

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

**EFEITO DA TEMPERATURA AMBIENTE E SUPLEMENTAÇÃO DA
DIETA COM PROTEASE NO DESEMPENHO E UTILIZAÇÃO DE
NUTRIENTES EM FRANGOS DE CORTE**

LÍVIA CARRASCO DORNELAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte dos requisitos
para obtenção ao título de Mestre

BOTUCATU-SP
Agosto-2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

EFEITO DA TEMPERATURA AMBIENTE E SUPLEMENTAÇÃO DA
DIETA COM PROTEASE NO DESEMPENHO E UTILIZAÇÃO DE
NUTRIENTES EM FRANGOS DE CORTE

Lívia Carrasco Dornelas
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Roberto Sartori

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte dos requisitos
para obtenção ao título de Mestre

BOTUCATU – SP
Agosto – 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

D713e Dornelas, Livia Carrasco, 1989-
Efeito da temperatura ambiente e suplementação da dieta com protease no desempenho e utilização de nutrientes em frangos de corte / Livia Carrasco Dornelas. - Botucatu: [s.n.], 2017
50 f. : tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2017

Orientador: José Roberto Sartori

Inclui bibliografia

1. Ave - Criação. 2. Frango de corte - Alimentação e rações. 3. Aditivos. 4. Enzimas. I. Sartori, José Roberto. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LIVIA CARRASCO DORNELAS - Nasceu no dia 03 de março de 1989 em Paraguaçu Paulista/SP. Em 2010 ingressou no curso de Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp, Campus de Botucatu, completando em dezembro de 2014. Sob orientação do Prof. José Roberto Sartori, foi bolsista de iniciação científica PIBIC, durante a graduação. Na referida instituição iniciou o mestrado em 2015 no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Nutrição Animal), onde foi bolsista CAPES e FAPESP. Defendeu sua dissertação no dia 28 de julho de 2017.

*“Bom mesmo
é ir a luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e
vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve. E a vida é muito
bela para ser insignificante.”
(Charles Chaplin)*

*“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu.
Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e
sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.*

(Paulo Belêki)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Clarisse Carrasco Dornelas e João Batista Vieira Dornelas

Ao apoio, conselho e incentivo em todos os momentos para minha formação pessoal e profissional. Por toda dedicação e amor.

Aos meus avós,

Maria Marlene Merci Carrasco e Luiz Carrasco,

Por todo o apoio, incentivo, amor incondicional e por serem meus melhores exemplos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar meus caminhos e me abençoar a cada instante.

À todos meus familiares que sempre foram meu suporte, dando apoio, incentivo e ensinamentos.

Ao meu Professor e Orientador Dr. José Roberto Sartori pelos conhecimentos transmitidos, apoio, incentivo, dedicação, paciência, confiança e amizade. Que sempre esteve presente quando precisei, e responsável pela realização do meu trabalho, crescimento pessoal e profissional;

Aos meus amigos Letícia Su, Ludmila Monteiro, Ana Beatriz Faraco Antonangelo, Renata Sena da Silva, Rafael de Matteis, Márcia Pereira, Carolina Mendes e Igor Simões por todos os bons momentos, conselhos, por me apoiarem e confortarem sempre que preciso;

À equipe do laboratório de nutrição de aves da FMVZ/UNESP-Botucatu: Alex Kazuo Ito, Amanda da Lapa Silva, Ana Cristina Stradiotti, Armando Carlos Contin Neto, Barbara Fernandes, Bruna Boaro Martins, Daniele Santos de Souza, Everton Moreno Muro, Guilherme Aguiar Mateus Pasquali, Iane Correia de Lima Almeida, Wanderley Thiago da Silva, Juliana Cristina Denadai, Juliana Cristina Ramos Rezende, Leonardo Henrique Zanetti, Lucas Silva Ferlin Lopes, Natani Cruz Alexandre, Netto Ferreira, Mayara Rodrigues Santana Eich, Mônica Megumi Aoyagi, Paola Gentile Serpa, Robert Guaracy e Tatiane Souza dos Santos, por toda ajuda na condução do experimento, convivência e amizade. Com o apoio de vocês foi possível a realização deste projeto.

À Profa. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori, pela contribuição e ajuda nas análises estatísticas;

À DSM®, pelas contribuições no desenvolvimento do projeto e fornecimento dos produtos utilizados nas rações experimentais;

Ao Vítor Barbosa Fascina pela contribuição, auxílio e confiança para que esse trabalho fosse realizado;

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Câmpus de Botucatu e ao

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade e todo suporte para a realização do mestrado;

Aos professores e funcionários da faculdade que foram presentes, dando apoio e suporte sempre;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo: 2015/15263-2) e CAPES pela concessão da bolsa de estudos;

E muito obrigado a cada um, que de alguma forma participou e/ou auxiliou nessa etapa de minha vida.

Sumário

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I.....	1
1. Justificativa	2
2. Digestão e aproveitamento de proteínas pelo frango de corte.....	3
3. Enzimas	5
4. Utilização da Protease	6
5. Temperatura ambiente para frangos de corte	9
6. Referências	12
CAPÍTULO II.....	18
Efeito da temperatura ambiente e suplementação da dieta com protease no desempenho e utilização de nutrientes em frangos de corte.....	19
1. RESUMO	19
2. INTRODUÇÃO.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4. RESULTADOS.....	26
5. DISCUSSÕES.....	32
6. CONCLUSÃO	35
7. REFERÊNCIAS.....	35
CAPÍTULO III	38
Implicações	39

Tabelas

Tabela 1. Composição centesimal (g/kg) e nutricional calculadas das dietas experimentais	23
Tabela 2. Temperaturas preconizadas para cada fase de criação.	24
Tabela 3. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 7 dias de idade.	26
Tabela 4. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 14 dias de idade.	27
Tabela 5. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.	28
Tabela 6. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade.	29
Tabela 7. Resultados do ensaio de metabolizabilidade (coleta total de excretas) em de frangos de corte aos 35 dias de idade.....	30
Tabela 8. Metabolizabilidade de nutrientes em de frangos de corte aos 35 dias de idade.	32

Efeito da temperatura ambiente e suplementação da dieta com protease no desempenho e utilização de nutrientes em frangos de corte

RESUMO: Avaliou-se o efeito da suplementação de protease na digestibilidade e desempenho de frangos de corte em ambiente termoneutro e estresse cíclico pelo calor. Foram utilizados 320 pintos machos Cobb de um dia distribuídos casualmente em esquema fatorial 2x2x2 [ambiente termoneutro ou ambiente quente x dieta atendendo as exigências nutricionais (controle positivo, CP) ou reduzida 6% em proteína bruta e aminoácidos (controle negativo, CN) x protease: 0 ou 200ppm] com 8 repetições. De 1 a 7 dias de idade, a conversão alimentar (CA) foi melhor em frangos CN quando em ambiente termoneutro, e quando em ambiente quente, a CA melhorou com a dieta CP. Frangos em ambiente termoneutro apresentaram melhor CA e maior ganho de peso no período de 1 a 14 dias. Maior consumo de ração e ganho de peso foram observados em frangos mantidos em ambiente termoneutro nos períodos de 1 a 21 dias e 1 a 35 dias de idade. No período de 1 a 35 dias de idade houve interação entre dieta e protease, sendo que frangos que receberam dietas CP apresentaram melhor CA quando receberam protease. Frangos que receberam protease melhoraram a conversão alimentar quando consumiram CP comparados aos que receberam CN. A suplementação de protease favoreceu balanço de nitrogênio, coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta e da matéria seca e a energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio em frangos de corte em ambiente quente com dieta controle positivo. Concluindo, o estresse pelo calor prejudica o desempenho dos frangos de corte e dietas com valorização de proteína e aminoácidos (CN) pioram a conversão alimentar. A suplementação de protease (200ppm) em dietas sem valorização da proteína e aminoácidos (CP) melhora a conversão alimentar dos frangos de corte no período de 1 a 35 dias de idade. A suplementação de protease (200 ppm) melhora os valores de energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio em dietas com níveis reduzidos de proteína e aminoácidos (CN) para frangos criados em temperatura termoneutra, assim como, melhora a metabolizabilidade da proteína bruta, da matéria seca e da energia em dietas com níveis recomendados de proteína e aminoácidos (CP) em ambiente quente.

Palavras-chave: avicultura, aditivos, enzimas, fatores antinutricionais, alimentação.

Effects of environmental temperature and diet supplementation with protease on growth performance and nutrient utilization by broilers

ABSTRACT: The objective of the current study was to evaluate the effects of protease supplementation on diet digestibility and growth performance of broilers raised under thermoneutral condition and cyclic heat stress. In a 2x2x2 factorial system [thermoneutral condition or heat stress vs. diets formulated to meet nutritional (positive control, PC) or diets with crude protein and amino acids below requirements by 6% (negative control, NC) x Protease: 0.200ppm], 320 one-day-old male Cobb broilers were distributed in 8 replicates. From 1 to 7 days of age, feed conversion ratio (FCR) was better in thermoneutral condition, and in heat stress, feed conversion ratio (FCR) was better when consume PC. Broilers in thermoneutral environment presented best FCR and greater weight gain during the period from 1 to 14 days. Increased feed consumption and weight gain were observed in broilers kept in thermoneutral environment in periods of 1 to 21 days and 1 to 35 days old. During the period from 1 to 35 days of age there was interaction between diet and protease, and broilers that were given diets CP presented best FCR when they received protease. Broilers receiving protease improved feed conversion when consumed PC compared to those receiving NC. Protease supplementation favored nitrogen balance, metabolizable crude protein, dry matter, apparent metabolizable energy and nitrogen-corrected apparent metabolizable energy in broiler chickens in heat stress with positive control diet. In conclusion, heat stress impairs the performance of broiler chickens and diets with crude protein and amino acids below requirements (NC) impairs feed conversion. Protease supplementation (200ppm) in diets with protein and amino acids (PC) improves the feed conversion of broiler chickens from 1 to 35 days of age. Protease supplementation (200ppm) improves the apparent metabolizable energy and nitrogen-corrected apparent metabolizable energy in diets with reduced levels of protein and amino acids (NC) for broilers in thermoneutral temperature, as well as improving the metabolizability of crude protein, dry matter and energy in diets with recommended levels of protein and amino acids (PC) in heat stress.

Key words: poultry, additives, enzymes, antinutritional factors, feeding.

CAPÍTULO I

1. Justificativa

Durante as últimas décadas, a produção industrial de frango de corte se desenvolveu de forma expressiva no agronegócio brasileiro e, no ano de 2015 a produção do Brasil superou 13,1 milhões de toneladas, assumindo o segundo lugar da produção mundial e maior exportador deste tipo de carne (UBABEF, 2016).

O sistema de produção de frangos de corte tem-se ampliado, principalmente, devido ao aperfeiçoamento nas técnicas de manejo, ambiência, sanidade, melhoramento genético e nos avanços referentes à nutrição, possibilitando produzir aves precoces e maior produção de proteína animal por área (BUENO & ROSSI, 2006). A nutrição constitui um dos principais aspectos para melhorias na produção animal, sendo extremamente dinâmica a procura por alternativas que visem melhorar o aproveitamento dos ingredientes e proporcionar condições que favoreçam a expressão do máximo potencial genético dos animais, sem acréscimos aos custos de produção (ARAUJO et al., 2007).

Apesar da produção brasileira de grãos disponibilizar milho e soja em quantidades suficientes para atender o setor avícola brasileiro, os gastos com a alimentação dos frangos de corte continuam sendo responsáveis por aproximadamente 70% dos custos totais de produção (NUNES et al., 2005).

