão de 2500 FTY/kg de fitase em aviário convencional e pH 6.2 apresentaram maior GP. Nas demais fases 22-35d e 1-42d foram apresentadas interações entre aviário*pH, sendo que o maior GP em aves alojadas em aviário convencional consumindo água com pH 8,2, e de 36-42d o maior GP foi para as aves alojadas em aviário climatizado em ambos pH de água.

Para CA na fase inicial 1-7d a inclusão de 1000FTY/Kg e 2500FTY/Kg com pH de água 6,2 proporcionou uma melhor CA. De 8-21d foi apresentada interação entre dieta*pH, sendo a dieta PC + pH 6.2 a pior CA. Já na fase 22-35d a dieta PC + pH 6.2 proporcionou melhor CA. De 36-42d a dieta NC com 2500FTY/Kg apresentou melhor CA. De 1-42d o pH 8.2 em aviário convencional proporcionou melhor CA em comparação as aves que consumiram água com pH 6.2. Nas demais fases 22-35d, 36-42d e 1-42d o pH 6.2 em aviário convencional apresentou pior CA.

Vários estudos já comprovaram a eficiência da utilização de fitase na melhora do desempenho de frangos de corte, em estudo de Walk et al. (2013, 2014), dietas contendo níveis reduzidos de Ca e P disponível, proporcionaram melhorias na eficiência alimentar associado a destruição do fitato e remoção dos seus efeitos antinutritivos, promovendo assim uma digestão mais eficiente.

Para digestibilidade ileal de N houve interação dieta*pH, onde a inclusão de 1000 FTY/Kg em pH 6.2 apresentou melhor digestibilidade. Também houve interação dieta*aviário onde o nível de 2500FTY/Kg em aviário climatizado proporcionaram melhor coeficiente de digestibilidade. Para digestibilidade de energia bruta foram apresentadas interações entre

dieta*pH, onde a dieta PC em pH 8,2, dieta NC em pH 6.2 e dieta NC com 2500FTY/Kg apresentam pior digestibilidade. Também foi apresentada interação entre dieta*aviário onde a dieta NC em aviário climatizado e NC com 2500FTY/Kg apresentaram pior digestibilidade. Na interação pH*aviário o pH 8.2 em aviário convencional proporcionou melhor digestibilidade de energia bruta.

As diferentes inclusões de fitase proporcionaram uma melhor digestibilidade ileal de P apresentando uma resposta linear em ambos pH. Foi apresentada interação dieta*aviário onde a inclusão de 2500FTY/Kg em aviário climatizado e convencional apresentou melhor digestibilidade seguido da inclusão de 1000FTY/Kg em aviário climatizado. Para Ca houve interação da dieta CN + 2500FTY/Kg em pH 8.2 em aves alojadas em aviário convencional apresentando melhor digestibilidade. Muitos estudos reportaram o efeito positivo da suplementação enzimática da fitase na digestibilidade de nutrientes (COWIESON; RAVINDRAN, 2007; KARIMI et al., 2013; WOYENGO et al., 2010). Cowieson et al. (2014), trabalhando com doses logarítmicas de fitase de 1000 FYT/kg a 3000 FYT/kg na ração, verificaram uma melhora no ganho de peso, conversão alimentar, na digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos e da energia metabolizável e no teor de cinzas na tibia.

Para mio-inositol circulante houve interação dieta*pH, onde a inclusão dos diferentes níveis de fitase aumentaram a concentração de mio-inositol em plasma de aves bebendo água com pH 6.2, também foi observado uma maior concentração de mio-inositol em aves alojadas em galpão convencional em ambos pH em comparação as aves do galpão climatizado. Segundo Lee e Bedford (2016), é possível que grande parte do benefício da superdosagem de fitase seja produzida através da produção de mio-inositol, que é posteriormente absorvido e utilizado em várias funções biológicas no animal.

A suplementação de fitase melhorou a qualidade óssea dos frangos, onde a inclusão de 2500FYT/Kg aumentou a porcentagem de cinzas ósseas em ambos aviários. Para Ca houve interação dieta*pH onde a dieta NC e pH 6.2 e NC com 1000FYT/Kg apresentaram piores porcentagens de Ca. Para fósforo foi apresentada um aumento linear com as inclusões de fitase em comparação ao CN. Walk et al. (2012) mostraram que a suplementação de fitase até 2500 FTU/ kg de ração aumentou linearmente a porcentagem de cinzas nas túbias. Shaw et al. (2011) observaram melhorias na porcentagem de cinzas ósseas, quando se utilizaram níveis crescentes de fitase de 500, 1000 e 2000 FYT/kg em dietas de frangos de corte com 21 dias, houve um aumento de 35,3, 37,37 e 38,78%.

