

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**EFEITO DA FITASE EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS
DE SUBSTRATO PARA FRANGOS DE CORTE**

Pedro de Carvalho Gaio

Zootecnista

**D
I
S
S.**

/

**G
A
I
O**

**P.
C.**

**2
0
2
6**

**D
I
S
S.**

/

**G
A
I
O**

**P.
C.**

**2
0
2
6**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**EFEITO DA FITASE EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS
DE SUBSTRATO PARA FRANGOS DE CORTE**

Pedro de Carvalho Gaio

Orientadora: Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

G143e Gaio, Pedro de Carvalho
Efeito da fitase em dietas com diferentes níveis de
substrato para frangos de corte / Pedro de Carvalho
Gaio. -- Jaboticabal, 2026
47 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

1. Nutrição Animal. 2. Enzimas. 3. Frangos de
corte. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Dados fornecidos pelo autor(a).

REGISTRO DO IMPACTO ESPERADO DA DISSERTAÇÃO NA SOCIEDADE

A dissertação gera conhecimento técnico ao evidenciar que a eficácia da fitase depende do teor de fitato das dietas. Esses achados orientam na formulação mais precisa de rações, contribuindo para decisões mais eficientes na produção avícola e para o uso racional de nutrientes.

REGISTRATION OF THE EXPECTED IMPACT OF THE DISSERTATION ON SOCIETY

The dissertation provides technical knowledge by showing that phytase efficacy depends on dietary phytate levels. These findings support more precise feed formulation, improving decision-making in poultry production and promoting more efficient and rational nutrient use.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA FITASE EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE SUBSTRATO PARA FRANGOS DE CORTE

AUTOR: PEDRO DE CARVALHO GAIO

ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 NILVA KAZUE SAKOMURA
Data: 24/04/2026 16:20:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA (Participação Presencial)
Departamento de Zootecnia / UNESP / Câmpus de Jaboticabal - FCAV

Documento assinado digitalmente
 RODRIGO KNOP GUAZZI MESSIAS
Data: 24/04/2026 11:47:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. RODRIGO KNOP GUAZZI MESSIAS (Participação Virtual)
BASF S/A / São Paulo/SP

Documento assinado digitalmente
 RONY RIVEROS LIZANA
Data: 24/04/2026 12:34:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-Doutorando RONY RIVEROS LIZANA (Participação Presencial)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 24 de abril de 2026.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Pedro de Carvalho Gaio, nascido em 24 de junho de 2000 em São João del Rei, Minas Gerais. Filho de Antônio Wilson Gaio e Maria Inez de Carvalho Gaio. No ano de 2018 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ), finalizando a graduação no ano de 2023. Neste período, foi bolsista de iniciação científica nos períodos de 2021 a 2023, sob orientação da Professora Renata de Souza Reis. Iniciou o curso de Mestrado em Ciência Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Jaboticabal, São Paulo, em março de 2024, sob orientação da Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura, defendendo sua dissertação no dia 24 de abril de 2026.

EPÍGRAFE

No Pares

Nadie puede pisotear tu libertad
Grita fuerte por si te quieren callar
Nada puede detenerte si tú tienes fe
No te quedes con tu nombre escrito en la pared
En la pared
Si censuran tus ideas ten valor
No te rindas nunca, siempre alza a voz
Lucha fuerte y sin medida, no dejes de creer
No te quedes con tu nombre escrito en la pared
En la pared
No pares, no pares, no
No pares nunca de soñar
No pares, no pares, no
No pares nunca de soñar
No tengas miedo a volar
Vive tu vida
No construyas muros en tu corazón
Lo que hagas siempre hazlo por amor
Con las alas, contra el viento
No hay nada que perder uno
No te quedes con tu nombre escrito en la pared

(RBD)

AGRADECIMENTOS

Começo meus agradecimentos por aquilo que me mantém firme em meus objetivos e me dá forças para continuar: Deus. Sem Ele eu não sou nada, e minha fé é o combustível que mantém minha vida no eixo.

Agradeço à minha família, meu pai, minha mãe e a Dri, por todo o incentivo, força, amor e pelos sacrifícios que fazem para que eu possa estar aqui, seguindo meu sonho de me tornar um grande profissional.

Aos meus melhores amigos, Igor e Jennifer, agradeço por nunca soltarem minha mão e, assim como minha família, sempre me incentivarem e acreditarem em mim.

Agradeço também aos meus colegas de laboratório, Dani, Gabi, Nathana, Camila, Audasley, Marcelo e Bruno, por todo o companheirismo, trabalho em equipe e pelos ensinamentos compartilhados ao longo dessa jornada.

Em especial, agradeço às minhas amigas Dani e Laura por todos os momentos incríveis que vivemos juntos: as risadas, as noites de conversa, as idas à piscina, os piqueniques e os conselhos. Todos esses momentos ficarão guardados com muito carinho em meu coração e em minha memória.

Agradeço ao Rony e à professora Leilane por toda a orientação, ensinamentos e conselhos. Com certeza, vocês contribuíram para que eu me tornasse um profissional melhor e me inspiraram a continuar lutando pelos meus sonhos.

Aos meus estagiários, Breno, Beatriz, Victor, Letícia e Guilherme, agradeço por todo o apoio durante o experimento, pela amizade, pelas saídas e por tornarem a pós-graduação um ambiente mais leve. Tenho um grande carinho por todos vocês e espero, de alguma forma, ter contribuído e marcado a trajetória de cada um.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal por me acolher e permitir a realização deste sonho e a CAPES (Brasil) pela concessão da bolsa de estudos, processo 88887.995039/2024-00.

Por fim, agradeço à minha orientadora, professora Nilva Sakomura. Toda sua experiência, maestria e conhecimento foram essenciais para me fortalecer e me transformar no pesquisador que sou hoje. Serei eternamente grato pela oportunidade de ter sido seu orientado e por ter feito parte de sua equipe.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Considerações Gerais	2
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Minerais na alimentação de frangos de corte.....	3
2.2 Fósforo	4
2.3 Fitato	8
2.4 Fitase	10
2.5 Formação óssea	14
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 2 – DIETARY PHYTIC PHOSPHORUS LEVELS MODULATE THE BIOEFFICACY OF PHYTASE IN BROILER CHICKENS AND AFFECT PERFORMANCE AND NUTRIENT DIGESTIBILITY	22
Este capítulo é apresentado seguindo as normas da revista Journal of Applied Poultry Research	22
Statement of primary audience: Metabolism and nutrition.....	23
Corresponding author: nilva.sakomura@unesp.br	23
DESCRIPTION OF PROBLEM.....	24
MATERIAL AND METHODS	25
CONCLUSION AND APPLICATIONS.....	34
ACKNOWLEDGMENTS	34
DISCLOSURES.....	35
REFERENCES	35
CAPÍTULO 3 – IMPLICAÇÕES.....	46
Considerações Finais	47
1. IMPLICAÇÕES	47

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação dos efeitos de diferentes níveis de fitase em diferentes níveis de substrato em dietas de frangos de corte**”, protocolo nº 4897/2024, sob a responsabilidade da Profª. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 23 de outubro de 2024.

Vigência do Projeto	01/11/2024 a 01/01/2026
Espécie / Linhagem	<i>Gallus Gallus domesticus</i> /Ross AP 95
Nº de animais	3500
Peso / Idade	40 g / 1 dia
Sexo	Machos
Origem	Incubatório Pluma Agroavícola – Descalvado-SP

Jaboticabal, 23 de outubro de 2024



Documento assinado digitalmente
HELENA CRISTINA DELGADO BRITO
Data: 29/10/2024 10:07:30 -0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dra. Helena Cristina Delgado Brito
Coordenadora – CEUA

EFEITO DA FITASE EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE SUBSTRATO PARA FRANGOS DE CORTE

Resumo - A adição de fitase na alimentação de frangos de corte é uma prática comum nos sistemas de produção, visto que sua aplicação auxilia na quebra do fitato melhorando o aproveitamento do fósforo presente nos ingredientes vegetais pelo animal. Contudo, com a alta variação do teor de fitato entre os ingredientes e a relação enzima-substrato ser um possível fator impactante sobre a resposta, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito dos diferentes níveis de fitase em diferentes níveis de substrato em dietas de frangos de corte da linhagem Ross 308 aos 21 dias de idade, realizando dois ensaios, um de desempenho zootécnico e outro de digestibilidade ileal. No ensaio de desempenho foram utilizados 2.400 frangos de corte em delineamento inteiramente casualizado com um arranjo fatorial 2x4, com 2 níveis de fitato (baixo e alto fitato) e 4 níveis de inclusão de fitase (0, 1.000, 1.500 e 2.000FTU/kg), totalizando 8 tratamentos com 10 repetições e 30 aves cada. As dietas foram formuladas para atender os requerimentos nutricionais exceto pelo fósforo e cálcio, que foram reduzidos de acordo com a matriz da enzima em sua inclusão máxima (2.000 FTU). No ensaio de digestibilidade foram utilizados 800 pintos da linhagem Ross 308, mantendo os tratamentos do experimento de desempenho, totalizando 8 tratamentos com 10 repetições e 10 aves cada. Os dados obtidos nos ensaios descritos foram submetidos a uma análise de variância e através de contrastes polinomiais foi verificado comportamento quadrático ou linear, utilizando o software estatístico SAS On demand. Não houve efeito de interação em nenhuma das variáveis avaliadas. Em todas as variáveis de desempenho zootécnico, na resistência óssea e no conteúdo mineral ósseo (BMC) foi observado significância ($p < 0,05$) para os fatores fitato e fitase, variando o comportamento em função do nível de fitato. Enquanto na digestibilidade, houve um impacto significativo da inclusão de fitase sobre o CDIA de fósforo, cálcio e proteína bruta, também sendo influenciado pelo nível de fitato. Em conclusão, a fitase apresentou uma melhor resposta sobre os frangos alimentados com dietas contendo um maior teor de fitato. Tal fato se mostrou correlacionado a maior disponibilidade de substrato para a ação enzimática, minimizando os impactos da deficiência mineral nesses animais em comparação ao grupo baixo fitato.