A busca por ingredientes alternativos e aditivos que reduzam o preço e melhorem e/ou mantenham o aproveitamento nutricional das dietas tem despertado interesse e sido alvo de pesquisas. Aditivos como enzimas exógenas têm sido utilizados para redução das características indesejadas dos ingredientes causadas pelos fatores antinutricionais, proporcionando melhora do desempenho das aves. O uso de enzimas exógenas na dieta apresenta diversas funções, entre as quais a de complementar a atividade de enzimas endógenas produzidas pelas aves, hidrolisando ligações químicas que não sejam suficientemente degradadas por enzimas endógenas, podendo melhorar a disponibilidade de nutrientes como aminoácidos e minerais, entre outros (KIARIE et al., 2013).

As enzimas exógenas são caracterizadas por melhorar a disponibilidade dos nutrientes das dietas, favorecendo o aproveitamento de polissacarídeos de reserva, gorduras e proteínas e também auxiliando na diminuição dos fatores antinutricionais, colaborando com a atividade enzimática endógena, especialmente em animais jovens que ainda possuem sistema enzimático imaturo (CAMPESTRINI et al., 2005).

Também colaboram com a diminuição da poluição ambiental, pois melhorando a digestibilidade dos alimentos e o desempenho dos animais, ocorre menor taxa de excreção para o ambiente de nutrientes nas excretas, tais como o fósforo, nitrogênio, cobre, zinco, entre outros (CAMPESTRINI et al., 2005; CHOCT, 2016), além da redução dos níveis nutricionais das dietas, possibilitando diminuição dos custos das rações (TORRES et al., 2003).

2. Digestão e aproveitamento de proteínas pelo frango de corte

As proteínas presentes no trato digestório das aves são submetidas à hidrólise (quebra das ligações peptídicas), que realiza-se devido a ação das enzimas proteolíticas em pH ácido (1,0 a 4,0). Deste modo, quanto maior a área de superfície disponível para as enzimas e o tempo de ação sobre o substrato, melhor será a digestão e a disponibilidade dos aminoácidos para posterior absorção (RUTZ, 2002).

Segundo Rutz (2002), é no proventrículo que inicia a digestão protéica em frangos de corte, sendo secretado ácido clorídrico e pepsinogênio pelas células principais. O pepsinogênio ao entrar em contato com o ácido clorídrico, transforma-se em pepsina (forma ativa) e torna o pH ácido, que é ideal para o funcionamento da enzima, porém, o pH se eleva devido à diluição com o conteúdo da digesta. Quando no meio ácido do proventrículo, as proteínas são desnaturadas e sofrem a ação da pepsina, que hidrolisam as ligações peptídicas entre os aminoácidos leucina-valina, tirosina-leucina, fenilalanina-tirosina. Como resultado da motilidade no proventrículo e moela, o alimento é misturado e digerido e, conseqüentemente, as proteínas parcialmente digeridas passam para o duodeno. A eficácia da digestão protéica depende da característica física da proteína ingerida e do tempo de permanência no proventrículo-moela, visto que, a hidrólise péptica finaliza quando o pH do quimo é aumentado no duodeno.

Quando se encontram no duodeno, as proteínas ingeridas sofrem ação das enzimas proteolíticas do pâncreas e do intestino, sendo a tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidases A e B e elastase as principais enzimas proteolíticas do pâncreas. A tripsina e quimiotripsina são endopeptidases e quebram ligações em locais específicos e não terminais. A tripsina hidroliza apenas ligações peptídicas dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina. Carboxipeptidases são exopeptidases que hidrolisam as ligações na terminação carboxila e tirosina. A resposta a atuação de endopeptidases e exopeptidases é a formação de oligopeptídeos, tripeptídeos, dipeptídeos ou

mesmo aminoácidos livres no lúmen intestinal. Deste modo, é indispensável a atuação das peptidases de membrana para a completa digestão das proteínas (RUTZ, 2002).

Segundo Bedford & Partridge (2011), devido aos fatores anti-nutricionais encontrados nos ingredientes das rações que interferem no processo digestivo dos animais e à insuficiência na produção de enzimas específicas, aves e suínos não digerem de 15 a 25% das rações que consomem. Os inibidores de tripsina e lectinas são os dois principais fatores anti-nutricionais. Os inibidores de tripsina se encontram em vegetais proteicos e diminuem a digestão por bloquearem a ação da tripsina, pois esta enzima, que é secretada no pâncreas, colabora com a quebra das proteínas no intestino delgado. As lectinas são proteínas que se ligam a açúcares e que do mesmo modo podem reduzir a digestibilidade. Apesar do aquecimento de produtos de soja ser prática usual para diminuir tanto os inibidores de tripsina como as lectinas, essa prática pode reduzir a disponibilidade de aminoácidos, especialmente lisina (BEDFORD & PARTRIDGE, 2011).

As aves aumentam sua capacidade digestiva em função da idade, melhorando a utilização dos nutrientes em função do amadurecimento dos órgãos acessórios e sistema digestivo (CARVALHO et al., 2011). A idade e a temperatura têm efeito significativo sobre a atividade das enzimas pancreáticas. Lima et al. (2002) verificaram que a idade da ave influencia a produção de enzimas digestivas, uma vez que a atividade específica de lipase diminuiu e as atividades específicas de amilase, tripsina e quimotripsina aumentaram com a idade das aves; também, verificaram diferenças da produção enzimática quando as aves foram submetidas ao estresse térmico (34°C, no período de 1 até 42 dias de idade), com aumento da atividade da lipase e redução das atividades da tripsina e amilase. Borges et al. (2003) observaram que frangos de corte mais velhos aproveitavam melhor os alimentos fibrosos ao determinarem valores de energia metabolizável aparente de farelos de trigo, em aves com 14 e 39 dias de idade.

A atividade das enzimas pancreáticas de frangos de corte pode ser alterada em função da temperatura ambiente e da idade das aves. Quando Lima et al. (2002) avaliaram os efeitos do estresse calórico sobre a atividade de enzimas, frangos de corte apresentaram maior atividade das enzimas quando criados em condições termoneutras, principalmente no período final de criação, o que pode ser explicado pelo fato de que, em altas temperaturas, as aves tendem a reduzir a ingestão de alimento e, conseqüentemente, a produção de enzimas.

3. Enzimas

Duas condições são fundamentais para a existência dos organismos: a autorreplicação e a capacidade de realizar reações químicas com eficiência e seletividade (LEHNINGER & COX, 2014). As enzimas são proteínas altamente complexas e atuam como catalisadores biológicos, acelerando as reações químicas (AEHLE, 2004).

Uma das características das enzimas é sua alta especificidade para o substrato. As moléculas das enzimas possuem uma região especial, denominada sítio ativo, com aminoácidos que criam uma superfície tridimensional que ao ligar-se com o substrato formam um complexo enzima-substrato, que é convertido em enzima-produto (CHAMPE et al., 2009).

Algumas condições de reação precisam ser atendidas para que a enzima atue, tais como o teor de umidade, temperatura, pH, concentração enzimática e concentração do substrato (AEHLE, 2004). Os avanços na área da biotecnologia, especialmente na fermentação e tecnologias microbiológicas e biologia molecular, possibilitaram a produção econômica de enzimas exógenas que tornam favorável sua aplicação em dietas comerciais (RAVINDRAN, 2013).

Enzimas exógenas são produzidas em sua maioria a partir da fermentação de *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma longibrachiatum*, sendo principalmente amilases, pectinases, celulasas e proteases (RITZ et al., 1995). De acordo com Adeola & Cowieson (2011), os estudos com enzimas se iniciaram na década de 1950, sendo que amilases e proteases foram adicionadas às dietas de vários animais de produção e se observaram benefícios em produtividade e, desde então, a utilização de enzimas exógenas em dietas animais tem sido amplamente pesquisadas e apresentado grande crescimento na indústria animal em todo o mundo.

Segundo Fischer et al. (2002), a utilização das enzimas em dietas animais possui duas finalidades estabelecidas: favorecer os animais complementando as enzimas que são sintetizadas em quantidades insuficientes; como também proporcionar enzimas que não são produzidas por estes animais (celulasas) e assim, diminuir os efeitos negativos ocasionados pelos polissacarídeos não-amiláceos (PNA's).

Apesar do uso de fitase apresentar diversos efeitos satisfatórios, as respostas ao uso de carboidrases e proteases na avicultura apresentam alguns resultados

inconsistentes. As razões para a ausência de benefícios ou a inconsistência dos resultados ao uso de enzimas exógenas pode ser determinado por fatores como a valorização nutricional incorreta da enzima e principalmente pelo desequilíbrio de nutrientes e variação da composição dos ingredientes utilizados na dieta (BAO et al., 2013).

Sendo a alimentação o componente que mais onera o custo de produção, a suplementação com enzimas específicas pode tornar a produção mais rentável, pois ajuda a degradar fatores antinutricionais, aumenta a digestibilidade de nutrientes e, assim, melhora o valor nutricional dos ingredientes da ração (BEDFORD & PARTRIDGE, 2011). No caso da avicultura brasileira, o milho e a soja são os ingredientes básicos das dietas das aves (ROSTAGNO et al., 2017) e a utilização da soja apresenta algumas restrições devido à presença de fatores antinutricionais que dificultam a atuação de enzimas digestivas, podendo alterar a morfologia intestinal e interferir na digestibilidade e absorção dos nutrientes (OPALINSKI et al., 2006).

De acordo com Leite et al. (2012), a suplementação das dietas de frangos de corte com enzimas exógenas pode favorecer a qualidade nutricional do farelo de soja, trazendo benefícios na digestibilidade dos nutrientes e na energia metabolizável da dieta, decorrentes da decomposição dos polissacarídeos não amiláceos e oligossacarídeos. Torres et al. (2003) verificaram que a suplementação de dieta a base de milho e farelo de soja para frangos de corte com complexo enzimático contendo amilase, protease e xilanase, aumentou o ganho de peso e melhorou a conversão alimentar. As aves alimentadas com dietas com enzimas e com níveis energéticos ou proteicos reduzidos tiveram desempenho zootécnico semelhante ao das aves que receberam dietas com níveis nutricionais recomendados, indicando que existe a possibilidade de se formular rações com níveis nutricionais mais baixos quando se usam enzimas.

Tejedor et al. (2001) adicionaram um complexo contendo protease, amilase, celulase e fitase em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte e verificaram melhora nos coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca, proteína bruta, energia bruta, fósforo e cálcio.

4. Utilização da Protease

As proteínas são polímeros de aminoácidos e são as moléculas mais abundantes e com maior diversidade de funções nos sistemas vivos, sendo

responsáveis pela maioria dos processos vitais (CHAMPE et al., 2009). O arranjo dos aminoácidos formam proteínas com estruturas tridimensionais, tornando-as aptas para exercer várias funções especializadas (BERG et al., 2014).

Proteases são enzimas que digerem proteínas e que podem ser aplicadas na nutrição de aves e suínos para ajudar na quebra de proteínas de armazenamento em vários materiais vegetais e de fatores anti-nutricionais proteicos (BEDFORD, 2011). As proteases são secretadas para atuar em diversos processos fisiológicos, como na digestão da proteína dos alimentos e os animais normalmente produzem quantidades suficientes de enzimas para digerir sua alimentação de forma que cresçam e permaneçam saudáveis em condições normais. Animais de interesse zootécnico, que tem maior velocidade de crescimento resultante do melhoramento genético, apresentam maior exigência de proteína e aminoácidos, que tem sido tradicionalmente satisfeita pela adição de mais alimentos proteicos e aminoácidos sintéticos na ração, sobrecarregando o sistema digestório e, assim, a adição de proteases exógenas passa a ser viável economicamente (ANTIPATIS et al., 2013).