O pH de água 8,2 aumentou o pH de conteúdo de moela diferindo assim do pH de conteúdo de moela das aves que consumiram água com pH 6.2.

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a super-dose de fitase em diferentes pH de água de bebida em aves alojadas em diferentes sistemas de climatização, entretanto, ao utilizar bicarbonato de sódio para elevar o pH de água de 6,2 para 8,2 foi possível visualizar respostas interessantes quanto ao uso desse sal, então foi elaborado o capítulo II no qual obtivemos resultados positivos para aves alojadas em ambiente convencional consumindo água com NaHCO_3 , resultados que discutidos no próximo parágrafo.

Observa-se no capítulo II que o pH de água 6,2 em aves alojadas em galpão convencional proporcionou um melhor GMD na fase inicial 1-21d, e na fase final 35-42d o pH 8.2 apresentou melhor GMD, isso pode ser explicado devido ao maior consumo de água com NaHCO_3 na fase final o que ajudou as aves a manterem o consumo de alimento mesmo submetidas a uma maior temperatura ambiente, proporcionando assim um melhor ganho de peso em comparação as aves do aviário climatizado. Devido ao alto consumo de alimento a CA das aves alojadas em galpão convencional foi maior comparada a CA das aves alojadas em galpão climatizado consumindo pH de água a 6.2.

Frangos de corte alojados no galpão climatizado consumindo água com pH 8,2 apresentaram menor GMD do que os frangos alojados em aviário convencional consumindo água com NaHCO_3 , de acordo com Balvane e Gorman (1993) a suplementação de NaHCO_3 em aves criadas em termoneutralidade, quando a frequência respiratória permanece normal, não traz nenhum benefício, o que corrobora os dados encontrados neste estudo. Os parâmetros hematológicos são particularmente sensíveis às mudanças de temperatura, sendo um importante indicador de respostas fisiológicas em frangos de corte submetidos a agentes estressores (MAJEKODUNMI et al., 2013). A glicose circulante foi significativamente maior em aves consumindo água com pH 6,2, entretanto, com a inclusão de NaHCO_3 via água houve em uma redução de 20,11 mg/dl no nível sérico de glicose. Aves alojadas em aviário convencional também apresentaram redução nos níveis de glicose em comparação as aves do aviário climatizado.

No Brasil onde há uma grande variação climática e onde a criação de aves em aviários mais tecnificados não é comum, a utilização de um pH mais alcalino através de sua correção com NaHCO_3 seria uma alternativa para evitar quedas de desempenho.

7 CONCLUSÕES

Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que o pH da água 6,2 influencia positivamente a eficiência da fitase na fase inicial dos frangos de corte em comparação ao pH 8,2. O pH alcalino (8,2) em frangos alojados em aviário convencional permitiu a melhoria no ganho de peso, CA na fase final, além de aumentar o pH do conteúdo de moela.

A superdose de fitase em diferentes inclusões 1000 FYT/Kg e 2500 FYT/Kg em dietas com redução de cálcio e fósforo melhora a digestibilidade ileal aparente de P, Ca, N.

A concentração de mio inositol no plasma foi maior em aves alojadas em aviários convencionais e em aves suplementadas com fitase. A superdosagem de fitase (2500 FYT/kg) melhorou a porcentagem de cinza, P e Ca em tíbias de frangos de corte.

O pH 8,2 na água de bebida por meio da inclusão de NaHCO_3 para frangos de corte alojados em galpão convencional proporciona um melhor ganho de peso, mantém o consumo de alimento das aves e diminui os níveis séricos de glicose.