Palavras-chave: enzima, avicultura, substrato, fósforo

EFFECT OF PHYTASE IN DIETS WITH DIFFERENT SUBSTRATE LEVELS FOR BROILERS

Abstract - Adding phytase to broiler feed is a common practice in production systems, as its application aids in the breakdown of phytate, improving the animal's utilization of the phosphorus present in plant ingredients. However, given the high variation in phytate content among ingredients and the enzyme-substrate ratio being a possible impacting factor on the response, this study aimed to evaluate the effect of different phytase levels at different substrate levels in diets for Ross 308 broilers at 21 days of age, conducting two trials: one on zootechnical performance and the other on ileal digestibility. The performance trial involved 2.400 broilers in a completely randomized design with a 2x4 factorial arrangement, with two phytate levels (low and high phytate) and four phytase inclusion levels (0, 1.000, 1.500, and 2.000 FTU/kg), totaling eight treatments with 10 replicates and 30 birds each. Diets were formulated to meet nutritional requirements except for phosphorus and calcium, which were reduced according to the enzyme matrix at their maximum inclusion (2.000 FTU). In the digestibility assay, 800 Ross 308 chicks were used, maintaining the treatments of the performance experiment, totaling eight treatments with 10 replicates and 10 birds each. The data obtained in the described assays were subjected to analysis of variance, and through polynomial contrasts, quadratic or linear behavior was verified, using the SAS On Demand statistical software. There was no interaction effect in any of the evaluated variables. In all zootechnical performance variables, bone strength and bone mineral content (BMC), significance ($p < 0.05$) was observed for the phytate and phytase factors, with the behavior varying as a function of the phytate level. Regarding digestibility, there was a significant impact of phytase inclusion on the AID of phosphorus, calcium, and crude protein, also being influenced by the phytate level. In conclusion, phytase showed a better response in chickens fed diets containing a higher phytate content. This was correlated with greater substrate availability for enzyme action, minimizing the impacts of mineral deficiency in these animals compared to the low-phytate group.

Keywords: enzyme, animal nutrition, minerals, phosphorus

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

Dentro dos sistemas de produção de frangos de corte, a alimentação representa cerca de 70% dos custos totais, sendo a energia, a proteína e os minerais, os principais componentes desse valor. O balanço entre esses componentes é essencial para garantir desempenho, saúde e sustentabilidade da produção (Cozannet et al., 2023; Cozannet et al., 2021; Thirumalaisamy et al., 2016). Entre os minerais, o fósforo se destaca pelo papel fundamental no crescimento e na formação óssea, mas grande parte dele, presente nos ingredientes vegetais, está na forma de fitato, que tem baixa disponibilidade para as aves (Macari e Maiorka; 2017).

O fósforo é indispensável para as aves, participando da mineralização esquelética, do metabolismo energético e de várias reações celulares. Como o crescimento dos frangos é muito rápido, a exigência por esse mineral é alta, e sua deficiência compromete diretamente o desempenho produtivo (Scholey et al., 2018; Varella et al., 2025). Na alimentação de frangos de corte, as principais fontes de fósforo são ingredientes de origem vegetal que possuem a maior parte desse mineral complexado ao fitato e pouco disponível para o animal, sendo necessária a complementação com fosfatos inorgânicos, o que eleva o custo de produção e passa a ser dependente de um recurso finito, comprometendo a sustentabilidade do sistema de produção (Varella et al., 2025; Mekonnen e Hoekstra, 2018; Li et al., 2016).

Além do impacto econômico, o excesso de fósforo ligado ao fitato faz com que esse fósforo não seja aproveitado pelo animal e siga seu percurso até ser excretado no ambiente, aumentando o potencial poluidor da produção avícola com esse contaminante (Faridi et al., 2015). O uso de fitase em dietas para frangos de corte veio como uma estratégia eficiente para aproveitar o fósforo ligado ao fitato presente nos ingredientes vegetais (Scholey et al., 2018).

Com o avanço das tecnologias, novas fitases têm sido desenvolvidas com maior capacidade de liberar fósforo, chegando em alguns casos a suprir quase totalmente as exigências das aves. Apesar disso, a resposta ao uso da enzima pode

variar de acordo com fatores como o nível de fitato da dieta, a dose aplicada e as características específicas da fitase utilizada (Scholey et al., 2018; Amerah et al., 2014).

Embora os benefícios da fitase sejam bem conhecidos, ainda há lacunas sobre como diferentes doses dessa enzima interagem com variados níveis de substrato, como a quantidade de fitato ou fósforo disponível na dieta. Parte-se da hipótese de que a resposta dos frangos à suplementação com fitase varia de acordo com a quantidade de substrato presente na dieta, de modo que a combinação adequada entre enzima e nível de fitato ou fósforo disponível pode maximizar a utilização dos nutrientes e reduzir a necessidade de fósforo inorgânico. Compreender essa relação é fundamental para otimizar a formulação das rações, garantindo não apenas melhor desempenho produtivo, mas também maior eficiência no uso dos nutrientes. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito dos diferentes níveis de fitase em diferentes níveis de substrato em dietas de frangos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Minerais na alimentação de frangos de corte

A produção avícola ainda se depara com a necessidade de otimizar os custos de maneira eficiente, visto que a alimentação é a maior responsável, chegando a cerca de 70 % do custo total de produção (Thirumalaisamy et al., 2019). Simultaneamente, a indústria deve se adaptar a um mercado que se torna mais exigente, priorizando produtos que sejam seguros, nutritivos e de alta qualidade. Nos últimos anos, os frangos de corte passaram por avanços genéticos consideráveis, apresentando maior crescimento, melhor conversão alimentar e linhagens voltadas para maior rendimento de peito (Ribeiro et al., 2021).

Os nutricionistas têm se deparado com a dificuldade de criar dietas econômicas que garantam todos os nutrientes necessários para as aves. Dentre esses nutrientes, os minerais são essenciais para a formação dos ossos e para as reações metabólicas e fisiológicas que ocorrem no organismo. A quantidade desses minerais na

alimentação afeta diretamente a saúde do animal. Concentrações extremamente baixas podem levar a sérias deficiências, níveis moderados ajudam a manter a homeostase e permitem o armazenamento nos tecidos, e concentrações elevadas podem ser tóxicas, prejudicando o desempenho e o crescimento (Suttle, 2022; Macari e Maiorka, 2017).

A inclusão de minerais quelatados nas dietas de aves de corte e postura tem sido uma estratégia adotada na formulação de rações, visando alternativas nutricionais que sejam mais estáveis e com melhor biodisponibilidade. Estes complexos são obtidos pela junção de íons metálicos a moléculas orgânicas, como aminoácidos ou polissacarídeos, por meio de ligações covalentes envolvendo grupos amino ou oxigênio (Ribeiro et al., 2021). A absorção desses minerais acontece, em sua maioria, no lúmen intestinal, normalmente através da difusão simples, sendo afetada por elementos dietéticos, como a natureza da ligação química, a quantidade consumida, a solubilidade, a forma estrutural e outros fatores relacionados ao animal, como o estado nutricional, sexo, idade e linhagem (Ribeiro et al., 2021; Zafar e Fatima, 2018; Macari e Maiorka, 2017).

Por outro lado, o fósforo se mostra um dos minerais mais importantes na nutrição de frangos de corte, pois na sua forma quelatada, o fósforo tem uma estrutura que o impede de ser quebrado pelas enzimas digestivas. A maior parte do fósforo contido nos grãos está na forma de fitato (PP), o que restringe sua disponibilidade para as aves, tornando indispensável um manejo nutricional eficaz. Por essa razão, o fósforo é um elemento-chave na formulação de dietas, uma vez que afeta o desempenho produtivo, a saúde dos ossos e a absorção de outros minerais na dieta (Suttle, 2022; Li et al., 2016).

2.2 Fósforo

O fósforo (P) é o segundo mineral mais abundante no corpo das aves, e cerca de 80% desse fósforo está localizado nos ossos, onde se combina com o cálcio (Ca) na forma de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$). Além de sua função estrutural, o P participa da composição das membranas celulares como fosfolípídeos, está envolvido

em diversas funções celulares e compõe a adenosina trifosfato (ATP) (Macari e Maiorka, 2017; Dozier et al., 2015; Hummer et al., 2015).

Por ser um nutriente indispensável e caro nas formulações, os nutricionistas têm grande interesse em compreender suas fontes e procurar opções mais acessíveis. Dentre essas fontes, as mais comuns são os ingredientes animais, como farinhas de carne e ossos, vísceras, penas, peixe, os suplementos minerais, como os fosfatos e os ingredientes vegetais, como grãos e cereais, cujos níveis de biodisponibilidade podem oscilar bastante (Palermo-Neto, 2005).