A protease comercial produzida a partir de *Bacillus licheniformis* tem sua atividade iniciada após exposição ao baixo pH do proventrículo e moela, e possui a capacidade de degradar proteínas de diversos alimentos e assim, complementar a ação das enzimas endógenas das aves (SMITH, 2011). Sendo fisiologicamente necessárias para organismos vivos, as proteases estão presentes em todos os processos, e são encontradas em ampla diversidade de fontes, como plantas, animais e microrganismos. São identificadas em exopeptidases e endopeptidases com base na sua ação, e são classificados como serina proteases, proteases aspárticas, cisteína proteases e metaloproteases dependendo da natureza do grupo funcional no local ativo (RAO et al., 1998).

Dentre as proteases que estão presentes no trato digestório dos animais, encontram-se a tripsina e quimotripsina pancreáticas e a pepsina e renina de origem estomacal. A tripsina é uma protease da serina e é a principal enzima digestiva intestinal responsável pela hidrólise de proteínas alimentares; a quimiotripsina é específica para quebrar ligações peptídicas em aminoácidos aromáticos; a pepsina é uma protease ácida que se encontra no estômago de quase todos os vertebrados e catalisa a hidrólise de ligações peptídicas entre dois aminoácidos hidrofóbicos e a renina é uma protease semelhante à pepsina que é produzida no estômago de mamíferos jovens (RAO et al., 1998).

Animais monogástricos produzem proteases, como pepsina, tripsina,

quimotripsina, carboxipeptidases, aminopeptidases, tri e dipeptidases, entre outras; porém, estas podem não ser suficientes para digerir toda a proteína da dieta e, parte desta proteína pode ser excretada nas fezes (GLITSØ et al., 2012). Uma solução para melhorar o aproveitamento das proteínas presentes nos alimentos tem sido a suplementação de proteases exógenas nas dietas (WANG et al., 2006; OXENBOLL et al., 2011; GLITSØ et al., 2012).

As proteases exógenas em dietas de frangos de corte atuam promovendo maior digestibilidade dos ingredientes, aumentando a hidrólise de frações proteicas da dieta e melhorando a utilização do nitrogênio, contribuindo com a melhora do valor nutricional dos alimentos, desempenho e rendimento de carcaça. Sendo assim, é possível reduzir o teor de aminoácidos essenciais ou proteína total da dieta, que além de tornar as rações mais eficientes, também promove diminuição na excreção de nitrogênio (WANG et al., 2006; OXENBOLL et al., 2011). Desta forma, a suplementação de enzima protease pode ajudar a resolver alguns dos atuais desafios encontrados na pecuária, como custo de ração e demandas para a agricultura sustentável, por aumentar a digestibilidade das proteínas e disponibilidade de energia e, assim melhorar os parâmetros de desempenho por atuar sobre a pepsina e as enzimas pancreáticas através da hidrólise e solubilização da proteína (FRU-NJI et al., 2011).

Uma das características das sementes, especialmente as leguminosas como a soja, é possuir grandes concentrações de proteínas de armazenamento que são produzidas principalmente durante a formação das sementes e armazenadas para fornecer nitrogênio para o embrião durante a germinação. Estas proteínas podem ligar-se ao amido e a aplicação das proteases pode ajudar a quebrar as proteínas de armazenamento, liberando o amido que pode então ser digerido pelo animal (BEDFORD & PARTRIDGE, 2011).

No passado, devido ao preço relativamente baixo da maioria dos produtos proteicos, como farelo de soja e aminoácidos sintéticos, as enzimas exógenas não foram consideradas essenciais. Porém, atualmente com o aumento dos custos dos alimentos e animais que exigem dietas mais ricas em proteínas e aminoácidos, observa-se a necessidade de se desenvolverem produtos que melhorem o valor nutritivo das dietas a fim de tornar a produção mais rentável (ANTIPATIS et al., 2013).

O alto teor de proteínas e quantidades equilibradas de aminoácidos faz com que o farelo de soja se torne importante fonte de proteínas na alimentação animal, sendo responsável por fornecer mais de 70% das proteínas em dietas avícolas.

Porém, seu valor nutricional é reduzido devido aos fatores antinutricionais (MARSMAN et al., 1997), tais como, presença de substâncias pécticas na estrutura de sua parede celular e proteínas inibidores de proteases, que podem prejudicar as atividades da tripsina, quimotripsina, amilase e carboxipeptidase (TORRES et al., 2003; LEITE et al., 2012).

Os inibidores de protease são inativados convencionalmente com o tratamento térmico da soja e, para degradar os polissacarídeos não amídicos e oligossacarídeos, carboidrases exógenas podem ser suplementadas nas rações das aves, melhorando a energia metabolizável do farelo de soja (LEITE et al., 2012). O uso de proteases também pode aumentar a utilização de nutrientes da dieta à base de milho e farelo de soja. Angel et al. (2011) avaliando os efeitos da protease sobre o desempenho em frangos de corte, verificaram que a suplementação dessa enzima nas dietas possibilitou redução dos níveis de proteína, sendo que os animais que receberam dietas suplementadas a partir de 200mg/kg (75.000 unidades PROT/g) e com redução de PB (8,88%) mantiveram a conversão alimentar semelhante a das aves que receberam dieta padrão.

Estudos com enzimas em dietas de frangos de corte são comuns e a utilização da fitase está bem estabelecida (FREITAS et al., 2011; VIEIRA et al., 2013); contudo, o uso comercial de outras enzimas como as proteases é recente, apesar de já existirem muitos produtos comerciais disponíveis. De acordo com Krabbe & Lorandi (2014), as pesquisas com protease se intensificaram nos últimos anos e, devido aos resultados obtidos é possível que seu uso seja ampliado em dietas a base de milho e farelo de soja.

Estudos com suplementação de enzimas exógenas em dietas de frangos de corte são, em sua maioria, realizados com misturas de enzimas incluindo muitas vezes protease. Em função disto, existe a necessidade de mais estudos para se analisar a atividade particular desta enzima (VIEIRA et al., 2013).

5. Temperatura ambiente para frangos de corte

Sendo animais homeotérmicos, as aves regulam sua temperatura corporal por mecanismos fisiológicos e comportamentais, sendo o calor formado por meio de processos metabólicos e adquirido do ambiente deve ser dissipado com o menor gasto energético possível. Porém, quando submetidas à altas temperaturas, as aves possuem dificuldades em dissipar calor por não possuírem glândulas sudoríparas e

devido a camada isolante de penas, que dificulta a troca de calor com o ambiente (CAHANER, 2008).

Segundo Macari et al. (2004), as aves necessitam de temperaturas entre 31 a 33°C para conforto nos primeiros dias de vida, reduzindo sua exigência térmica em aproximadamente 3°C por semana durante a fase inicial até a terceira semana de vida. Já na fase adulta o ambiente é considerado confortável quando atinge temperaturas de 16 a 23°C e umidade relativa do ar de 50 a 70% (TINÔCO, 1998).

A temperatura ambiente pode exercer influências positivas e negativas na produtividade de frangos de corte. Altas temperaturas podem afetar o desempenho por diminuir o consumo de alimento e o ganho de peso. Porém, quando submetidos à baixas temperaturas, aumentam o consumo de alimento e o ganho de peso, mas apresentam piora na conversão alimentar (FURLAN & MACARI, 2002).

Em países tropicais, como o Brasil, são encontradas altas temperatura e umidade, sendo que essas condições devem ser evitadas no interior dos galpões por interferir no desempenho das aves, prejudicando a eficiência da utilização dos alimentos (FERNANDES et al., 2014). O estresse térmico afeta negativamente diversas características como digestão e absorção de nutrientes, metabolismo e conseqüentemente diminuição do desempenho, e são preocupantes à produção das aves por reduzir o crescimento, como também elevar a taxa mortalidade (GERAERT et al., 1996).

Geraert et al. (1996) demonstraram que frangos de corte expostos ao calor crônico de 32°C, reduziram entre a segunda e quarta semana de idade 5,5% o ganho de peso e 14% o consumo de ração, e 22% o ganho de peso e 24% entre a quarta e sexta semana de idade, e as aves expostas ao calor apresentaram menor teor de proteína corporal, ganho de proteína e retenção de proteínas, e apresentaram mais gordura do que as aves mantidas em ambiente com 22°C. Geraert et al. (1996) também observou que a exposição por calor gera redução no crescimento maior do que a redução do consumo de ração, resultando a diminuição da conversão alimentar. Temim et al. (2000) observaram efeitos semelhantes do estresse por calor, como a redução da taxa de crescimento e proporção de músculo do peito e aumento da proporção de gordura abdominal.

Aves submetidas ao calor excessivo apresentam perda de calor não evaporativo por vasodilatação periférica e aumento da produção de urina e perda de calor evaporativo por ofego. Mesmo se estas perdas forem compensadas por maior consumo de água, o aumento na taxa respiratória pode resultar em perdas

excessivas de dióxido de carbono (CO₂) (BORGES et al., 2003; FERNANDES et al., 2014). Sendo assim, ocorrem prejuízos no desempenho por desviar a energia de produção, na tentativa de regular a temperatura (OLIVEIRA NETO et al., 2000).

Segundo Fernandes et al. (2014), com objetivo de manter a temperatura e reduzir a produção de calor metabólico, as aves submetidas a altas temperaturas diminuem o consumo de alimento e a eficiência digestiva e, conseqüentemente, reduzem a disponibilidade de nutrientes para o metabolismo, resultando em menor taxa de crescimento (ABU-DIEYEH, 2006).

Algumas práticas têm sido realizadas na tentativa de minimizar os efeitos do calor nas aves, tais como: incremento do nível de energia, via inclusão de óleos e gorduras; diminuição do nível de proteína e utilização de aminoácidos sintéticos nas dietas; formulação com balanço eletrolítico adequado; uso de cloreto de potássio e/ou bicarbonato de sódio; e de vitamina C nas dietas (FERNANDES et al., 2014).

As recomendações sobre nutrição e alimentação de frangos de corte são realizadas, em sua maioria, quando as aves se encontram em temperaturas de conforto térmico. Desse modo, em condições de estresse por calor ou frio, o desempenho é prejudicado, uma vez que influencia o consumo de ração e a metabolizabilidade dos nutrientes (OLIVEIRA et al., 2000). O melhoramento genético tem importância nos avanços da avicultura, porém devido às mudanças metabólicas, as aves aumentaram sua sensibilidade ao estresse por altas temperaturas, gerando grandes perdas econômicas (SOUZA et al., 2011) quando criadas em ambientes quentes, incluindo prejuízos no desempenho e digestibilidade dos alimentos.

Com base nessas informações, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de protease na digestibilidade da dieta e desempenho de frangos de corte criados em ambiente de termoneutralidade e estresse cíclico pelo calor.

Assim, o Capítulo II, intitulado: “Efeito da temperatura ambiente e suplementação da dieta com protease no desempenho e utilização de nutrientes em frangos de corte” foi redigido de acordo com as normas do periódico *Poultry Science*.

6. Referências

ABU-DIEYEH, Z.H.M. Effect of high temperature per se on growth performance of broilers. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.1, p.19-21, 2006.

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board – invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminants animal production. **Journal Animal Science**, v.89, p.3189-3218,2011.

AEHLE, W. **Enzymes in Industry**. 1ª ed: Weingheim: Willey – VCH Verlag GmbH & Co, 2004, 484p.

ANGEL, C. R. et al. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. **Poultry Science**, v.90, p.2281-2286, 2011.

ANTIPATIS, C.; KNAP, K.; PONTOPPIDAN,R.A.; VALIENTES, R.A. Exogenous protease and their interaction with dietary ingredients. In: 24º Australian Poultry Science Symopse, Sydney, p. 31-40, 2013.

ARAUJO, J. A.; VILAR DA SILVA, J. H.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, M. R.; LIMA, C. B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasileira**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.