Podemos concluir que através da suplementação de uma 6-fitase em superdose mesmo em uma dieta com redução de Ca e P é possível obter resultados positivos na eficiência produtiva de frangos de corte, reduzindo custos de produção quando consideramos reajustar a matriz nutricional da dieta, diminuindo assim a inclusão de fósforo e demais nutrientes que a enzima disponibiliza.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, P. G. de; ABREU, V. M. N. **Ventilação na avicultura de corte**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. 50p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 63).
- AHMAD, T. et al. Effect of different non-chloride sodium sources on the performance of heatstressed broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 47, p. 249-256, 2006.
- AMARAL, L. A. **Qualidade higiênico-sanitária e teor de nitratos na água utilizadas em propriedades leiteiras situadas na região nordeste do estado de São Paulo**. 2001. 133f. Tese (Livre Docência) – Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.
- ASSUENA, V. et al. Effect of dietary phytase supplementation on the performance, bone densitometry, and phosphorus and nitrogen excretion of broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 11, n. 1, p. 25-30, 2009.
- AUGSPURGER, N. R. et al. Efficacy of an E. coli phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal Animal Science**, v. 81, p. 474-483, 2003.
- AUGSPURGER, N.; UGALDE, E. Comparative phytase utilization in pigs and broiler chickens. In: CONGRESSO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2009, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA. p. 117-128, 2009.
- BALVANE, D.; GORMAN. I. A role of sodium bicarbonate supplements for growing broilers at high temperatures. **World's Poultry Science Journal**, v. 49, p. 236-241, 1993.
- BARACHO, M. S. el al. Ambiente interno em galpões de frangos de corte com cama nova e reutilizada. **Revista Agrarian**, v. 6, p. 473-478, 2013.
- BEDFORD, M. R. Alternate uses of phytase – Superdosing. **Asian Poultry Magazine**, p. 8-11, 2012.
- BORGES, S. A.; ALEX MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, set./out. 2003.
- BREJNHOLT, S. M. et al. The degradation of phytate by microbial and wheat phytases is dependent on the phytate matrix and the phytase origin. **Journal Science Food Agriculture**, v. 91, p. 1398-1405, 2011.
- BROWN-BRANDL, T. M. et al. Physiological responses of tom turkeys to temperature and humidity change whit age. **Journal of Thermal Biology**, v. 22, p. 43-52, 1997.
- BUSO, W. H. D.; MORGADO, H. S.; MACHADO, A. S. Fitase na alimentação de frangos de corte. **PUBVET**, v. 5, n. 36, ed. 183, art. 1232, 2011.
- BYE, J. W. et al. Dual effects of sodium phytate on the structural stability and solubility of proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 290-295, 2013.

- CAMDEN, B. J. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, p. 289-297, 2001.
- CARDOSO JÚNIOR, A. et al. Levels of available phosphorus and calcium for broilers from 8 to 35 days of age fed rations containing phytase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1237-1245, 2010.
- CASEY, A.; WALSH, G. identification and characterization of a phytase of potential commercial interest. **Journal of Biotechnology**, v. 110, n. 3, p. 313-322, 2004.
- CATALÁ-GREGORI, P. et al. Response of broilers to feeding low-calcium and phosphorus diets plus phytase under different environmental conditions: body weight and tibiotarsus mineralization. **Poultry Science**, v. 85, p. 1923-1931, 2006.
- CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, presente and future. **Worlds' Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 62, n. 1, p. 5-15, 2006.
- CONTE, A. J. et al. Efeito da fitase na disponibilidade do fósforo do farelo de arroz em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 547-552, 2002.
- COWIESON, A. J. et al. Dietary phosphate equivalence of four forms of Pi contrasted with a novel microbial phytase from *Citrobacter braakii* in broiler chickens. **Animal Production Science**, v. 55, p. 1145-1151, 2015.
- COWIESON, A. J. et al. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.
- COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Using the precision-feeding bioassay to determine the efficacy of exogenous enzymes: A new perspective. **Animal Feed Science and Technology**, v. 129, n. 1-2, p. 149-158, 2006a.
- COWIESON, A. J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P.; FRU-NJI, F. Possible involvement of *myo*-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. **Animal Production Science**, in press. 2014.
- COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 745-752, 2007.
- COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H. Influence of dietary phytic acid and source of microbial phytase on ileal endogenous amino acids flows in broilers chickens. **Poultry Science**, v. 87, n. 11, p. 2287-2299, 2008.
- COWIESON, A. J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v. 67, p. 225-236, 2011.
- DAHLKE, F. et al. Empenamento, níveis hormonais de triiodotironina e tiroxina e temperatura corporal de frangos de corte de diferentes genótipos criados em diferentes condições de temperatura. **Ciência Rural**, v. 35, p. 664-670, 2005.

DILGER, R. N. et al. Evaluation of microbial phytase in broiler diets. **Poultry Science**, v. 83, n. 6, p. 962-970, 2004.

DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 468-481.

FAIRCHILD, B. D.; RITZ, C. W. **Poultry drinking water primer**. [S.l.]: Cooperative Extension, University of Georgia, 2009.

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

FUKAYAMA, E. H. et al. Efeito da suplementação de fitase e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 629-635, 2008.

FURTADO, F. P. V.; TINÔCO, I. F. F. Análise do conforto térmico em galpões avícolas com diferentes sistemas de acondicionamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, p. 559-564, 2003.

GAMA, N. M. S. Q. et al. Conhecendo a água utilizada para as aves de produção. **Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 43-49, 2008.