A maior parte do P está presente no osso, o restante se distribui no sistema nervoso, tecido muscular e hemácias, sendo crucial em reações metabólicas, no metabolismo proteico, energético e de outros nutrientes (Wagner, 2024). No intestino delgado, a absorção de Pi acontece através de dois mecanismos complementares, dependendo da concentração do mineral. Quando as concentrações são baixas, o transporte transcelular ativo, que depende do sódio (Na), é o que predomina, sendo realizado pelos cotransportadores de Na do tipo 1, 2 e 3, sendo o 2 (NaPi-II) o mais observado em aves. Esse sistema é controlado pela forma ativa da vitamina D3 (calcitriol), sendo fundamental em dietas restritivas e não é diretamente afetado pelo cálcio (Ca). No que diz respeito a uma situação de excesso de P, a via paracelular se torna relevante, pois é independente de Na e ocorre por meio de difusão passiva nas junções entre os enterócitos. Essa via é caracterizada por ser não saturável e modulada pela proporção de Ca:P na dieta, possibilitando a absorção de grandes quantidades do mineral (Carpenter et al., 2020; Serna e Bergwitz, 2020; Knöpfel et al., 2019; Macari e Maiorka, 2017).

O metabolismo do P se encontra intimamente ligado ao do Ca e da vitamina D, regulado por um sistema hormonal de retroalimentação positivo e negativo (Figura 1). A vitamina D3 (colecalfiferol) é produzida na pele quando exposta à luz solar (raios UVB) ou pode ser obtida através da alimentação, passando por dois processos de hidroxilação: o primeiro ocorre no fígado, onde a enzima 25-hidroxilase atua, resultando na formação do calcidiol. A segunda hidroxilação e a ativação da vitamina D ocorrem nos rins, mediadas pela enzima 1 α -hidroxilase, resultando na formação do calcitriol. Esse processo é controlado pelo paratormônio (PTH) e pelo fator de

crescimento de fibroblastos 23 (FGF 23) (Sinclair-Black et al., 2023; Martínez-Heredia et al., 2024).

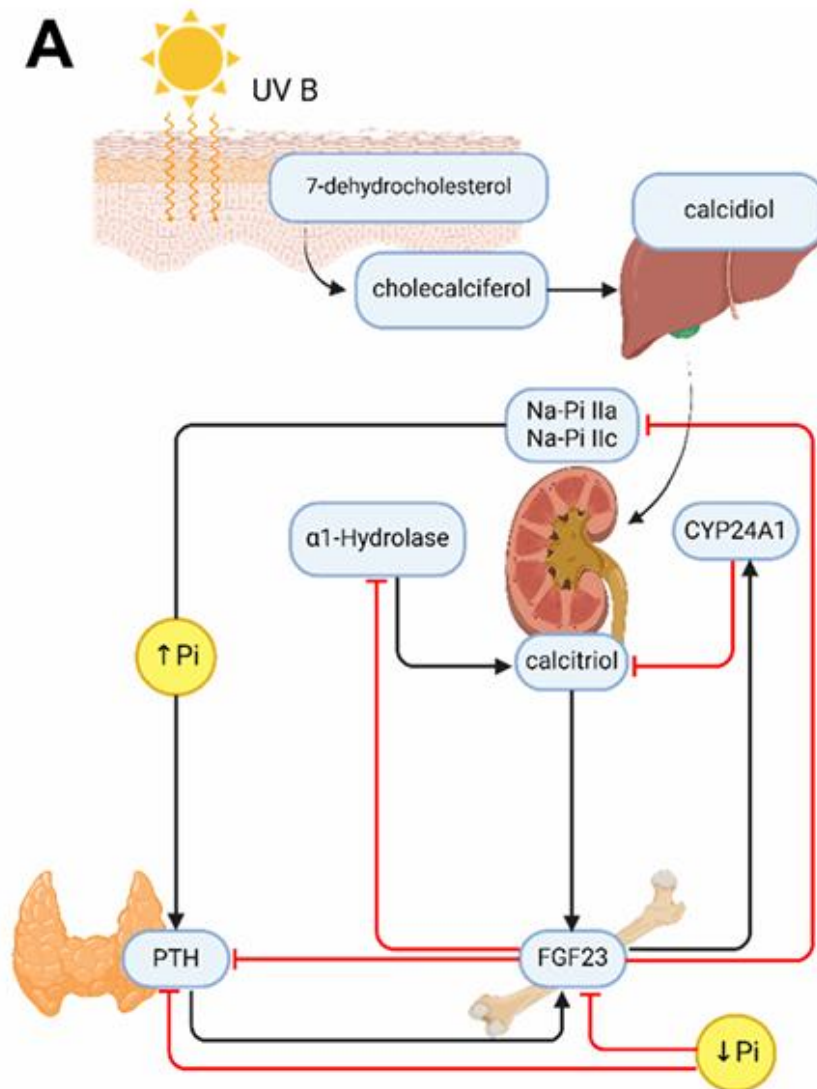


Figura 1 – Metabolismo da vitamina D e P.

Fonte: Martínez-Heredia et al., 2024.

Em situações de deficiência de fósforo (Pi) ou cálcio (Ca), o PTH produzido pela glândula paratireoide estimula a conversão de calcitriol nos rins. Esse hormônio, ao se ligar ao receptor de vitamina D (VRD), eleva a produção de proteínas transportadoras de Ca, como a calbidina, e aumenta a expressão intestinal dos cotransportadores de P (NaPi-II). Dessa maneira, há uma intensificação da absorção intestinal, reabsorção pelos rins e mobilização dos minerais do osso (Serna e Bergwitz, 2020; Macari e Maiorka, 2017). Quando os níveis plasmáticos desses elementos se elevam, o calcitriol começa a inibir a ação do PTH. Esse mecanismo

pode ocorrer indiretamente pela estimulação dos receptores sensíveis ao cálcio (CASR), que inibem a secreção de PTH, ou de forma direta pela supressão da transcrição do gene que codifica o PTH (Serna e Bergwitz, 2020; Torres e De Brauwere, 2011).

Quando há um excesso de Ca e P, junto com altas concentrações de calcitriol, dois outros reguladores tornam-se importantes: o FGF23 e a calcitonina. O FGF23, produzido por osteócitos e osteoblastos, atua nos rins ao inibir a expressão dos transportadores NaPi-II, além de reduzir a síntese de calcitriol ao inibir a ação da 1α -hidroxilase, e também ao estimular a expressão do CYP24A1, que converte a vitamina D em sua forma inativa, resultando em uma menor reabsorção de P e uma maior excreção desse mineral. A calcitonina, que é liberada pelos corpos ultimobranquiais em aves, tem como principal função inibir a reabsorção óssea, diminuir a absorção intestinal e aumentar a excreção renal de Ca e P (Serna e Bergwitz, 2020; Martínez-Heredia et al., 2024; Macari et al., 2017; Proszkowiec-Weglarz e Angel, 2013).

Um desequilíbrio neste sistema pode resultar em distúrbios clínicos graves. A hipofosfatemia, que muitas vezes é causada por falhas genéticas ou por uma absorção intestinal inadequada, leva a uma mineralização óssea deficiente, o que resulta em fragilidade e raquitismo (Wagner et al., 2019). A hiperfosfatemia, por sua vez, está ligada a um aumento do risco cardiovascular e é comum em pessoas que sofrem de doença renal crônica (Paloian e Giachelli, 2014).

A pesquisa de Aderibigbe et al. (2022) indicou que a severa deficiência de P resultou em menor ingestão de ração e foi relacionada a mudanças em genes que regulam a saciedade. Mesmo com a diminuição do hormônio anorexigênico CCK, houve um aumento na expressão de seu receptor hipotalâmico (CCKAR), possivelmente como resultado de um mecanismo de feedback negativo ou devido à síntese neural de CCK, o que sugere uma maior influência central do que intestinal na regulação do apetite. Houve também um aumento nos receptores de melanocortina (MC3R e MC4R), que estão ligados à ação anorexigênica da α -MSH, embora as concentrações desses receptores não tenham sido medidas, o que impede de tirar conclusões sobre um efeito direto. O estudo ainda sugere que a lipocalina-2 (LCN-2), produzida por osteoblastos e capaz de atravessar a barreira hematoencefálica quando presente em altos níveis no sangue, se liga aos receptores de melanocortina,

reforçando a supressão do apetite em aves que sofrem de deficiência acentuada de P.

Todas essas mudanças fisiológicas evidenciam o quanto o P é essencial para a saúde e o desempenho dos animais, além de enfatizar a necessidade de um fornecimento adequado desse mineral na dieta. A maior parte das rações que alimentam as aves é elaborada com ingredientes de origem vegetal, mas o fósforo contido nesses componentes está, na maior parte das vezes, na forma de fitato, uma estrutura que os animais conseguem assimilar apenas de maneira limitada, levando a uma excreção maior desse mineral no meio ambiente (Coudert et al., 2025; Hummer et al., 2015). O excesso de P no solo pode levar a problemas ambientais, como a poluição de águas subterrâneas por meio de processos de lixiviação ou escoamento superficial. O excesso de nutrientes em ambientes aquáticos pode resultar em uma maior mortalidade de peixes e estimular a floração de algas prejudiciais, conforme Hummer et al. (2015).