BAO, Y. M.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A. J. Functional patterns of exogenous enzymes in different feed ingredients. **World's Poultry Science Journal**, v.69, p.759-774, 2013.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2ª ed. Wiltshire/UK: Columns Design, 2011, 319.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYPER, L. **Bioquímica**. 7ª ed. Rio da Janeiro/RJ: Guanabara Koogan, 2014, 1298p.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.975-981, 2003.

BUENO, L.; ROSSI, L. A. Comparação entre tecnologias de climatização para criação de frangos quanto a energia, ambiência e produtividade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.2, p.497-504, 2006.

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

CAHANER, A. Breeding fast-growing, high-yield broilers for hot conditions. IN: Daghir, N. J **Poultry production in hot climates**. 2.ed. Cambridge: CAB International p.30-48 , 2008.

CARVALHO, F. B.; SARTORI, J.R.; STRINGHINI, J. H., FASCINA, V.B.; PEREIRA, L.A.; PELÍCIA, V.C. Efeito da temperatura ambiente e da idade do frango de corte sobre o valor energético do farelo de soja. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1437-1455, 2011.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica: ilustrada**. 4ª ed: Porto Alegre/RS, 2009. 528p.

CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p.5-16, 2006

FISCHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.402-410, 2002.

FREITAS, D. M.; VIEIRA, S. L.; ANGEL, R.; FAVERO, A.; MAIORKA, A. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component

protease. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.20, p.322-334, 2011.

FRU-NJI, F. et al. A feed serine protease improves broiler performance and increases protein and energy digestibilidade. **Journal of Poultry Science**, v.48, p.239-246, 2011.

FERNANDES, G.A.; FERNANDES, F. F. D.; MOUSQUER, C. J. Nutrição de frangos de corte adequada a regiões de clima quente. **Revista Eletrônica Nutritim**, v.11, n.01, p.3045-3069, 2014.

FURLAN, R. L., MACARI, M. Termorregulação. IN: MACARI, M.; FURLAN, R.L., GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 209-230, 2002.

GERAERT, P. A.; PADILHA, J. C. F.; GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. **British Journal of Nutrition**, v.75, p. 195-204, 1996.

GLITSØ, V.; PONTOPPIDAN, K.; KNAP, I.; WARD, N. Catalyzing Innovation: Development of a Feed Protease. **Industrial Biotechnology**, v.8, n.4, p.172-175, 2012.

KIARIE, E.; ROMERO, L. F.; NYACHOTI, C. M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v.26, p.71-88, 2013.

KRABBE, E. L.; LORANDI, S. Atualidades e tendências no uso de enzimas na nutrição de aves. In: VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal. São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro, SP: CBNA, 2014.

LEHNINGER, D. N.; COX, M. M. **Princípios da Bioquímica de Lehninger**. 6ª ed. São Paulo: ARTMED, 2014, 1298p.

LEITE, P. R. S. C.; MENDES, F. R.; PEREIRA, M. L. R.; LACERDA, M. J. R. Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, p.1138-1157, 2012.

LIMA, A.C.F.; MACARI, M.; PIZAURO JÚNIOR, J.M.; MALHEIROS, E.B. Atividade enzimática pancreática de frangos de corte alimentados com dietas contendo enzima ou probiótico. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.187-193, 2002.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; MAIORKA, A. Aspectos fisiológicos e de manejo para manutenção da homeostase térmica e controle de síndromes metabólicas. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. (Eds.). **Produção de frangos de corte**. 1.ed. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.137-155, 2004.

MARSMAN, G.J.P.; GRUPPEN, H.; VAN DER POEL, A.F.B.; KWAKKEL, R. P.; VERSTEGEN, M.W.A.; VORAGEN, A.G.J. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**, v.76, n.6, p.864-872,1997.

NUNES, R. V.; POZZA, P. C.; NUNES, C. G. V.; CAMPESTRINI, E.; KÜHL, R.; ROCHA, L. D.; COSTA, F. G. P. Valores energéticos de subprodutos de origem animal para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1217-1224, 2005.

OLIVEIRA NETO, A. R.; OLIVEIRA, R F M; DONZELE J. L.; ROSTAGNO, H.S.; FERREIRA, R. A.; MAXIMIANO, H.C.; GASPARINO, E. Efeito da temperatura ambiente sobre o desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.183-190,2000.

OLIVEIRA, P. B.; MURAKAMI, A. E.; GARCIA, E. R.M.; MACARI, M.; SCAPINELLO, C. Influência de fatores antinutricionais da leucena (*Leucaena leucocephala* *Leucaenacunningan*) e do feijão guandu (*Cajanus cajan*) sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**; v.29, n.6,

p.1759- 1769, 2000.

OPALINSKI, M.; MAIORKA, A ; CUNHA, F.; MARTINS DA SILVA, E.C. ; BORGES, S.A. Adição de níveis crescentes de complexo enzimático em rações com soja integral desativada para frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.3, p.31-35, 2006.

RAO, M. B. et al. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, p.597-635, 1998.

RAVINDRAN, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **Applied Poultry Researches**, v.22, n.3, p.628-639, 2013.

RITZ, C. W.; HULET, R. M.; SELF, B. B.; DENBOW, D. M. Effects of protein level and enzyme supplementations upon growth and rate of digesta passage of male turkeys. **Poultry Science**, v.74, n.8, p.1323-1328, 1995.

ROSTAGNO, H.S. et al. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. 4.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.448, 2017.

RUTZ, F. Proteínas: Digestão e Absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, B. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. Jaboticabal: Funep, 2002, 375p.

SMITH, A. Using proteases in broiler diets - careful selection is key. **International Poultry Production**, v.19, p.15-17, 2011.

SOUZA, L.F.A., ESPINHA, L.P., SOUZA, M.G. et al. Exposição crônica e cíclica ao calor sobre a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Anais... Prêmio Lamas**, 2011.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T. ; ROSTAGNO, H. S.; LIMA, C. A. R.; VIEITES, F.M.. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e

farelo de soja sobre a digestibilidade ideal de nutrientes; **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.809-816,2001.

TEMIM, S.; CHAGNEAU, A.M.; GUILLAUMMIN, S. et al. Does excess dietary protein improve growth performance and carcass characteristics in heat-exposed chickens? **Poultry Science**, v.79, n.3, p.312-317, 2000.

TINÔCO, I.F.F. Ambiência e instalações para a avicultura industrial. In: ENCONTRO NACIONAL DE TÉCNICOS, PESQUISADORES E EDUCADORES DE CONSTRUÇÕES RURAIS, 3., Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 1998. p.1-86.

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

OXENBOLL, K. M.; PONTOPPIDAN, K.; FRU-NJI, F. Use of a protease in poultry feed offers promising environmental benefits. **International Journal of Poultry Science**, v.10, n.11, p.842-848, 2011.

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Publicações. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>, Acesso em: 03/07/2016. 2016.

VIEIRA, S. L.; ANGEL, C. R.; MIRANDA, D. J. A.; FAVERO, A.; CRUZ, R. F. A.; SORBARA, J. O. B. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 1- to 26-day-of-age turkey poults. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.4, p.680-688, 2013.

WANG, J. J.; GARLICH, J. D.; SHIH, J. C. H. Beneficial effects of Versazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.15, n.4, p.544-550, 2006.

CAPÍTULO II

Efeito da temperatura ambiente e suplementação da dieta com protease no desempenho e utilização de nutrientes em frangos de corte

1. RESUMO

Avaliou-se o efeito da suplementação de protease na digestibilidade e desempenho de frangos de corte em ambiente termoneutro e estresse cíclico pelo calor. Foram utilizados 320 pintos machos Cobb de um dia distribuídos casualmente em esquema fatorial 2x2x2 [ambiente termoneutro ou ambiente quente x dieta atendendo as exigências nutricionais (controle positivo, CP) ou reduzida 6% em proteína bruta e aminoácidos (controle negativo, CN) x protease: 0 ou 200ppm] com 8 repetições. De 1 a 7 dias de idade, a conversão alimentar (CA) foi melhor em frangos CN quando em ambiente termoneutro, e quando em ambiente quente, a CA melhorou com a dieta CP. Frangos em ambiente termoneutro apresentaram melhor CA e maior ganho de peso no período de 1 a 14 dias. Maior consumo de ração e ganho de peso foram observados em frangos mantidos em ambiente termoneutro nos períodos de 1 a 21 dias e 1 a 35 dias de idade. No período de 1 a 35 dias de idade houve interação entre dieta e protease, sendo que frangos que receberam dietas CP apresentaram melhor CA quando receberam protease. Frangos que receberam protease melhoraram a conversão alimentar quando consumiram CP comparados aos que receberam CN. A suplementação de protease favoreceu balanço de nitrogênio, coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta e da matéria seca e a energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio em frangos de corte em ambiente quente com dieta controle positivo. Concluindo, o estresse pelo calor prejudica o desempenho dos frangos de corte e dietas com valorização de proteína e aminoácidos (CN) pioram a conversão alimentar. A suplementação de protease (200ppm) em dietas sem valorização da proteína e aminoácidos (CP) melhora a conversão alimentar dos frangos de corte no período de 1 a 35 dias de idade. A suplementação de protease (200 ppm) melhora os valores de energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio em dietas com níveis reduzidos de proteína e aminoácidos (CN) para frangos criados em temperatura termoneutra, assim como, melhora a metabolizabilidade da proteína bruta, da matéria seca e da energia em dietas com níveis recomendados de proteína e aminoácidos (CP) em ambiente quente.

Palavras-chave: avicultura, aditivos, enzimas, fatores antinutricionais, alimentação.

Effects of environmental temperature and diet supplementation with protease on growth performance and nutrient utilization by broilers

ABSTRACT

The objective of the current study was to evaluate the effects of protease supplementation on diet digestibility and growth performance of broilers raised under thermoneutral condition and cyclic heat stress. In a 2x2x2 factorial system [thermoneutral condition or heat stress vs. diets formulated to meet nutritional (positive control, PC) or diets with crude protein and amino acids below requirements by 6% (negative control, NC) x Protease: 0.200ppm], 320 one-day-old male Cobb broilers were distributed in 8 replicates. From 1 to 7 days of age, feed conversion ratio (FCR) was better in thermoneutral condition, and in heat stress, feed conversion ratio (FCR) was better when consume PC. Broilers in thermoneutral environment presented best FCR and greater weight gain during the period from 1 to 14 days. Increased feed consumption and weight gain were observed in broilers kept in thermoneutral environment in periods of 1 to 21 days and 1 to 35 days old. During the period from 1 to 35 days of age there was interaction between diet and protease, and broilers that were given diets CP presented best FCR when they received protease. Broilers receiving protease improved feed conversion when consumed PC compared to those receiving NC. Protease supplementation favored nitrogen balance, metabolizable crude protein, dry matter, apparent metabolizable energy and nitrogen-corrected apparent metabolizable energy in broiler chickens in heat stress with positive control diet. In conclusion, heat stress impairs the performance of broiler chickens and diets with crude protein and amino acids below requirements (NC) impairs feed conversion. Protease supplementation (200ppm) in diets with protein and amino acids (PC) improves the feed conversion of broiler chickens from 1 to 35 days of age. Protease supplementation (200ppm) improves the apparent metabolizable energy and nitrogen-corrected apparent metabolizable energy in diets with reduced levels of protein and amino acids (NC) for broilers in thermoneutral temperature, as well as improving the metabolizability of crude protein, dry matter and energy in diets with recommended levels of protein and amino acids (PC) in heat stress.

Key words: poultry, additives, enzymes, antinutritional factors, feeding.