GAMA, N. M. S. Q. et al. Parâmetros químicos e Indicadores bacteriológicos da água utilizada na dessedentação de aves nas granjas de postura comercial. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo. v. 71, n. 4, p. 423-430, 2004.

GOMIDE, E. M. et al. Rações com níveis reduzidos de proteína bruta, cálcio e fósforo com fitase e aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 11, p. 2405-2414, 2011.

HANNAS, M. I.; PUPA, L. M. R. Enzimas: uma alternativa viável para enfrentar a crise na suinocultura. **Revista PorkWorld**, v. 42, n. 13, p. 48-51, 2003.

HOLUB, B. J. Metabolism and function of MIO-inositol and inositol phospholipids. **Annu Rev Nutr**, v. 6, p. 563-597, 1986.

KARIMI, A.; MIN, Y.; LU, C. Assessment of potential enhancing effects of a carbohydrase mixture on Phytase efficacy in male broiler chicks fed phosphorus-deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science**, v. 92, p. 192-198, 2013.

KRABBE, E.; ROMANI, A. Importância da qualidade e do manejo da água na produção de frangos de corte. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 14.; BRASIL SUL POULTRY FAIR, 5., 2013, Chapecó, SC. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2013.

LAN, G. Q. Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v. 81, n. 10, p. 1522-1532, 2002.

LEE, S. A.; M. R. BEDFORD. Inositol - an effective growth promotor? **World's Poultry Science Journal**, v. 72, p. 743-760, 2016.

LELIS, G. R. et al. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1768-1773, 2010.

LESSON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph, Ontario, Canada: University Books, 2001. p. 331-428.

LI, W. et al. Impacts of dietary calcium, phytate, and nonphytate phosphorus concentrations in the presence or absence of phytase on inositol hexakisphosphate (IP6) degradation in different segments of broilers digestive tract. **Poultry Science**, v. 95, p. 581-589, 2016.

LIEBERT, F.; WECKE, C.; SCHONER, F. J. Phytase activities in different gut contents of chickens as dependent on level of phosphorus and phytase supplementations. In: SYMPOSIUM KARTAUSE ITTINGEN: ENZYMES IN ANIMAL NUTRITION, 1993, Berne. **Proceedings...** Berne: Roche Vitamins, 1993. p. 202-205.

MACARI, M.; SOARES, N. M. **Água na avicultura industrial**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2012.

MACEDO, J. A. B. **Águas e Águas**. Belo Horizonte: CRQ-MG, 2007. 1027p.

MAJEKODUNMI, B. C. et al. Influence of electrolytes and ascorbic acid supplementation on serum and erythrocytic indices of broiler chickens reared in a hot environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, p. 701-706, 2013.

MANAGI, M. K.; CONN, C. N. Phytate phosphorus hydrolysis in broilers in response to dietary phytase, calcium, and phosphorus concentrations. **Poultry Science**, v. 37, p. 1577-1586, 2008.

MCKAY, D. M.; BAIRD, A. W. Cytokine regulation of epithelial permeability and ion transport. **Gut**, v. 44, n. 2, p. 283-289, 1999.

MCKNIGHT, W. F. The impact of phytase and high available phosphorus corn on broiler performance and phosphorus excretion. **Basf Technical Symposium**, Atlanta. p. 57-66, 1999.

MENEGHETTI, C. et al. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 624-632, 2011.

MOUCHREK, E. Qualidade da água. **Revista Aviming**, v. 4, p. 14-15, 2003.

NAAS, I. A. et al. Ambiente para frangos de corte. In: NAAS, I. A. et al. **Produção de frangos de corte**. 2. ed. [S.l.: s.n.], 2014. p. 112-132.

NELSON, T. S.; SHIEH, T. R.; WODZINSKI, R. J. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. **Jour. Nut.**, v. 101, p. 1289-1294, 1971.

OLIVEIRA, P. A.; BELLAVAR, C. Balanço da água nas cadeias de aves e suínos. **Agricultura Industrial**, v. 10, p. 39-44, 2009.