2.3 Fitato

Na produção avícola, assim como em outras cadeias de animais monogástricos, a formulação das dietas baseia-se, em grande parte, em ingredientes vegetais. Nessas condições, torna-se necessário suplementar o fósforo (P) por meio de fontes como farinhas de origem animal ou fosfatos inorgânicos, como o fosfato bicálcico, devido à baixa disponibilidade do P presente nos vegetais (Lee et al., 2022; Abbasi et al., 2019).

A baixa disponibilidade do P em fontes vegetais é atribuída à presença de uma molécula denominada ácido fítico ou fitato, que consiste em seis grupos fosfato ligados a um anel de Inositol (inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate, InsP6) (Figura 2). Essa estrutura torna o P inacessível para as aves, visto que as aves não têm a enzima fitase endógena em quantidades suficientes para romper as ligações éster da molécula, liberando o mineral para absorção (Widderich et al., 2024; Auer et al., 2024; Macari e Maiorka, 2017).

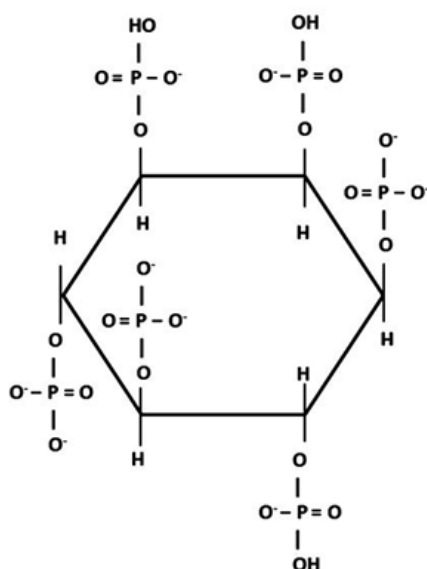


Figura 2 – Estrutura do ácido fítico.

Fonte: Hummer et al., 2014

Além de dificultar o aproveitamento do próprio P, o fitato também interfere na biodisponibilidade de outros nutrientes podendo se ligar a minerais como o cálcio, ferro, cobre, zinco e magnésio, e proteínas, formando complexos que dificultam a ação de enzimas sobre estes nutrientes, afetando a digestibilidade e consequentemente o desenvolvimento do animal (Nuamah et al., 2024; Auer et al., 2024; Hummer et al., 2015). Essa interação com outros nutrientes é dependente do pH do trato gastrointestinal (TGI), ocorrendo tanto em meios ácidos quanto alcalinos. Em meio mais ácido, sua alta carga negativa favorece a formação de complexos estáveis com proteínas. No caso de aminoácidos que também possuem carga negativa, a presença de cátions pode facilitar essas interações, agindo como uma ponte entre as cargas que se atraem (Hummer et al., 2015).

De acordo com Macari e Maiorka (2017) e Wu et al. (2015), o fitato pode estimular a secreção de ácido clorídrico ao se ligar a proteínas e formar complexos. Isso eleva a conversão de pepsinogênio em pepsina, criando um ambiente ainda mais ácido. No entanto, essa acidificação pode ultrapassar o poder de tamponamento do bicarbonato no duodeno, comprometendo a ação das enzimas digestivas do pâncreas e, por conseguinte, a digestão de proteínas e aminoácidos. Kumar et al. (2010) também ressaltou que o fitato pode inibir diretamente a ação de enzimas como a tripsina e a α -amilase, quelando íons de cálcio que são cruciais para a sua atividade.

O excesso de ácido no estômago provoca uma reação compensatória do corpo, aumentando a produção de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e mucina para neutralizar o pH e proteger a mucosa do intestino. Esse processo aumenta a disponibilização de aminoácidos endógenos e sódio, podendo prejudicar a atividade da bomba Na^+/K^+ -ATPase, que é vital para a absorção de vários nutrientes (Macari e Maiorka, 2017; Wu et al., 2015; Cowieson et al., 2009).

No estado livre, o fitato é quimicamente instável e possui uma alta densidade de carga negativa, o que favorece sua interação com cátions bivalentes e trivalentes, como Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e Mn^{2+} . Isso compromete, em particular, a digestibilidade do cálcio (Ca). Em condições de pH alto, o fitato se liga ao cálcio iônico, o que diminui a sua disponibilidade e absorção (Joudaki et al., 2023; Marolt et al., 2020; Sun et al., 2020).

Diversos fatores, como o pH do intestino, a concentração de fitato e a presença de moduladores da solubilidade dos complexos, influenciam a eficiência da absorção mineral, como no caso do Ca. Quanto ao Ca, além da formação de complexos insolúveis em pH em torno de 5,0, sua absorção é regulada ainda por mecanismos que dependem do calcitriol (a forma ativa da vitamina D3) e do gradiente de sódio. O aumento da secreção de Na, em decorrência do excesso de bicarbonato que é necessário para neutralizar o ácido do conteúdo gástrico, pode prejudicar o transporte ativo de Ca pela borda em escova do enterócito, diminuindo sua absorção (Selle et al., 2009; Hummer et al., 2015).

Uma das estratégias utilizadas na nutrição de aves para lidar com esses desafios tem sido a adição de fitase exógena às dietas. Essas enzimas realizam a hidrólise das ligações do inositol com os grupos fosfato, liberando fósforo para absorção e minimizando os efeitos antinutricionais do fitato.

2.4 Fitase

A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma enzima capaz de hidrolisar o ácido fítico, resultando na liberação, principalmente, de fósforo (P) inorgânico e outros minerais que se tornam disponíveis para absorção pelas aves.

Elas são classificadas como fosfatases e podem ser extraídas de fontes vegetais, microrganismos (tanto bactérias quanto fungos) e de certos tecidos animais. No entanto, as fitases de origem microbiana são as que mais se destacam no mercado, pois possuem um poder catalítico superior em relação às fitases de outras origens (Rizwanuddin et al., 2023).

Considerando que as dietas para frangos de corte são compostas, em sua maioria, por ingredientes de origem vegetal e que a alta excreção de P, resultante da baixa absorção desse mineral na forma de fitato, leva a uma preocupação ambiental crescente, os nutricionistas têm usado a suplementação com fitase como uma estratégia eficaz para aumentar a disponibilidade de P, ao mesmo tempo em que minimizam os impactos ambientais da produção animal (Moura et al., 2023; Varella et al., 2025).

Somados a esses benefícios nutricionais e ambientais, a utilização de fitase permite aumentar a inclusão de ingredientes vegetais mais baratos, permitindo também a diminuição da suplementação com fontes inorgânicas de P, que são caras nas formulações de rações para aves. A fitase irá funcionar como um catalisador na hidrólise do fitato, que se dá de maneira progressiva entre os grupos fosfatos e o álcool inositol (Khan et al. 2019). Entre as fitases que se ligam à nutrição das aves, temos a fitase endógena, que é gerada pela mucosa intestinal, a fitase intrínseca, que vem de plantas e está presente em alguns alimentos, e as fitases exógenas, que são extraídas de colônias de bactérias, fungos e leveduras (Hummer et al., 2015). A atividade da fitase endógena é bastante questionada, visto que é ineficaz, sendo classificada por alguns como uma atividade de fosfatase não específica, seja ácida ou alcalina (Hanauska et al., 2025).

A eficiência dessas fitases também dependerá da concentração total de Ca e P na ração, da origem e do teor de fitato, do nível de inclusão da fitase e da fonte de P inorgânico utilizada na dieta (Dersjant-Li et al., 2015). A complexação do fitato com o Ca mineral é preocupante, pois há autores que afirmam que a elevada ingestão de Ca na dieta eleva o pH intestinal, o que diminui a atividade da fitase pela formação de sais insolúveis de cálcio (Ma et al., 2019; Sommerfeld et al., 2018).

A atividade enzimática é medida em FTU, que é a quantidade de enzima capaz de liberar 1 micromol de P inorgânico por minuto, a partir do fitato de sódio, a 37 °C e

com pH 5,5. A fitase quebra as ligações entre o ácido fosfórico e o inositol, o que resulta na liberação gradual do fósforo. Durante esse processo, o ácido fítico (IP6) é gradualmente transformado em formas menos fosforiladas (IP5, IP4, IP3, IP2 e IP1), até que apenas o inositol livre permaneça e os fosfatos se tornem disponíveis para absorção. Além do fósforo, essa degradação pode liberar minerais que estavam associados ao fitato, como cálcio, ferro (Fe) e zinco (Zn) (Dersjant-Li et al., 2015; Faridi et al., 2015).