2. INTRODUÇÃO

Estima-se que até 2038 a população humana chegue a 9 bilhões, e com o rápido desenvolvimento urbano e as economias dos países em desenvolvimento, melhorando a renda dos seus habitantes, isso irá gerar aumento no consumo de carne (ANTIPATIS et al., 2013). Durante as últimas décadas a produção industrial de frango de corte se desenvolveu de forma expressiva no agronegócio brasileiro e, no ano de 2015, a produção do Brasil superou 13,1 milhões de toneladas, assumindo o segundo lugar da produção mundial e maior exportador deste tipo de carne (UBABEF, 2016).

A alimentação dos frangos é o componente que mais onera o custo de produção. A suplementação com enzimas específicas pode tornar a produção mais rentável, pois ajuda a decompor fatores antinutricionais, aumenta a digestibilidade de nutrientes e, assim, melhora o valor nutricional dos ingredientes da ração (BEDFORD & PARTRIDGE, 2011). As proteases exógenas em dietas de frangos de corte atuam promovendo maior digestibilidade dos ingredientes, aumentando a hidrólise de frações proteicas da dieta e melhorando a utilização do nitrogênio, contribuindo com a melhora do valor nutricional dos alimentos, desempenho e rendimento de carcaça. Assim, é possível reduzir o teor energético, de aminoácidos essenciais ou proteína total da dieta, que além de tornar as rações mais eficientes, promove diminuição na excreção de nitrogênio (WANG et al., 2006; OXENBOLL et al., 2011). De acordo com Krabbe & Lorandi (2014), as pesquisas com protease se intensificaram nos últimos anos e, devido aos resultados obtidos, é possível que seu uso seja ampliado em dietas a base de milho e farelo de soja.

O estresse térmico afeta negativamente o consumo de alimento, a digestão e absorção de nutrientes, o metabolismo e promove diminuição do desempenho e aumento da mortalidade (Geraert et al., 1996).

Geraert et al. (1996) observaram que a exposição por calor gerou redução no crescimento maior do que a redução do consumo de ração, resultando a diminuição da conversão alimentar. O estresse por calor pode prejudicar o desempenho como a redução da taxa de crescimento, conversão alimentar e proporção de músculo do peito e aumento da proporção de gordura abdominal (TEMIM et al., 2000).

O melhoramento genético tem importância nos avanços da avicultura, porém devido às mudanças metabólicas, as aves aumentaram sua sensibilidade ao estresse por altas temperaturas, gerando grandes perdas econômicas (SOUZA et al., 2011). Com objetivo de manter a temperatura e reduzir a produção de calor metabólico, as aves submetidas a altas temperaturas diminuem o consumo de alimento e a eficiência digestiva e, conseqüentemente, reduzem a disponibilidade de nutrientes para o metabolismo, resultando em menor taxa de crescimento (ABU-DIEYEH, 2006;

FERNANDES et al., 2014).

Estudos com suplementação de enzimas exógenas em dietas de frangos de corte são, em sua maioria, realizados com misturas de enzimas incluindo muitas vezes protease. Em função disto, existe a necessidade de mais estudos para se analisar a atividade particular desta enzima (VIEIRA et al., 2013). Assim, o presente estudo avaliou o efeito da suplementação de protease na digestibilidade da dieta e no desempenho de frangos de corte criados em ambiente de termoneutralidade e estresse cíclico pelo calor.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, nas câmaras climatizadas do Laboratório de Nutrição de Aves. Todos os procedimentos experimentais utilizados na presente pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais desta instituição (protocolo nº098/2015), estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 320 pintos de corte machos da linhagem Cobb, com um dia de idade, vacinados contra doenças de Gumboro, Bouda aviária e Marek e distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x2 (duas temperaturas ambientais: termoneutralidade e estresse cíclico pelo calor; dois níveis nutricionais das dietas: atendimento de 100% e de 94% das exigências nutricionais de proteína bruta, lisina, metionina, metionina+cistina, treonina, triptofano, arginina, valina, isoleucina e leucina; e dois níveis de adição de protease: 0 e 200 ppm), totalizando 8 tratamentos com 8 repetições de 5 aves cada.

Dietas

As dietas basais foram formuladas à base de milho e farelo de soja, seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2011) para frangos de corte machos de desempenho superior e nas fases pré-inicial (0 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias) e crescimento (22 a 35 dias de idade), conforme mostrado nas tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. As dietas com redução dos níveis nutricionais foram formuladas seguindo as mesmas recomendações, porém com o nível proteico e dos aminoácidos lisina, metionina, metionina+cistina, treonina, triptofano, arginina, valina, isoleucina e leucina reduzidos em até 6% da

recomendação para todas as fases. Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período de criação.

Tabela 1. Composição centesimal (g/kg) e nutricional calculadas das dietas experimentais

Ingredientes (g/kg)	Pré-inicial		Inicial		Crescimento	
	s/ matriz	c/ matriz	s/ matriz	c/ matriz	s/ matriz	c/ matriz
Milho	543,830	563,270	591,860	610,200	617,500	634,670
Farelo de soja	388,270	372,540	347,700	332,920	315,090	301,350
Óleo	23,060	19,950	21,630	18,710	31,360	28,660
Fosfato bicálcico	19,020	19,150	15,030	15,140	12,630	12,730
Calcário calcítico	9,140	9,140	9,300	9,300	8,660	8,660
Sal (NaCl)	4,290	4,300	4,050	4,050	3,810	3,810
DL-metionina	3,510	3,190	2,880	2,590	2,570	2,270
L-lisina	2,640	2,600	2,200	2,130	2,190	2,090
Bicarbonato de sódio	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Inerte ³	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
L-treonina	0,970	0,640	0,550	0,230	0,390	0,050
L-valina	0,670	0,620	0,200	0,130	0,160	0,070
Cloreto de colina	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600
Suplemento vitamínico ⁴	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500
Suplemento mineral ⁵	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Carofil	0,000	0,000	0,000	0,000	0,040	0,040
Composição Nutricional Calculada						
Energia metabolizável	2950,00	2950,00	3000,00	3000,00	3100,00	3100,00
Proteína bruta (%)	22,40	21,79	20,80	20,22	19,50	18,95
Fibra bruta (%)	3,00	2,95	2,87	2,82	2,74	2,70
Cálcio (%)	0,92	0,92	0,82	0,82	0,73	0,73
Fósforo disp. (%)	0,47	0,47	0,39	0,39	0,34	0,34
Lisina dig. (%)	1,31	1,27	1,18	1,14	1,10	1,06
Metionina dig. (%)	0,64	0,61	0,57	0,53	0,52	0,49
AAS dig. (%)	0,94	0,90	0,85	0,81	0,79	0,75
Treonina dig. (%)	0,85	0,80	0,76	0,71	0,70	0,65
Triptofano dig. (%)	0,25	0,24	0,23	0,22	0,21	0,21
Arginina dig. (%)	1,42	1,37	1,30	1,26	1,21	1,17
Valina dig. (%)	1,01	0,98	0,90	0,87	0,84	0,81
Isoleucina dig. (%)	0,88	0,85	0,81	0,79	0,75	0,73
Leucina dig. (%)	1,73	1,70	1,64	1,61	1,56	1,53
Glicina+Serina dig. (%)	1,87	1,82	1,74	1,69	1,62	1,58
Potássio (%)	0,87	0,85	0,81	0,79	0,76	0,74
Sódio (%)	0,22	0,22	0,21	0,21	0,20	0,20
Cloro (%)	0,31	0,31	0,29	0,29	0,28	0,28
Ácido linoleico (%)	2,63	2,48	2,61	2,47	3,15	3,03
Gordura (%)	4,94	4,67	4,90	4,65	5,91	5,68
Amido (%)	38,88	39,91	41,39	42,36	42,66	43,57

¹ Níveis nutricionais preconizados por Rostagno et al. (2011).

² Redução de 6% da recomendação para os níveis de proteína bruta e dos aminoácidos lisina, metionina, metionina+cistina, treonina, triptofano, arginina, valina, isoleucina e leucina.

³ Inerte: a adição de 0,200 g/kg da enzima protease foi adicionada substituindo o inerte, de acordo com os tratamentos.

⁴ Suplemento Vitamínico (níveis de garantia/kg de ração): Vitamina A (mín) 13.500 U.I., Vitamina D3 (mín) 3.750 U.I., Vitamina E (mín) 30 U.I., Vitamina K3 (mín) 3,75 mg, Vitamina B1 (mín) 3 mg, Vitamina B2 (mín) 9 mg, Ácido pantotênico (mín) 18 mg, Vitamina B6 (mín) 4,5 mg, Vitamina B12 (mín) 22,5 µg, Ácido Nicotínico (mín) 52,5 mg, Ácido Fólico (mín) 2,25 mg, Biotina (mín) 0,15 mg, Selênio (mín) 0,375 mg.

⁵ Suplemento Mineral (níveis de garantia/kg de ração): Ferro (mín) 50 mg, Cobre (mín) 10 mg, Manganês (mín) 65 mg, Cobalto (mín) 1 mg, Zinco (mín) 65 mg, Iodo (mín) 1 mg.

Temperaturas das câmaras

As aves foram alojadas em duas câmaras climatizadas contendo 32 gaiolas cada, com dimensões de 0,60 x 0,50 x 0,45 m, equipadas com bebedouro do tipo *nipple* e comedouros frontais do tipo calha.

As temperaturas das câmaras foram reguladas para promover condições de termoneutralidade, conforme manual da linhagem (Cobb, 2008) preconizadas para cada fase de vida e, condições de estresse cíclico pelo calor (12 horas de calor por dia), conforme demonstradas na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2. Temperaturas preconizadas para cada fase de criação.

Idade das aves (dias)	Temperatura termoneutra (°C) ¹	Temperatura durante estresse (°C) ²
1 a 3	33	36
4 a 7	32	34
8 a 14	30	33
15 a 21	28	32
22 a 27	26	31
28 a 35	23	30

¹ Adaptado do manual da linhagem (COBB, 2008). ² Estresse cíclico por calor, sendo 2 horas para atingir a temperatura desejada 8 de estresse constante e 2 horas para reduzir a temperatura para termoneutralidade.

Diariamente foi realizado o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar às 8, 14 e 18 horas, por meio de conjuntos de termômetros de máxima e mínima temperatura, bulbo seco e bulbo úmido e de globo negro. As temperaturas foram posteriormente convertidas a THI segundo Thom (1958). O programa de luz foi de 24 horas de luz artificial.

Protease

A enzima utilizada (RONOZYME ProAct® - DSM) foi produzida por fermentação a partir de *Bacillus licheniformes* contendo genes transcritos de *Nocardiopsis prasina*. A atividade desta protease é medida em unidades PROT, sendo uma unidade definida como a quantidade para liberar 1 µmol de p-nitroanilina a partir de 1 µM de substrato (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-p-Nitroanilina) por minuto em pH 9,0 e 37°C. Essa protease comercial foi adicionada às dietas para proporcionar 15.000 PROT/kg de dieta (200ppm).

Características Avaliadas

Desempenho:

As aves foram pesadas aos 0, 7, 14, 21 e 35 dias de idade, bem como as rações utilizadas e as sobras, para cálculo do ganho de peso, do consumo de ração, que foi

corrigido pelo número médio de aves no período e da conversão alimentar, que foi corrigida pelo peso das aves mortas no período.

A mortalidade foi registrada diariamente e as aves mortas foram pesadas para cálculo de correção do consumo de ração e da conversão alimentar.

O fator de produção foi calculado aos 35 dias de idade pela multiplicação do ganho de peso médio diário pela viabilidade, divididos pela conversão alimentar, e então multiplicados por 100.