- OLIVEIRA, R. F. M. et al. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 797-803, 2006.
- OLUKOSI O. A. et al. Assessment of a bacterial 6-phytase in the diets of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 92, p. 2101-2108, 2013.
- OLUKOSI, O. A.; FRU-NJI, F. The interplay of dietary nutrient specification and varying calcium to total phosphorus ratio on efficacy of a bacterial phytase: 1. Growth performance and tibia mineralization. **Poultry Science**, v. 93, n. 12, p. 3037-3043, 2014.
- PANDEY, A. et al. Production, purification and properties of microbial phytases. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 203-214, 2001.
- PENZ, A. M. JR. Estresse pelo calor: efeitos em frangos e matrizes; manipulação do equilíbrio ácido-base. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA DE TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1989, Campinas. **Anais...** Campinas: APINCO, 1989. p.139-46.
- PENZ, A. M. JR. Importância da água na produção de Frangos de corte. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 4., 2003, Chapecó, SC. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2003.
- PEREIRA, R. et al. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 137-144, 2012.
- PIRGOZLIEV, V. et al. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. **British Poultry Science**, v. 49, n. 2, p. 144-154, 2009.
- POMIANO, J. D. **Manejo del agua como nutriente**. Lima: [s.n.], 2002. p 1-31.
- PONCIANO, P. F. et al. Análise do ambiente para frangos por meio da lógica Fuzzy: Uma revisão. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, p. 1-13, 2011.
- POWELL, S.; BIDNER, T. D.; SOUTHERN, L. L. Phytase supplementation improved growth performance and bone characteristics in broilers fed varying levels of dietary calcium. **Poultry Science**, v. 90, n. 3, p. 604-608, 2011.
- RUTHERFURD, S. M. et al. Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorous corn-soybean meal diet for broilers. **Poultry Science**, v. 91, n. 5, p. 1118-1127, 2012.
- RUTHERFURD, S. M., et al. Effect of microbial phytase on the ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a lowphosphorus diet for broilers. **Poultry Science**, v. 83, p. 61-68, 2004.
- SALVADOR, D. et al. Suplementação de bicarbonato de sódio na ração e na água de bebida de frangos de corte submetidos ao estresse calórico. **Ars Veterinária**, v. 15, n. 2, p. 144-148, 1999.

SANTOS, L. M. et al. Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações suplementadas com fitase para frangos de corte nas fases de crescimento e final. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 11, p. 2486-2495, 2011.

SANTOS, P. A., et al. Ventilação em modos túnel e lateral em galpões avícolas e seus efeitos no conforto térmico, na qualidade do ar e no desempenho das aves. **Revista Ceres**, v. 56, p. 172-180, 2009.

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

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, v. 113, p. 99-122, 2008.

SHAW, A. L. et al. Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization, and phosphorus excretion in broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 20, p. 561-566, 2011.

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

SHIRLEY, R. B.; EDWARDS, J. A. JR. Graded levels of phytase past industry standards improves broilers performances. **Poultry Science**, v. 82, p. 671-680, 2003.

SILVA, Y. L. et al. Níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte na fase de 14 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 469-477, 2008.

SOARES, N. M. Quantidade e qualidade da água na produção de aves. In: SIMPÓSIO PRODUÇÃO ANIMAL E RECURSOS HÍDRICOS, 2010. **Anais...** Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2010. p. 46.

SOUSA, F. N. **Bicarbonato de sódio associado ao cloreto de amônio em rações para frangos de corte sob condições naturais de estresse calórico**. 2006. 100 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2006.

SWEAZEA, K. L.; BRAUN, E. J. Glucose transporter expression in English sparrows (*Passer domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 144, p.263-270, 2006.

TEJEDOR, A. A. et al. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 802-808, 2001.

TOKUSHIMA, Y. et al. Glucose uptake in vivo in skeletal muscles of insulin-injected chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 141, p. 43-48, 2005.

VILOA, T. H. et al. Influence of water restriction on the performance and organ development of young broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 323-327, 2009.

VIVEROS, A. et al. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172-1183, 2002.

WALK, C. L. et al. Evaluation of highly soluble calcium source and phytase in the diets of broilers chickens. **Poultry Science**, v. 91, n. 9, p. 2255-2263, 2012.

WALK, C. L. et al. Extra-phosphoric effects of superdoses of a microbial phytase. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 719-725, 2013.

WALK, C. L.; SANTOS, T. S.; BEDFORD, M. R. Influence of superdoses of a microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. **Poultry Science**, v. 93, n. 5, p. 1172-1177, 2014.

WELKER, J. S. et al. Temperatura corporal de frangos de corte em diferentes sistemas de climatização. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, ago. 2008.

WODZINSKI, R. J.; ULLAH, A. H. J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, Louisiana, v. 42, n. 1, p. 263-303, oct. 1996.

WOYENGO, T. A.; E. KIARIE.; C. M. NYACHOTI. Energy and amino acid utilization in expeller-extracted canola meal fed to growing pigs. **Journal Animal Science**, v. 88, p. 1433-1441, 2010.

YAMASHITA, Y. et al. Detection of orally administered inositol stereoisomers in mouse blood plasma and their effects on translocation of glucose transporter 4 in skeletal muscle cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 4850-4854, 2013.