De acordo com o primeiro carbono do inositol que é atacado pela fitase, essas enzimas podem ser chamadas de 3-fitase, 5-fitase e 6-fitase (Tous et al., 2021; Joudaki et al., 2023). Outra maneira de classificar seria em relação ao pH ideal de atividade, separando as fitases ácidas (pH 2,0–5,5) das alcalinas (pH 7,0–8,0) (Joudaki et al., 2023; Vijayaraghavan et al., 2013; Hummer et al., 2015). As fitases bacterianas, como as de *Escherichia coli*, costumam ser mais eficazes em ambientes ácidos, enquanto as fitases fúngicas, derivadas de *Aspergillus niger*, têm seus picos de atividade em um intervalo de pH que vai de 2,5 a 5,5. Já as alcalinas, que vêm de *Bacillus* spp., necessitam de Ca^{2+} para garantir sua estabilidade e eficiência catalítica. Além disso, essas enzimas também são classificadas de acordo com os seus domínios catalíticos, sendo possíveis as seguintes categorias: fosfatases ácidas de histidina (HAPs), cisteína fosfatases (CPs), fosfatases ácidas púrpuras (PAPs) ou fosfatases alcalinas de β -propeller (BPPs), cada uma com seus próprios mecanismos de ação e origens. (Joudaki et al., 2023; Rizwanuddin et al., 2023)

As fosfatases ácidas de histidina (HAPs) hidrolisam o fitato de maneira sequencial, utilizando um resíduo de histidina do sítio ativo para formar um intermediário fosforilado. Esse processo permite a liberação gradual dos grupos fosfato do inositol, regenerando a histidina catalítica a cada ciclo de reação. (Valeeva et al., 2018; Acquistapace et al., 2020). As fitases β -propeller (BPPs) apresentam uma estrutura em forma de “hélice de pás” e dependem de íons Ca para estabilizar o substrato e promover a hidrólise dos fosfatos, atuando melhor em pH neutro a alcalino (Zhang et al., 2024; Kim et al., 2010). As fosfatases ácidas púrpura (PAPs) utilizam íons metálicos para ativar moléculas de água e quebrar ligações fosfato, sendo comuns em plantas. Já as fitases do tipo tirosina fosfatase (PTPs) utilizam de um resíduo de cisteína como nucleófilo e um aspartato como doador de prótons para

liberar P do fitato. Atuando melhor em pH ácido (4–5,5), gerando produtos parcialmente desfosforilados. Encontradas em bactérias, ainda não são usadas comercialmente devido à sensibilidade do resíduo catalítico à oxidação (Scott et al., 2024).

Nesse sentido, compreender as variáveis que afetam a ação da fitase, como o pH do estômago e do intestino, além das flutuações de temperatura, é fundamental. Por ser uma proteína, a fitase é susceptível a desnaturação em altas temperaturas, além de ser sensível à umidade e ter sua estabilidade dependendo da origem enzimática e do método de produção. O tipo de processamento, incluindo a aplicação de calor, pressão e umidade durante o condicionamento a vapor e a peletização, pode ter um impacto considerável na atividade residual da enzima durante a produção de rações peletizadas. Portanto, estratégias como a aplicação de fitase líquida sobre pellets resfriados e um armazenamento e manuseio cuidadosos são empregadas para preservar a atividade da enzima (Wang et al., 2023; Hummer et al., 2015; Jacela et al., 2010).

Para se obter resultados de produção excepcionais na criação de frangos de corte, é preciso ter uma eficiência alimentar cada vez melhor e uma redução significativa na ocorrência de doenças. Contudo, questões relacionadas à morfologia intestinal têm sido objeto de estudo por parte de pesquisadores que estão em busca de alternativas para substituir o uso de antibióticos como promotores de crescimento, em virtude do crescente aumento da resistência nas comunidades microbianas, o que pode resultar na propagação desses genes para os consumidores da carne de frango, além dos resíduos desses medicamentos (Abd El-Hack et al., 2022). A superdosagem de fitase, que ainda é um conceito relativamente novo na nutrição de aves, permite a quebra de ligações esterificadas em fitatos de cadeia menor, o que melhora o metabolismo das proteínas, da energia e de outros minerais, além de possibilitar a síntese de mio-inositol, que pode funcionar como um promotor de crescimento (Paul et al., 2025; Fernandes et al., 2019).

Por outro lado, Soares et al. (2024), Krabbe et al. (2024) e Nascimento et al. (2021) usaram quantidades maiores, como 1500 e 2000 FTU, mas não observaram melhorias em desempenho, digestibilidade ou redução de custos em comparação aos níveis padrão utilizados por formuladores (500 e 1000 FTU).

Devido à sua essencialidade na degradação do fitato e na otimização da absorção de P e Ca, a fitase também impacta diretamente o metabolismo ósseo das aves. Ao degradar o ácido fítico, maximiza-se o uso do Ca dietético e do P disponível, o que, por sua vez, aprimora a formação e a reabsorção óssea (Moradi et al., 2023). Exames como a densidade mineral óssea, realizada pelo método DXA (absorciometria de dupla energia), e a resistência óssea, medida por testes mecânicos, forneceram informações valiosas sobre como a adição de fitase afeta a mineralização e a qualidade óssea (Kim et al., 2012).

2.5 Formação óssea

O tecido ósseo é o segundo tecido a se desenvolver, logo após o tecido nervoso, funcionando como base estrutural para o tecido muscular, que se forma em seguida. Os ossos têm funções essenciais na sustentação e locomoção do corpo, na reserva de minerais, na produção de células sanguíneas e de células indiferenciadas. Em torno de 85% do fósforo (P) e quase 99% do cálcio (Ca) do corpo estão depositados no esqueleto, majoritariamente sob a forma de hidroxapatita, um sal pouco solúvel, mas que se solubiliza em ambiente ácido (Macari et al., 2024).

No que diz respeito ao metabolismo ósseo, diversos tipos celulares têm funções distintas e são afetados pelos níveis de Ca e P no sangue, o que cria uma conexão direta com a ação da fitase. Se houver um desequilíbrio entre eles, a atividade celular pode ser prejudicada, resultando em distúrbios como a discondroplasia tibial e a osteoporose. Os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos estão entre as principais células do tecido ósseo (Győri et al., 2024). Os osteoblastos são as células que produzem a matriz óssea, chamada de osteoide, que ainda não foi mineralizada (Macari et al., 2024). Toda essa matriz osteoide é formada por colágeno e outras proteínas que ajudam na deposição dos minerais. Quando o osso se forma, parte dos osteoblastos ficam presos na matriz e se transformam em osteócitos (Győri et al., 2024). Esses osteócitos são a forma madura das células ósseas e estão situados em pequenas lacunas que se conectam por canalículos, possibilitando a comunicação e o transporte de nutrientes entre eles. Sua função primária é preservar o tecido ósseo

e identificar microlesões, além de atuar na regulação da remodelação óssea (Dirckx et al., 2019; Macari et al., 2024).

Já os osteoclastos, por sua vez, são grandes células multinucleadas que têm a função de reabsorver o tecido ósseo. Elas funcionam em áreas específicas durante a remodelação, liberando ácidos e enzimas que desintegram a matriz mineralizada, liberando Ca e P de acordo com as necessidades do corpo. Há também as osteoprogenitoras, que ficam no periósteo e no endósteo, agindo como precursoras de osteoblastos e atuando no crescimento e na reparação óssea (Győri et al., 2024; Macari et al., 2024; Macari et al., 2017).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, F.; FAKHUR-UN-NISA, T.; LIU, J.; LUO, X.; ABBASI, I. H. R. Low digestibility of phytate phosphorus, their impacts on the environment, and phytase opportunity in the poultry industry. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 9469-9479, 2019.

ABD EL-HACK, M. E.; EL-SAADONY, M. T.; SALEM, H. M.; EL-TAHAN, A. M.; SOLIMAN, M. M.; YOUSSEF, G. B.; ...; SWELUM, A. A. Alternatives to antibiotics for organic poultry production: types, modes of action and impacts on bird's health and production. **Poultry Science**, v. 101, n. 4, p. 101696, 2022.

ACQUISTAPACE, I. M.; ZI, M. A.; LI, A. W.; SALMON, M.; KÜHN, I.; BEDFORD, M. R.; ...; HEMMINGS, A. M. Snapshots during the catalytic cycle of a histidine acid phytase reveal an induced-fit structural mechanism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 51, p. 17724-17737, 2020.

ADERIBIGBE, A. S.; AJUWON, K. M.; ADEOLA, O. Dietary phosphorus level regulates appetite through modulation of gut and hypothalamic expression of anorexigenic genes in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 101, n. 2, p. 101591, 2022.

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

AUER, J.; ALMINGER, M.; MARINEA, M.; JOHANSSON, M.; ZAMARATSKAIA, G.; HÖGBERG, A.; LANGTON, M. Assessing the digestibility and estimated bioavailability/bioaccessibility of plant-based proteins and minerals from soy, pea, and faba bean ingredients. **LWT**, v. 197, p. 115893, 2024.

CARPENTER, T. O.; BERGWITZ, C.; INSOGNA, K. L. Phosphorus homeostasis and related disorders. In: **PRINCIPLES OF BONE BIOLOGY**. Academic Press, p. 469-507, 2020.

COUDERT, E.; CORRALES, N. L.; JUANCHICH, A.; POIJOL, M.; RIBEIRO, B.; CHALVON-DEMERSAY, T.; FONDEVILA, G. The role of phosphorus sources and phytase in growth performance and feed digestibility in broilers. **Animals**, v. 15, n. 14, p. 2111, 2025.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R.; SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 3, p. 401-418, 2009.

COZANNET, P.; DAVIN, R.; JLALI, M.; JACHACZ, J.; PREYNAT, A.; MOLIST, F. Dietary metabolizable energy, digestible lysine, available phosphorus levels and exogenous enzymes affect broiler chicken performance. **Animal**, v. 15, n. 5, p. 100206, 2021.