Coleta total de excretas:

Após a troca da dieta inicial pela de crescimento aos 21 dias de idade, foram considerados quatro dias de adaptação à nova dieta (22 a 25 dias de idade) e cinco dias de coleta total de excreta (26 a 30 dias de idade). As bandejas sob as gaiolas foram previamente revestidas com plástico e as excretas coletadas duas vezes ao dia (às 8 e 17 horas). Para definir o início e o final do período de coleta foi adicionado 1,0% de óxido férrico às rações e as excretas que estavam marcadas foram coletadas no início e desprezadas no final deste período. Uma vez coletadas, as excretas foram acondicionadas em um único saco plástico, identificadas por repetição (gaiola) e mantidas em congelamento. No final do ensaio metabólico foram determinadas as quantidades de ração consumida e o total de excretas para cada repetição.

Após o descongelamento à temperatura ambiente, as excretas das aves de cada uma das repetições (gaiolas) foram homogeneizadas e foi retirada uma amostra de aproximadamente 500 g por repetição, para secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas a fim de se proceder a pré-secagem para determinação matéria seca ao ar. Posteriormente foram moídas em moinho tipo faca, com peneira de 1 mm de diâmetro de furo e analisadas no Laboratório de Bromatologia da UNESP - FMVZ, Botucatu juntamente com as amostras das dietas experimentais.

Nas amostras de excretas e ração, os teores de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) foram avaliados segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). Os teores de energia bruta das rações e excretas foram analisados por meio de bomba calorimétrica, modelo Ika Works C-2000 Basic.

Determinação dos coeficientes de metabolizabilidade e energia metabolizável:

Com base nos resultados das análises bromatológicas foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CDMS), da proteína (CDPB) e da energia (CDAEB) das dietas:

Coeficiente de metabolizabilidade aparente, % = $[\text{ingerido, g} - (\text{excretado, g}) / (\text{ingerido, g})] \times 100$

g)] x 100

A partir dos valores de EB das dietas e excretas, foram calculadas a energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) utilizando-se as equações propostas por Matterson et al.(1965):

EMA, kcal/kg MS (rações teste) = (EB ingerida – EB excretada)/MS ingerida

EMAn (rações teste, kcal/kg MS) = {[EB ingerida – [(EB excretada - 8,22 x BN] / MS ingerida]}

BN (balanço de nitrogênio) = N ingerido – N excretado

4. RESULTADOS

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados de desempenho dos frangos de corte no período de 1 a 7 dias de idade. Não houve efeito de temperatura, dieta e protease ($P>0,05$) e nem interação destes fatores para as variáveis de desempenho neste período, exceto para a conversão alimentar, na qual houve interação entre temperatura e dieta ($P<0,05$).

Tabela 3. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 7 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	PC7 ²	GPD7 ³	CR7 ⁴	CA7 ⁵
TN			138,00	13,18	112,88	1,226
TQ			135,78	12,90	120,66	1,345
	CP		137,78	13,19	114,73	1,246
	CN		136,00	12,90	118,81	1,325
		0	135,41	12,83	116,03	1,294
		200	138,38	13,26	117,51	1,277
VALOR P						
TEMP ¹			0,446	0,494	0,068	0,003
DIETA			0,541	0,475	0,334	0,042
PROTEASE			0,309	0,298	0,725	0,662
TEMP*DIETA			0,319	0,284	0,202	0,006
TEMP*PROTEASE			0,182	0,138	0,699	0,232
DIETA*PROTEASE			0,707	0,593	0,515	0,141
TEMP*DIETA*PROTEASE			0,330	0,314	0,546	0,632
TEMP ¹	TN	CP				1,241Aa
X	TN	CN				1,211Ab
DIETA	QU	CP				1,251Ba
	QU	CN				1,439Aa

¹TEMP = temperatura; ²PC7 = peso final aos 7 dias de idade(g); ³GPD7 = ganho de peso diário aos 7 dias de idade (g); ⁴CR7 = consumo de ração aos 7 dias de idade (g); ⁵CA7 = conversão alimentar aos 7 dias de idade. CP= Controle positivo; CN = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente.

^{a,b} Médias seguidas por letras minúscula distintas na coluna para cada fator, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{A,B} Nas interações, médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem para dieta dentro do mesmo ambiente, pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{a,b} Nas interações, médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem quanto ao ambiente dentro da mesma dieta, pelo teste F a 5% de probabilidade.

A maior densidade nutricional compensou a influência desfavorável do estresse térmico. A elevação da temperatura provocou piora ($P < 0,05$) na conversão alimentar, sendo mais pronunciado na dieta controle negativo do que no controle positivo. A dieta controle positivo favoreceu ($P < 0,05$) a conversão alimentar, sendo esse efeito mais pronunciado no ambiente quente do que em termoneutro. A conversão alimentar mais desfavorável (1,439) foi observada quando as aves foram submetidas ao ambiente quente com dietas controle negativo (Tabela 3).

Na Tabela 4 são mostrados os resultados de desempenho dos frangos de corte no período de 1 a 14 dias de idade. Não houve interação ($P > 0,05$) entre os fatores e nem efeito isolado de dieta e protease para as variáveis de desempenho dos frangos de corte a partir deste período. Porém, houve efeito ($P > 0,05$) da temperatura ambiente, sendo que os frangos mantidos em temperatura neutra apresentaram maior peso final, ganho de peso diário e melhor conversão alimentar em comparação aos frangos criados em ambiente quente. Fica evidente, que a temperatura é o fator mais importante dos três estudados nesse planejamento, e o segundo mais importante é a protease.

Tabela 4. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 14 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	PC14 ²	GPD14 ³	CR14 ⁴	CA14 ⁵	Mort14 ⁶
TN			407,57a	25,85a	464,17	1,289b	0,63
QU			388,79b	24,52b	460,41	1,348a	0,00
	CP		398,33	25,20	457,99	1,304	0,63
	CN		398,03	25,17	466,59	1,333	0,00
		0	394,16	24,90	458,04	1,321	0,63
		200	402,20	25,47	466,54	1,317	0,00
VALOR P							
TEMP ¹			0,043	0,045	0,703	0,013	0,322
DIETA			0,973	0,951	0,386	0,213	0,322
PROTEASE			0,379	0,377	0,391	0,876	0,322
TEMP*DIETA			0,358	0,347	0,978	0,096	0,322
TEMP*PROTEASE			0,113	0,103	0,443	0,086	0,322
DIETA*PROTEASE			0,869	0,905	0,755	0,709	0,322
TEMP*DIETA*PROTEASE			0,258	0,254	0,447	0,481	0,322

¹TEMP = temperatura; ²PC14 = peso final aos 14 dias de idade(g); ³GPD14 = ganho de peso diário aos 14 dias de idade (g); ⁴CR14 = consumo de ração aos 14 dias de idade (g); ⁵CA14 = conversão alimentar aos 14 dias de idade; ⁶Mort14 = mortalidade aos 14 dias de idade (%). CP= Controle positivo; CN = controle negativo. TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente.

^{a,b}Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna para cada fator, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados de desempenho dos frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Houve efeito ($P < 0,05$) da temperatura no desempenho dos frangos de corte durante este período. Frangos mantidos em temperatura neutra apresentaram maior peso final, ganho de peso diário e consumo de ração em comparação aos frangos criados em ambiente quente (Tabela 5). A

suplementação com protease favoreceu discretamente a conversão alimentar em condições de termoneutralidade e piorou discretamente em condição de estresse. Há uma discreta melhora da conversão alimentar em dietas sem suplementação de protease quando a condição ambiental passa de termoneutro para quente e há piora acentuada quando há suplementação com protease e a condição ambiental passa de termoneutro para quente (Tabela 5). A melhor conversão (1,312) foi constatada em ambiente termoneutro com suplementação de protease e a pior (1,364) foi em ambiente quente e com suplementação de protease (Tabela 5).

Tabela 5. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	PC21 ²	GPD21 ³	CR21 ⁴	CA21 ⁵	Mort21 ⁶
TN			903,85a	40,86a	1122,25a	1,326	2,50
QU			847,31b	38,18b	1073,87b	1,349	0,63
	CP		876,82	39,59	1092,11	1,329	1,88
	CN		874,34	39,46	1104,01	1,346	1,25
		0	865,92	39,06	1089,43	1,337	1,25
		200	885,24	39,98	1106,68	1,338	1,88
Valor de P							
TEMP ¹			0,002	0,002	0,016	0,126	0,173
DIETA			0,884	0,873	0,542	0,240	0,647
PROTEASE			0,259	0,259	0,377	0,953	0,647
TEMP*DIETA			0,677	0,670	0,819	0,132	0,173
TEMP*PROTEASE			0,131	0,126	0,444	0,046	0,647
DIETA*PROTEASE			0,845	0,865	0,422	0,571	0,647
TEMP*DIETA*PROTEASE			0,500	0,499	0,262	0,521	0,173
	TEMP	TN	0			1,340Aa	
	X	TN	200			1,312Ab	
	PROTEASE	QU	0			1,333Aa	
		QU	200			1,364Aa	

¹TEMP = temperatura; ²PC21 = peso final aos 21 dias de idade(g); ³GPD21 = ganho de peso diário aos 21 dias de idade (g); ⁴CR21 = consumo de ração aos 21 dias de idade (g); ⁵CA21 = conversão alimentar aos 21 dias de idade; ⁶Mort21 = mortalidade aos 21 dias de idade (%).CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente.

^{a,b}Médias seguidas por letras minúscula distintas na coluna para cada fator, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{A,B} Nas interações, médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem para protease dentro do mesmo ambiente, pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{a,b} Nas interações, médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem quanto ao ambiente dentro do mesmo nível de protease, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Na Tabela 6 são mostrados os resultados de desempenho dos frangos de corte no período de 1 a 35 dias de idade. Não houve efeito de temperatura, dieta e protease ($P>0,05$) e nem interação entre estes fatores para mortalidade dos frangos de corte neste período. Houve efeito ($P>0,05$) da temperatura para peso final, ganho de peso diário e consumo de ração. Os frangos mantidos em termoneutralidade apresentaram maiores resultados quando comparados com os criados em ambiente quente.

Houve interação ($P>0,05$) entre dieta e protease para conversão alimentar. No desdobramento da interação, quando comparados a mesma dieta e diferentes níveis de protease, os frangos de corte que receberam dieta controle positivo apresentaram melhor

conversão alimentar quando receberam 200 ppm de protease. Quando comparados os frangos de corte que receberam ou não protease na dieta CP, os que receberam o nível de 200ppm apresentaram melhor conversão alimentar. Desta forma, a suplementação de 200 ppm da enzima protease favorece a conversão alimentar de frangos alimentados com dietas controle positivo, no período de 1 a 35 dias de idade (Tabela 6). A melhor conversão alimentar foi obtida com o uso da dieta controle positivo e com suplementação de protease.

Tabela 6. Resultados de desempenho de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	PC35 ²	GPD35 ³	CR35 ⁴	CA35 ⁵	Mort35 ⁶
TN			2107,08a	58,90a	3098,36a	1,517	2,50
QU			1917,57b	53,49b	2814,51b	1,519	3,13
	CP		2033,33	56,80	2952,36	1,502	3,75
	CN		1991,32	55,59	2960,51	1,534	1,88
		0	1988,27	55,51	2945,30	1,528	1,88
		200	2036,38	56,88	2967,56	1,508	3,75
Valor de P							
TEMP ¹			0,000	0,000	0,000	0,906	0,727
DIETA			0,148	0,146	0,852	0,005	0,298
PROTEASE			0,099	0,099	0,611	0,079	0,298
TEMP*DIETA			0,735	0,731	0,762	0,324	0,727
TEMP*PROTEASE			0,206	0,203	0,163	0,993	0,298
DIETA*PROTEASE			0,808	0,797	0,428	0,033	0,727
TEMP*DIETA*PROTEASE			0,152	0,152	0,085	0,214	0,298
	DIETA	CP	0			1,524Aa	
	X	CP	200			1,481Bb	
	PROTEASE	CN	0			1,532Aa	
		CN	200			1,536Aa	

¹TEMP = temperatura; ²PC35 = peso final aos 35 dias de idade(g); ³GPD35 = ganho de peso diário aos 35 dias de idade (g); ⁴CR35 = consumo de ração aos 35 dias de idade (g); ⁵CA35 = conversão alimentar aos 35 dias de idade; ⁶Mort35 = mortalidade aos 35 dias de idade (%). CP= Controle positivo; CN = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente.