COZANNET, P.; JLALI, M.; MOORE, D.; ARCHIBEQUE, M.; PREYNAT, A. Evaluation of phytase dose effect on performance, bone mineralization, and prececal phosphorus digestibility in broilers fed diets with varying metabolizable energy, digestible amino acids, and available phosphorus concentration. **Poultry Science**, v. 102, n. 7, p. 102755, 2023.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 878-896, 2015.

DIRCKX, N.; MOORER, M. C.; CLEMENS, T. L.; RIDDLE, R. C. The role of osteoblasts in energy homeostasis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 11, p. 651-665, 2019.

DOZIER, W. A.; PERRYMAN, K. R.; HESS, J. B. Apparent ileal amino acid digestibility of reduced-oil distillers dried grains with solubles fed to broilers from 23 to 31 days of age. **Poultry Science**, v. 94, n. 3, p. 379-383, 2015.

FARIDI, A.; GITOOEE, A.; FRANCE, J. A meta-analysis of the effects of nonphytate phosphorus on broiler performance and tibia ash concentration. **Poultry Science**, v. 94, n. 11, p. 2753-2762, 2015.

FERNANDES, J. I. M.; HORN, D.; RONCONI, E. J.; BUZIM, R.; LIMA, F. K.; PAZDIORA, D. A. Effects of phytase superdosing on digestibility and bone integrity of broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 2, p. 390-398, 2019.

GYÓRI, D. S. Research on bone cells in health and disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 16, p. 8758, 2024.

HANAUSKA, A.; SOMMERFELD, V.; SCHOLLENBERGER, M.; HUBER, K.; RODEHUTSCORD, M. Endogenous mucosal phosphatases characterization in duodenum brush border membrane of laying hens. **Frontiers in Physiology**, v. 16, p. 1581088, 2025.

HUMER, E.; SCHWARZ, C.; SCHEDULE, K. Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 605-625, 2015.

JACELA, J. Y.; DEROUCHÉY, J. M.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; NELSEN, J. L.; RENTER, D. G.; DRITZ, S. S. Feed additives for swine: fact sheets – high dietary levels of copper and zinc for young pigs, and phytase. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, n. 10, p. 87-91, 2010.

JOUDAKI, H.; ARIA, N.; MORAVEJ, R.; YAZDI, M. R.; EMAMI-KARVANI, Z.; HAMBLIN, M. R. Microbial phytases: properties and applications in the food industry. **Current Microbiology**, v. 80, n. 12, p. 374, 2023.

KHAN, K.; ZANEB, H.; REHMAN, Z. U.; MARIS, H.; REHMAN, H. Effect of phytase supplementation on growth performance in broiler chickens. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 51, n. 2, p. 731, 2019.

KIM, O. H.; KIM, Y. O.; SHIM, J. H.; JUNG, Y. S.; JUNG, W. J.; CHOI, W. C.; ...; OH, B. C. β -Propeller phytase hydrolyzes insoluble Ca^{2+} -phytate salts and completely abrogates the ability of phytate to chelate metal ions. **Biochemistry**, v. 49, n. 47, p. 10216-10227, 2010.

KIM, W. K.; BLOOMFIELD, S. A.; SUGIYAMA, T.; RICKE, S. C. Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 1, p. 71-82, 2012.

KNÖPFEL, T.; HIMMERKUS, N.; GÜNZEL, D.; BLEICH, M.; HERNANDO, N.; WAGNER, C. A. Paracellular transport of phosphate along the intestine. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 317, n. 2, p. G233-G241, 2019.

KRABBE, E. L.; GOPINGER, E.; CORASSA, R.; BUDKE, R. C. K.; NAIORKA, A. Phytase as a strategy to reduce broiler feeding costs during scenario of high ingredient price. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 26, n. 2, eRBCA-2023, 2024.

KUMAR, V.; SINHA, A. K.; MAKAR, H. P.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 945-959, 2010.

LEE, S. A.; LOPEZ, D. A.; STEIN, H. H. Mineral composition and phosphorus digestibility in feed phosphates fed to pigs and poultry. **Animal Bioscience**, v. 36, n. 2, p. 167, 2022.

LI, X.; ZHANG, D.; YANG, T. Y.; BRYDEN, W. L. Phosphorus bioavailability: a key aspect for conserving this critical animal feed resource with reference to broiler

nutrition. **Agriculture**, v. 6, n. 2, p. 25, 2016.

MA, Q.; RODEHUTSCORD, M.; NOVOTNY, M.; LI, L.; YANG, L. Phytate and phosphorus utilization by broiler chickens and laying hens fed maize-based diets. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering**, v. 6, p. 380-387, 2019.

MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: FUNEP, 2017. p.281-285; p.326-328.

MACARI, M.; LIZANA, R. R.; SAKOMURA, N. K. **Crescimento do frango de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 2024. p. 57-64.

MAROLT, G.; GRIČAR, E.; PIHLAR, B.; KOLAR, M. Complex formation of phytic acid with selected monovalent and divalent metals. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, p. 582746, 2020.

MARTÍNEZ-HEREDIA, L.; CANELO-MORENO, J. M.; GARCÍA-FONTANA, B.; MUÑOZ-TORRES, M. Non-classical effects of FGF23: molecular and clinical features. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 9, p. 4875, 2024.

MEKONNEN, M. M.; HOEKSTRA, A. Y. Global anthropogenic phosphorus loads to freshwater and associated grey water footprints and water pollution levels: a high-resolution global study. **Water Resources Research**, v. 54, n. 1, p. 345-358, 2018.

MORADI, S.; ABDOLLAHI, M. R.; MORADI, A.; JAMSHIDI, L. Effect of bacterial phytase on growth performance, nutrient utilization, and bone mineralization in broilers fed pelleted diets. **Animals**, v. 13, n. 9, p. 1450, 2023.

MOURA, T. F.; REIS, M. P.; HORNA, F. A.; NÓBREGA, I. P. T.; BELLO, A.; DONATO, D. C.; ...; SAKOMURA, N. K. A novel consensus bacterial 6-phytase variant improves the responses of laying hens fed an inorganic phosphorus-free diet with reduced energy and nutrients from 23 to 72 wk of age. **Poultry Science**, v. 102, n. 10, p. 102949, 2023.

NASCIMENTO, R. A.; PELISSARI, P. H.; MORAES, U. R. T. D.; GONÇALVES, J. C.; WEN, N.; ARAÚJO, C. S. D. S.; ...; ARAÚJO, L. F. Nutritional cost reduction and increase profitability in commercial broiler production using phytase superdosing. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 50, e20200031, 2021.

NETO, J. P. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. p. 61-72.

NUAMAH, E.; OKON, U. M.; JEONG, E.; MUN, Y.; CHEON, I.; CHAE, B.; ...; CHOI, N. J. Unlocking phytate with phytase: a meta-analytic view of meat-type chicken muscle growth and bone mineralization potential. **Animals**, v. 14, n. 14, p. 2090, 2024.

PALOIAN, N. J.; GIACHELLI, C. M. A current understanding of vascular calcification in CKD. **American Journal of Physiology – Renal Physiology**, v. 307, n. 8, p. F891-F900, 2014.

PAUL, S. S.; RAO, S. V. R.; CHATTERJEE, R. N.; RAJU, M. V. L. N.; PRAKASH, B.;

YADAV, S. P.; ...; KUMAR, P. S. P. Evaluation of phytase super dosing and its combinations with other additives as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens reared in a deep litter system. **Frontiers in Animal Science**, v. 6, p. 1539543, 2025.

PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M.; ANGEL, R. Calcium and phosphorus metabolism in broilers: effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 609-627, 2013.

RIBEIRO, M. V.; CRISTO, A. B. D.; BORDIGNON, H. L. F.; SIMÕES, E. P.; BITTENCOURT, L. C.; FERNANDES, J. I. M. Supplementation of minerals and vitamins in broiler diets: effect on performance and bone quality. **Ciência Animal Brasileira**, v. 22, e-67656, 2021.

RIZWANUDDIN, S.; KUMAR, V.; SINGH, P.; NAIK, B.; MISHRA, S.; CHAUHAN, M.; ...; KUMAR, V. Insight into phytase-producing microorganisms for phytate solubilization and soil sustainability. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1127249, 2023.

SCHOLEY, D. V.; MORGAN, N. K.; RIEMENSPERGER, A.; HARDY, R.; BURTON, E. J. Effect of supplementation of phytase to diets low in inorganic phosphorus on growth performance and mineralization of broilers. **Poultry Science**, v. 97, n. 7, p. 2435-2440, 2018.

SCOTT, B. M.; KOH, K.; RIX, G. D. Structural and functional profile of phytases across the domains of life. *Current Research in Structural Biology*, v. 7, p. 100139, 2024.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v. 124, n. 1-3, p. 126-141, 2009.

SERNA, J.; BERGWITZ, C. Importance of dietary phosphorus for bone metabolism and healthy aging. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 3001, 2020.

SINCLAIR-BLACK, M.; GARCIA, R. A.; ELLESTAD, L. E. Physiological regulation of calcium and phosphorus utilization in laying hens. **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 1112499, 2023.