^{a,b} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna para cada fator, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{A,B} Nas interações, médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem para nível de protease dentro da mesma dieta, pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{a,b} Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem quanto à dieta dentro do nível de protease, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Na tabela 7 estão representados os resultados do ensaio de metabolizabilidade em frangos de corte aos 35 dias de idade. Houve interação ($P < 0,05$) entre temperatura e protease e interação entre dieta e protease para proteína metabolizável da matéria natural (PDMN). No desdobramento da interação entre temperatura e protease, quando comparados no mesmo ambiente, frangos mantidos em ambiente quente que receberam 200 ppm de protease apresentaram menor proteína metabolizável na matéria natural do que os que não receberam proteases. Analisando os resultados obtidos dos frangos de corte que receberam o mesmo nível de protease em ambientes diferentes, frangos criados no ambiente termoneuro com ou sem protease apresentaram menores valores de proteína metabolizável na matéria natural (Tabela 7) quando comparados aos do ambiente

quente.

Tabela 7. Resultados do ensaio de metabolizabilidade (coleta total de excretas) em de frangos de corte aos 35 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	BN	CDPB	CDMS	EMAMN	PDMN	CDAEB	EMAnMN
TN			71,57	71,57	76,74	3241,4	13,0	79,86	3047,94
QU			74,61	74,61	77,78	3265,6	13,8	80,72	3061,28
	CP		74,16	74,16	77,55	3253,6	13,7	80,67	3051,68
	CN		72,14	72,14	77,01	3253,4	13,1	79,94	3058,30
		0	73,35	73,35	77,14	3245,7	13,53	80,15	3045,32
		200	72,99	72,99	77,43	3262,9	13,35	80,46	3064,24
Valor de P									
TEMP ¹			0,000	0,000	0,001	0,025	0,000	0,002	0,210
DIETA			0,004	0,004	0,088	0,987	0,000	0,009	0,397
PROTEASE			0,721	0,721	0,241	0,081	0,161	0,180	0,035
TEMP*DIETA			0,145	0,145	0,002	0,000	0,400	0,006	0,000
TEMP*PROTEASE			0,022	0,022	0,134	0,045	0,019	0,090	0,097
DIETA*PROTEASE			0,008	0,008	0,017	0,144	0,000	0,028	0,453
TEMP*DIETA*PROTEASE			0,004	0,004	0,000	0,000	0,875	0,000	0,000
TEMP	N	0					12,98Ab		
X	N	200					13,10Ab		
PROTEASE	Q	0					14,00Aa		
	Q	200					13,53Ba		
	CP	0					13,51Ba		
DIETA	CP	200					13,90Aa		
X	CN	0					13,48Aa		
PROTEASE	CN	200					12,74Bb		

¹TEMP = temperatura ; CP= Controle positivo; CN = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; BN = balanço de nitrogênio (%); CDPB = coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (%); CDMS = coeficiente da metabolizabilidade da matéria seca (%); EMAMN = Energia metabolizável aparente da matéria natural (kcal/kg); PDMN = proteína metabolizável na matéria natural (%); CDAEB = Coeficiente de metabolizabilidade aparente da energia bruta (%); EMAnMN = Energia metabolizável aparente da matéria natural corrigida pelo nitrogênio (kcal/kg).

^{a,b}Médias seguidas por letras minúscula distintas na coluna para cada fator, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

^{A,B} Nas interações, médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem para nível de protease dentro do mesmo ambiente ou da mesma dieta, pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{a,b} Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem quanto ao ambiente ou à dieta dentro do nível de protease, pelo teste F a 5% de probabilidade.

No desdobramento da interação ($P < 0,05$) dieta e protease, comparando os resultados obtidos de frangos de corte que foram alimentados com a mesma dieta e diferentes níveis de protease, os que receberam dieta CP apresentaram maior valor de proteína metabolizável na matéria natural quando receberam 200 ppm de protease, porém na dieta CN frangos com 200ppm de protease na dieta apresentaram menor valor. Quando comparados diferentes dietas no mesmo nível de protease, frangos que receberam 200ppm de protease apresentaram maior valor de proteína metabolizável quando receberam dieta controle positivo (Tabela 7).

Na tabela 8 estão apresentados os resultados da interação entre temperatura, dieta e inclusão de protease para o balanço de nitrogênio (BN), coeficiente de

metabolizabilidade da proteína bruta (CMPB), coeficiente da metabolizabilidade na matéria seca (CDMS), energia metabolizável aparente da matéria natural (EMAMN), coeficiente de metabolizabilidade aparente da energia bruta (CDAEB) e energia metabolizável aparente da matéria natural corrigida pelo nitrogênio (EMAnMN) em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Os melhores resultados do balanço de nitrogênio e coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta foram encontrados em ambiente quente para frangos que receberam dieta controle positivo e suplementados com protease, e para os que não receberam a enzima, independente da dieta. Já os menores valores do balanço de nitrogênio e coeficiente de metabolizabilidade foram encontrados para frangos criados em ambiente termoneutro, independente da dieta e da inclusão de protease e para aqueles criados em ambiente quente com dieta controle negativo e adição da enzima (Tabela 8).

O coeficiente da metabolizabilidade na matéria seca foi maior para frangos em ambiente quente que receberam dieta controle positivo e suplementação com protease e para os mantidos em ambiente quente que não receberam protease, independente da dieta. Também não diferiram dos frangos criados em termoneutralidade, e que receberam dieta CN e protease. Os menores valores para coeficiente da metabolizabilidade na matéria seca foram para frangos mantidos em ambiente quente com suplementação da protease e dieta controle negativo e para os frangos criados em ambiente termoneutro independente da dieta e da suplementação com protease (Tabela 8).

A energia metabolizável aparente da matéria natural e energia metabolizável aparente da matéria natural corrigida pelo nitrogênio apresentaram maior valor quando frangos foram criados em ambiente termoneutro com dieta controle negativo e protease, e em ambiente quente recebendo dieta controle positivo e protease, contudo estes não diferiram dos valores obtidos para frangos mantidos em ambiente quente que não receberam a suplementação da protease, independente da dieta. Os menores valores encontrados para metabolizabilidade da energia foram para os frangos mantidos em ambiente quente que receberam dieta controle negativo e protease, e para os criados em ambiente termoneutro que receberam dieta controle positivo com ou sem protease e controle negativo sem a suplementação da enzima (Tabela 8).

Frangos apresentaram maior valor do coeficiente de metabolizabilidade da energia quando em ambiente quente e recebendo dieta controle positivo e suplementados com a protease, porém não diferiram dos frangos criados em ambiente quente que não receberam a enzima. Já os menores valores foram encontrados para frangos em ambiente quente com dieta controle negativo com adição da enzima, os quais não diferiram dos

frangos mantidos em ambiente termoneutro independente da dieta e da inclusão de enzima (Tabela 8).

Tabela 8. Metabolizabilidade de nutrientes em de frangos de corte aos 35 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	BN	CDPB	CDMS	EMAMN	CDAEB	EMAnMN
TN	CP	0	71,5cd	71,5cd	76,3bc	3215,1b	79,6bc	3024,1b
TN	CP	200	72,6bcd	72,6bcd	76,7bc	3226,5b	80,0bc	3024,3b
TN	CN	0	70,3d	70,3d	76,4bc	3227,5b	79,3bc	3035,5b
TN	CN	200	71,8bcd	71,8bcd	77,6abc	3296,6a	80,5bc	3111,2a
QN	CP	0	75,1abc	75,1abc	77,6abc	3257,9ab	80,7abc	3048,7ab
QN	CP	200	77,1a	77,1a	79,4a	3315,0a	82,2a	3106,1a
QN	CN	0	75,9ab	75,9ab	78,0ab	3276,2ab	80,8ab	3069,1ab
QN	CN	200	70,3d	70,3d	76,1c	3213,4b	79,2c	3021,2b

¹TEMP = temperatura; CP= Controle positivo; CN = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; BN = balanço de nitrogênio (%); CDPB = coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (%); CDMS = coeficiente da metabolizabilidade da matéria seca (%); EMAMN = Energia metabolizável aparente da matéria natural (kcal/kg); CDAEB = Coeficiente de metabolizabilidade aparente da energia bruta (%); EMAnMN = Energia metabolizável aparente da matéria natural corrigida pelo nitrogênio (kcal/kg).
^{a,b}Médias seguidas por letras minúscula distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Sendo assim, com base nos resultados de metabolizabilidade de nutrientes, se justifica o uso da protease em dietas com valorização (CN) para frangos criados em termoneutralidade e para frangos criados em ambiente quente, com dietas sem valorização (CP).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo observou-se que adição da enzima protease influenciou a CA aos 35 dias de idade, mostrando que a suplementação com 200 ppm de protease pode ser favorável. Assim, o uso da enzima pode melhorar a CA em dietas com níveis recomendados de proteínas e aminoácidos. Os benefícios promovidos pela inclusão de protease na CA podem ser atribuídos ao melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, evidenciado pela melhora na metabolizabilidade de nutrientes, principalmente em ambiente quente.

Freitas et al. (2011) também observaram efeitos positivos com a suplementação da protease na conversão alimentar quando realizaram dois experimentos onde no primeiro, observaram que frangos de corte alimentados com a dietas ricas em proteína (22,5 vs. 20% de PB) e energia (3.150 vs. 3.050 kcal/kg) melhoraram o ganho de peso e conversão alimentar, independentemente do nível de suplementação enzimática (0, 100, 200, 400, 800 e 1600 ppm) na dieta e que a suplementação de protease afetou a conversão alimentar de forma quadrática. No segundo estudo, também ocorreu melhora na conversão alimentar quando a protease foi adicionada tanto às dietas com alta ou baixa proteína, utilizando a “dose comercial” recomendada de 200 ppm da enzima. A adição da enzima aumentou a digestibilidade de proteína e energia, e esses efeitos foram

mais evidenciados nas dietas com níveis elevados de proteínas.

Kamel et al. (2015) verificaram que, frangos com 5 semanas de idade, que receberam dietas basais com níveis recomendados de proteína e aminoácidos e adição de 200ppm de protease, apresentaram melhores resultados de conversão alimentar, mesmo quando se reduziu a energia da dieta e também verificaram que a enzima estaria associada com a melhora da proporção de vilosidades da cripta e, como consequência, melhor assimilação de nutrientes e maior área de superfície para digestão e absorção.

Frangos de corte criados em temperatura termoneutra apresentaram melhores resultados de desempenho, mostrando que houve influência negativa do calor no crescimento destas aves, como era esperado. Assim, frangos criados em temperatura termoneutra apresentaram melhor CA no período de 1 a 7 dias, melhor peso e CA no período de 1 a 14 dias, melhor peso e consumo de ração de 1 a 21 dias e melhor peso e consumo de ração de 1 a 35 dias de idade. Tais resultados estão de acordo com os encontrados por Bonnet et al. (1997), que observando a fase de crescimento de frangos de corte, encontraram resultados semelhantes, onde as altas temperaturas diminuíram o consumo de ração e peso corporal. Geraert et al. (1996) observaram que frangos de corte expostos ao calor crônico de 32°C, reduziram 5,5% o ganho de peso e 14% o consumo de ração na fase de crescimento, e 22% o ganho de peso e 24% o consumo de ração na fase final, resultados semelhantes aos observados nesta pesquisa onde o estresse cíclico pelo calor reduziu o ganho de peso em 9,18% e o consumo de ração em 9,16% no período de 1 a 35 dias de idade. Geraert et al. (1996) também observaram que a exposição por calor gera redução no crescimento maior do que a redução do consumo de ração, resultando na piora da conversão alimentar, o que não foi observado nesta pesquisa. Temim et al. (2000) observaram efeitos semelhantes do estresse por calor, como a redução da taxa de crescimento e piora na conversão alimentar.