SOARES, M. D. N.; SALGADO, H. R.; KANEKO, I. N.; JACOB, R. D. F.; PINHEIRO, S. G.; FERREIRA, T. D. S.; ALBINO, L. F. T. Effects of high phytase dosage on broiler performance and nutrient digestibility. **Ciência Animal Brasileira**, v. 25, p. 78718E, 2024.

SOMMERFELD, V.; SCHOLLENBERGER, M.; KÜHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 4, p. 1177-1188, 2018.

SUN, M.; HE, Z.; JAISI, D. P. Role of metal complexation on the solubility and

enzymatic hydrolysis of phytate. **PLOS ONE**, v. 16, n. 8, e0255787, 2021.

SUTTLE, N. **Mineral nutrition of livestock**. Wallingford: CABI, 2022. p.6-8; p.119-120.

THIRUMALAIKUMAR, G.; MURALIDHARAN, J.; SENTHILKUMAR, S.; SAYEE, R. H.; PRIYADHARSINI, M. Cost-effective feeding of poultry. **International Journal of Science, Environment and Technology**, v. 5, n. 6, p. 3997-4000, 2016.

TORRES, P. A. U.; DE BRAUWERE, D. P. Three feedback loops precisely regulating serum phosphate concentration. **Kidney International**, v. 80, n. 5, p. 443-445, 2011.

TOUS, N.; TARRADAS, J.; FRANCESCH, M.; FONT-I-FURNOLS, M.; ADER, P.; TORRALLARDONA, D. Effects of exogenous 6-phytase supplementation on performance, calcium and phosphorous digestibility, and bone mineralisation and density in weaned piglets. **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1787, 2021.

VALEEVA, L. R.; NYAMSUREN, C.; SHARIPOVA, M. R.; SHAKIROV, E. V. Heterologous expression of secreted bacterial phytases in plants stimulates *Arabidopsis thaliana* growth on phytate. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 186, 2018.

VARELLA, G. O. M.; RIVEROS, R. L.; LEME, B. B.; RIBEIRO, B.; POIJOL, M.; SAKOMURA, N. K. Evaluation of the calcium humophosphate supplemented with phytase on phosphorus digestibility and performance in 21-day-old broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 34, n. 2, p. 100526, 2025.

VIJAYARAGHAVAN, P.; PRIMIYA, R. R.; PRAKASH VINCENT, S. G. Thermostable alkaline phytase from *Alcaligenes* sp. in improving bioavailability of phosphorus in animal feed: in vitro analysis. **International Scholarly Research Notices**, v. 2013, p. 394305, 2013.

VITTI, D. M. S. S.; KEBREAB, E. Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals. **Wallingford: CABI**, 2010.

WAGNER, C. A. The basics of phosphate metabolism. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 39, n. 2, p. 190-201, 2024.

WAGNER, C. A.; RUBIO-ALIAGA, I.; HERNANDO, N. Renal phosphate handling and inherited disorders of phosphate reabsorption: an update. **Pediatric Nephrology**, v. 34, n. 4, p. 549-559, 2019.

WANG, Y.; ZHAO, F.; ZHANG, H.; ZHANG, Q.; ZHAO, W.; SA, R.; XIE, J. Effects of phytase source and dose on its stability during pelleting process under different conditioning temperatures. **Animals**, v. 13, n. 23, p. 3741, 2023.

WIDDERICH, N.; BUBENHEIM, P.; LIESE, A. Online monitoring of phytate content in plant residuals during wet-treatment. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 612, 2024.

WU, D.; WU, S. B.; CHOCT, M.; SWICK, R. A. Comparison of three phytases on

energy utilization of a nutritionally marginal wheat-soybean meal broiler diet. **Poultry Science**, v. 94, n. 11, p. 2670-2676, 2015.

ZAFAR, M. H.; FATIMA, M. Efficiency comparison of organic and inorganic minerals in poultry nutrition: a review. **PSM Veterinary Research**, v. 3, n. 2, p. 53-59, 2018.

ZHANG, Y.; LI, J.; LU, F.; WANG, S.; REN, Y.; GUO, S.; ...; GAO, W. The enzyme activity of dual-domain β -propeller alkaline phytase as a potential factor in improving soil phosphorus fertility and *Triticum aestivum* growth. **Agronomy**, v. 14, n. 3, p. 614, 2024.

**CAPÍTULO 2 – DIETARY PHYTIC PHOSPHORUS LEVELS
MODULATE THE BIOEFFICACY OF PHYTASE IN BROILER
CHICKENS AND AFFECT PERFORMANCE AND NUTRIENT
DIGESTIBILITY**

Este capítulo é apresentado seguindo as normas da revista Journal of Applied Poultry Research

Running title: Phytase and NPP in broiler chickens

Dietary phytic phosphorus levels modulate the bioefficacy of phytase in broiler chickens and affect performance and nutrient digestibility

Pedro de C. Gaio^a, Nilva Sakomura^a

^a Department of Animal Science, São Paulo State University (Unesp), School of Agricultural and Veterinary Sciences, Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

Statement of primary audience: Metabolism and nutrition

Corresponding author: nilva.sakomura@unesp.br

SUMMARY

Phytase plays a central role in modern broiler nutrition by improving the availability of phosphorus from plant-derived ingredients. Despite its widespread use, the biological response to phytase is not uniform and depends strongly on the nutritional environment in which the enzyme operates, particularly the amount of phytate present in the diet. Understanding this relationship is essential for improving nutrient efficiency and supporting physiological development in poultry. This study explores the interaction between dietary phytate availability and phytase supplementation, emphasizing how enzyme efficacy is shaped by substrate supply rather than by inclusion level alone. The work provides insight into how phytase contributes to nutrient utilization and skeletal integrity when diets differ in their inherent phosphorus complexity. Overall, the findings reinforce the concept that phytase should be strategically integrated into feed formulation based on diet composition. Such an approach supports efficient mineral metabolism, promotes healthy growth, and contributes to more sustainable phosphorus use in broiler production systems.

Keywords: enzyme, animal nutrition, minerals, phosphorus

DESCRIPTION OF PROBLEM

Intensive genetic selection in broiler chickens, which has yielded birds with high growth rates and feed efficiency, has concurrently identified the importance of precise mineral nutritional supply for optimal bone mineralization and development (Zuidhof et al., 2014). Phosphorus (P) is an essential macromineral, participating in bone mineralization and cellular structure and function. Particularly, P is a component of nucleic acids, phospholipid membranes, and adenosine triphosphate (ATP). Furthermore, P plays an important role in mineral and energy metabolism, cellular metabolism, and growth (Kritmetapak e Kumar, 2021; Abbasi et al., 2019).

Conventionally, poultry diets are formulated with plant-based ingredients such as corn, soybean meal, sorghum, and wheat. A main nutritional challenge is that approximately 70% of total P in these ingredients is bound as phytate phosphorus (PP, myo-inositol hexakisphosphate), the primary storage form of P in plants (Cowieson et al., 2016). Broiler chickens secrete insufficient endogenous phosphatase enzymes in the gastrointestinal tract (GT) to break down PP, rendering this phytate-bound P largely unavailable for absorption (Hernandez et al., 2022). PP is characterized as an antinutritional factor due to its high density of phosphate group anions, which enable it to chelate cations (Ca, Zn, and Fe) and form insoluble complexes with proteins and starch. These interactions consequently reduce the digestibility of nutrients and associated minerals (Philippi et al., 2024; Macari & Maiorka, 2017; Hummer et al., 2015).

To mitigate these antinutritional effects, exogenous phytase supplementation is widely adopted. This enzyme catalyzes the step-wise hydrolysis of PP, releasing available P for absorption (Lim et al., 2024; Varela et al., 2025). However, the bioefficacy of exogenous phytase is not constant and is intrinsically modulated by its substrate concentration (Bedford et al., 2016). The PP content of feed is highly variable and depends on the specific composition of its ingredients. For instance, while diets containing animal by-products are inherently lower in PP, formulations based on rice bran and sorghum can contain very high PP, around 70-90% of total P (Lee et al., 2022; Rostagno et al., 2024). Consequently, the effectiveness of phytase depends on its interaction with the substrate, suggesting that P release throughout the gastrointestinal

tract may yield distinct responses depending on the initial PP concentration (Zhang et al., 2024).

Although the benefits of phytase are well known, it remains unclear how its efficacy across different enzyme levels is affected by varying dietary PP concentrations. We hypothesize that the birds' response to phytase supplementation is dependent on the availability of the substrate. Therefore, identifying the appropriate interaction between enzyme level and PP levels is essential for maximizing nutrient absorption and reducing dependence on inorganic phosphorus. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of different phytase levels in diets formulated to vary PP content on growth performance, nutrient digestibility, and bone mineralization in broiler chickens.

MATERIAL AND METHODS

Ethical Implications

All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of São Paulo State University (CEUA), under protocol number 4897/2024.

The experiment was conducted in two trials: (i) performance response trial and (ii) digestibility trial. In both trials, the same experimental diet was used.