Houve interação ($P < 0,05$) entre temperatura e dieta no período de 1 a 7 de idade e entre temperatura e protease no período de 1 a 21 dias de idade para a conversão alimentar. Frangos mantidos em ambiente quente apresentaram melhor CA quando receberam dietas com níveis adequados de aminoácidos e proteína, e os frangos que receberam dietas com níveis reduzidos apresentaram melhor CA quando criados em ambiente termoneutro no período de 1 a 7 dias. Frangos que receberam dietas com adição da enzima protease apresentaram melhor CA quando criados em ambiente termoneutro no período de 1 a 21 dias de idade comparados com os criados no ambiente quente e isto não ocorreu para frangos que não receberam adição de protease na dieta.

Dietas com níveis recomendados de proteína e aminoácidos apresentaram melhor CA no período de 1 a 7 dias e 1 a 35 dias. Estes resultados podem ser explicados

pela melhora na digestibilidade, sendo que a ingestão de dietas com os valores recomendados (CP) favoreceu a metabolizabilidade dos nutrientes, especialmente em ambiente quente. Para Ángel et al. (2011), a maioria dos aminoácidos essenciais aumentou a digestibilidade quando as dietas foram suplementadas com protease. Os autores atribuíram as melhorias que a adição da enzima exerceu sob o peso e conversão alimentar das aves pelo aumento da disponibilidade dos aminoácidos que pode promover o crescimento e a utilização de proteínas.

Porém não houve efeito da redução do nível de proteína e aminoácidos (CN) e adição de protease nos outros parâmetros de desempenho para todos os períodos analisados (1 a 7, 1 a 14, 1 a 21 e 1 a 35 dias de idade). Estes resultados diferem dos obtidos por Ángel et al. (2011), que encontraram diferenças no desempenho quando utilizaram dieta controle positivo contendo 22,5% de PB e dieta de baixa proteína (20,5% de PB), sendo que os frangos alimentados com dieta controle positivo foram 7,5% mais pesados em comparação com aqueles alimentados com níveis reduzidos de proteína. E, para as aves alimentadas com dietas com baixa proteína, quando houve adição de protease, os frangos não apresentaram diferença de peso dos alimentados com níveis adequados de proteína, o que não foi observado nesta pesquisa.

Matias et al. (2015) verificaram que frangos alimentados sem adição de enzima apresentaram melhores resultados de metabolizabilidade de proteína bruta quando alimentados com valorização, o que pode ser justificado pelo menor aporte de nutrientes influenciar no melhor aproveitamento da proteína da dieta. Isto só ocorreu em nossos resultados, quando os frangos foram mantidos em ambiente quente. Em ambiente de termoneutralidade a metabolizabilidade de proteína bruta foi reduzida em dieta valorizada e sem protease.

Ainda segundo Matias et al. (2015), nos tratamentos com enzima, os autores verificaram que não houve diferença quando utilizaram dietas com e sem valorização e para os frangos alimentados com dieta valorizada, os melhores resultados foram obtidos para aves que receberam dieta sem enzima, que pode ter ocorrido devido à inibição de produção de enzimas endógenas nas aves dos tratamentos que receberam enzimas exógenas na ração. Contudo, esses resultados diferem deste estudo, que apresentaram melhores resultados de metabolizabilidade em dietas sem valorização e com adição da enzima protease, para frangos de corte criados em ambiente quente.

A exposição ao calor resultou maiores valores de metabolizabilidade dos nutrientes. Habashy et al. (2017) observaram que frangos de corte expostos ao calor (35°C) no período de 14 a 48 dias de idade, apresentaram menor crescimento devido à redução na ingestão de alimentos e aminoácidos. Contudo, tendem a manter a mesma

digestibilidade de aminoácidos e a canalizar mais aminoácidos para o crescimento. Avaliando os transportadores moleculares de aminoácidos, verificaram que a concentração de aminoácidos proteínogênicos pode ser aumentada na dieta para promover a síntese proteica e reduzir o *turnover* proteico quando as aves estão sob estresse por calor.

6. CONCLUSÃO

O estresse pelo calor prejudica o desempenho dos frangos de corte. Dietas com valorização de proteína e aminoácidos (CN) pioram a conversão alimentar. A suplementação de protease (200 ppm) em dietas sem valorização da proteína e aminoácidos melhora a conversão alimentar dos frangos de corte no período de 1 a 35 dias de idade. A suplementação de protease (200 ppm) melhora os valores de energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio em dieta com níveis reduzidos de proteína e aminoácidos (CN) para frangos criados em temperatura termoneutra, assim como, melhora a metabolizabilidade da proteína bruta, da matéria seca e da energia em dietas com níveis recomendados de proteína e aminoácidos (CP) em ambiente quente.

7. REFERÊNCIAS

ABU-DIEYEH, Z.H.M. Effect of high temperature per se on growth performance of broilers. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.1, p.19-21, 2006.

ANGEL, C. R. et al. Effects of a mono component protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. **Poultry Science**, v.90, p.2281- 2286, 2011.

ANTIPATIS, C.; KNAP, K.; PONTOPPIDAN, R.A.; VALIENTES, R.A. Exogenous protease and their interaction with dietary ingredients. In: AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSE, 24, Sydney, 2013. **Anais...** p. 31-40, 2013.

BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2^a ed. Wiltshire/UK: Columns Design, 2011, 319.

BONNET, S.; GERAERT, P.A.; LESSIRE M.; CARRE B; GUILLAUMIN S. Effect of high ambient temperature on feed digestibility in broilers. **Poultry Science**. v.76, p 857-863,

1997.

COBB - manual de manejo de frangos de corte. 2008. Disponível em: <<http://wp.ufpel.edu.br/avicultura/files/2012/04/Cobb-Manual-Frango-Corte-BR.pdf>>.

Acesso em: 29/05/2015.

FERNANDES, G.A.; FERNANDES, F.F.D.; MOUSQUER, C.J. Nutrição de frangos de corte adequada a regiões de clima quente. **Revista Eletrônica Nutritim**, v.11, n.1, p.3045-3069, 2014.

FREITAS, D.M.; VIEIRA, S.L.; ANGEL, R.; FAVERO, A.; MAIORKA, A. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component protease. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.20, p.322-334, 2011.

GERAERT, P.A.; PADILHA, J.C.F.; GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. **British Journal of Nutrition**, v.75, p. 195-204, 1996.

HABASHY, W.S.; MILFORT, M.C.; ADOMAKO, K.; ATTIA, Y.A.; REKAYA, R.; AGGREY S.E. Effect of heat stress on amino acid digestibility and transporters in meat-type chickens. **Poultry Science**, p.1-8, 2017.

KAMEL, N.F. et al. Effects of a monocomponent protease on performance parameters and protein digestibility in broiler chickens. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v.6, n.1, p.216-225, 2015.

KRABBE, E.L.; LORANDI, S. Atualidades e tendências no uso de enzimas na nutrição de aves. In: VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal. São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro, SP: CBNA, 2014.

MATIAS, C.F.Q. et al. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.2, p.492-498, 2015.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa,

p.252, 2011.

SAS Institute Inc., User installation guide for the SAS® system; version 9 for Microsoft® Windows®, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2007.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p., 2002.

SOUZA, L.F.A., ESPINHA, L.P., SOUZA, M.G. et al. Exposição crônica e cíclica ao calor sobre a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Anais...** Prêmio Lamas, 2011.

TEMIM, S.; CHAGNEAU, A.M.; GUILLAUMMIN, S. et al. Does excess dietary protein improve growth performance and carcass characteristics in heat-exposed chickens? **Poultry Science**, v.79, n.3, p.312-317, 2000.

THOM, E.C. Cooling degree: day air conditioning, heating, and ventilating. **In: Transaction of the American Society of Heating**, v.55, n.7, p.65-72, 1958.

OXENBOLL, K.M.; PONTOPPIDAN, K.; FRU-NJI, F. Use of a protease in poultry feed offers promising environmental benefits. **International Journal of Poultry Science**, v.10, n.11, p.842-848, 2011.

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Publicações. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>, Acesso em: 03/07/2016. 2016.

VIEIRA, S.L.; ANGEL, C.R.; MIRANDA, D.J.A.; FAVERO, A.; CRUZ, R.F.A.; SORBARA, J.O.B. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 1- to 26-day-of-age turkey poults. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.4, p.680-688, 2013.

WANG, J.J.; GARLICH, J.D.; SHIH, J.C.H. Beneficial effects of Versazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.15, n.4, p.544-550, 2006.

CAPÍTULO III

Implicações

O presente estudo reforça a necessidade da busca por alternativas que possam melhorar o aproveitamento das rações e minimizar os efeitos negativos causados pelo estresse por calor, como também reduzir o custo das dietas sem afetar o desempenho zootécnico dos frangos de corte. Os resultados deste estudo são relevantes para a avicultura, que constantemente é submetida a novos desafios, tais como a temperatura ambiente, alteração de níveis nutricionais e ingredientes alternativos.

O ambiente pode afetar o desempenho e o aproveitamento dos nutrientes pelos frangos de corte e pode gerar prejuízos econômicos na produção. No nosso estudo houve redução no ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar quando os frangos foram expostos ao calor, e as dietas com níveis reduzidos de proteína e aminoácidos levaram a prejuízos tanto no desempenho como na digestibilidade. Assim, o controle do ambiente dentro das produções, como também a composição e precisão dos valores nutricionais dos alimentos são de extrema importância, uma vez que estes fatores podem vir a favorecer ou reduzir a produção.

Atualmente, no Brasil o milho e a soja são os principais ingredientes que compõem as rações dos frangos de corte, porém, devido a presença de fatores anti nutricionais, os nutrientes que compõem as dietas não são totalmente aproveitados pelo animal. A suplementação da protease neste estudo favoreceu a conversão alimentar no período de 1 a 35 dias quando em conjunto com dietas contendo os níveis recomendados de proteína e aminoácidos, melhorou também o aproveitamento quando utilizada em dietas com níveis reduzidos de proteína e aminoácidos em temperatura termoneutra, assim como em ambiente quente nas dietas com níveis recomendados de proteína e aminoácidos. Porém, em ambiente quente e recebendo dietas com níveis reduzidos, a protease prejudicou o aproveitamento. Assim, a suplementação com a protease é de interesse para a comunidade avícola devido à possibilidade de favorecer o aproveitamento dos nutrientes não digeridos ou parcialmente digeridos, e conseqüentemente, pode gerar economia na formulação das dietas. Os resultados obtidos deste estudo indicam potencial participação da protease e servem como base para futuramente se determinar com melhor precisão a potencial valorização nutricional proporcionada pelo uso de proteases exógenas em nas dietas e contribuirão para mais estudos que permitam explicar melhor sua ação.

Desta forma, a investigação e divulgação deste estudo sobre o efeito da protease exógena nas dietas de frangos de corte em diferentes temperaturas ambientes pode servir como base para pesquisas e ser útil e de uso prático por produtores e empresas de nutrição, especialmente em nosso país que possui climas diferenciados em seu território.