Experimental Diets

The basal diets were formulated to meet or exceed the nutritional recommendations for Ross 308 broiler chickens (Aviagen, 2022), except calcium and non-phytic phosphorus (NPP). Two basal diets were formulated to contain reduced levels of calcium (0.36%) and NPP (0.22%). These nutrient reductions were conducted to meet the nutritional requirements when 2000 FTU/kg of phytase was supplemented, corresponding to a bacterial phytase of sixth generation calcium and NNP contribution (0.22 NNP and 0.36% Ca at 2000 FTU/kg). Basal diets were formulated at low (45% PP) and high (55% PP) concentrations, mainly by including specific ingredients (meat meal by-product and rice bran, respectively). Phytase was incorporated into the basal diet at 1000, 1500, and 2000 FTU/kg. All diets were offered in mashed form from 1 to 21-day-old. Basal diet composition is presented in Table 1.

The experimental design consisted of eight treatments, resulting from a factorial

arrangement of two PP levels and four phytase supplementation levels, including the basal diets (0, 1000, 1500, and 2000 FTU/kg of feed).

During feed manufacturing, a sample of each treatment was collected for further chemical analysis, including phytase activity, which was conducted at an external laboratory (CBO, Valinhos, Brazil) using the AOAC 2000.12 method (AOAC, 1990).

Performance trial

Animals and Housing

A total of 2400 one-day-old male Ross 308 AP broiler chickens were used. The birds were housed in a controlled environment poultry house and randomly distributed across 80 pen floors, with 30 birds per experimental unit (6.67 birds/m²). Environmental temperature and relative humidity were adjusted according to Aviagen's genetic guidelines (2018). Birds were fed *ad libitum* and had free access to drinking water. The lighting program was initially set to continuous light (24 h) during the first week, then adjusted to 18 L:6 D throughout the experimental period.

Performance

At 21-days-old, birds and feed leftovers from each pen were weighed to obtain the body weight (BW) and feed intake (FI). Based on these results, the daily body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR) were calculated. Mortality was recorded daily, and FI and FCR were adjusted accordingly.

Bone mineralization and body composition

At 21-days-old, two birds per pen were selected according to average BW, euthanized by cervical dislocation, and proceeded to tibia bone collection for bone strength measurement. Bone strength involves bone processing, removal of soft and connective tissues, and cleaning to prepare for a mechanical strength test in a compression machine (Instron universal testing machine, model 23S, Instron, Norwood, MA, USA), which measures maximum bone strength and fracture resistance.

At the same age, another bird from each pen was selected, and the body weight was measured, which represents the average BW of the pen (with a tolerance of 5%).

The selected birds were labeled and fasted for six hours, followed by scanning using dual-energy X-ray absorptiometry (Discovery WiTM DXA device, Hologic, Bedford, MA) to determine bone mineral content, lean tissue, and adipose tissue. The scanning procedure was followed as described by Gonçalves et al. (2019), in which the birds were positioned in a horizontal dorsal recumbency position with their wings and legs spread. The birds were scanned craniocaudally, covering the entire bird in high-resolution mode.

Ileal Digestibility trial

Animals and Housing

At 14 days old, 800 male Ross 308 broiler chicks were selected and randomly assigned to eight treatments, with 10 replicates of 10 birds each. The birds were allocated in metabolic cages equipped with feeders and nipple type drinkers. The birds were fed experimental diets until 21-days-old. All management practices were similar to those previously described in trial 1. Titanium dioxide (TiO₂) was added to the diets as an indicator to assess ileal digestibility.

Ileal Content Sampling

At 21-days-old, two birds per pen were euthanized by cervical dislocation. The ileum was exposed through an abdominal incision, and gut contents were collected using the flushing method (distilled water wash). The samples were frozen and stored at -20°C for further lyophilization at -60°C to obtain a dried sample. Afterwards, the samples were ground in a ball mill and analyzed for dry matter, crude protein (AOAC 954.01), gross energy by bomb IKA C2000 basic, calcium (AOAC 927.02), phosphorus (AOAC 964.06), and titanium contents according to Detmann et al. (2021) and AOAC (1990).

Based on the nutrients' analytical determination, as well as the indicator (TiO₂), the apparent ileal digestibility (AID) of the nutrients was determined according to the formula:

$$AID(\%) = \left(1 - \frac{TiO_{2diet}}{TiO_{2digesta}} \times \frac{N_{digesta}}{N_{diet}} \right) \times 100$$

Where TiO_{2diet} and $TiO_{2digesta}$ are the titanium concentrations in the diet and the digesta, also N_{diet} and $N_{digesta}$ are the nutrient concentrations.

Statistical analysis

The collected data were checked for normality of errors and homoscedasticity using the UNIVARIATE and TRANSREG procedures, respectively. Possible outliers were identified and removed based on a threshold of ± 2 standard deviations from the mean using SAS (SAS On Demand). All response variables were analyzed as a 2x4 factorial (phytate levels x phytase inclusion levels) using generalized linear models in the SAS GLM procedure. Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to test for significant effects ($p < 0.05$) of the phytate and phytase factors, as well as their interaction. Subsequently, linear or quadratic polynomial contrasts were fitted for phytase levels within each PP group (high and low).

For the apparent ileal digestibility coefficient of phosphorus, an exponential function was fitted:

$$Y = a - b * \exp(-c * X)$$

Where Y represents the apparent ileal digestibility of phosphorus (%), X represents the phytase inclusion level (FTU/kg), a is the maximum asymptotic value on the Y -axis, b is the amplitude between the maximum and minimum value, and c represents the control's exponential growth or decrease.

RESULTS AND DISCUSSION

The chemical composition (dry matter, ash, and crude protein), mineral content (calcium and total phosphorus), and phytase activity of the experimental diets are shown in Table 2. During diet formulation, a relatively aggressive nutritional matrix was adopted, with a reduction of 0.22% in available phosphorus (AvP) and 0.36% in calcium compared to the recommendations for Ross 308 broilers, creating a mineral imbalance that may have affected intake, digestibility, and bone mineralization. The results showed that the phytase activity measured in each diet was <0.10, 1390, 1660, and 2810 FTU/kg in the low-PP group, and <0.10, 1280, 1780, and 2710 FTU/kg in the high-PP group, following the same pattern across dietary groups. Phytase activity was

close to the calculated values in the feed formulation, except at the highest levels, which should have been nearer to the targeted 2000 FTU/kg. Additionally, the high-PP diet groups had higher total phosphorus content (0.70%) compared to the low-PP group (0.52%), which influenced the feed's ash content. Although calcium levels were very similar across PP groups ($0.58 \pm 0.05\%$), they aligned with the calculated values in the formulation.

Performance results (Table 3), no interactions between the main factors were observed. However, phytase level and PP diets influenced all performance responses ($P < 0.05$). The FI increased linearly ($P < 0.05$) as phytase increased. Additionally, low-PP diets resulted in lower FI compared to high-PP diets ($P < 0.05$). This reduction in intake under mineral restriction may be associated with homeostatic endocrine responses, in which Ca-sensing receptors (CASR) stimulate parathyroid hormone (PTH) secretion, increasing calcitriol synthesis and modulating anorexigenic pathways (Serna & Bergwitz, 2020; de Queiroz et al., 2025; Martínez-Heredia et al., 2024; Sinclair-Black et al., 2023). This outcome showed an increase in BWG, with quadratic ($P < 0.05$) responses to phytase supplementation, with higher values at the 2000 FTU/kg inclusion level. Conversely, the low-PP diet was associated with lower BWG. These results indicated a quadratic response of FCR ($P < 0.05$), with lower FCR between 1000 and 1500 FTU/kg and an increase at 2000 FTU/kg in the low-PP group. Meanwhile, in the high-PP group, FCR decreased to 2000 FTU/kg of phytase, suggesting interaction between the main factors ($P < 0.10$). This resulted in lower averages in the low-PP group compared to the high-PP group.

The nutritional reduction of P is usually associated with an anorexic response, leading to a decrease in FI (Aderibigbe et al., 2022), as demonstrated in this study, with a 0.22% reduction in NPP compared to that recommended by Aviagen (2022). Aderibigbe et al. (2022) demonstrated that severe P deficiency increases the expression of anorexigenic genes such as melanocortin receptors (MC4R) and NaPi-II, likely mediated by increased circulating calcitriol, which may suppress appetite. Additionally, calcitriol stimulates osteoblastic activity, which may increase lipocalin-2 (LCN2) secretion, an osteokine capable of crossing the blood–brain barrier and activating MC4R pathways in the hypothalamus, reinforcing feed intake suppression (Mera et al., 2018; Wang et al., 2018). In studies involving phytase supplementation,

improved performance responses have been seen at levels from 500 to 5000 FTU/kg (Dersjant-Li et al., 2022; Martínez-Vallespín et al., 2025; Manobhavan et al., 2016). However, the extent of the response can vary based on substrate sources and levels, as shown by Zhang et al. (2024), who evaluated diets with different PP concentrations in broilers, noting a significant improvement in performance and digestibility with phytase addition in both groups, although the effect was more pronounced in diets with higher PP content.

Cozannet et al. (2023) varying the levels of metabolizable energy, digestible lysine, Ca, and NPP and the inclusion of phytase (1000 and 2000 FTU/kg), reported improvements in performance, showing linear enhance of FI and quadratic response for BWG, FCR, and bone ash content. Similarly, Shi et al. (2024) tested the inclusion of two types of bacterial phytase derived from *Eimeria* spp. in diets deficient in Ca and NPP and supplemented with 500 and 1500 FTU/kg. The authors observed improvements in performance and bone mineral content compared with the positive control (no mineral restriction), especially in the group that received the highest enzyme dose. Favorable result of performance is associated with enhancing nutrients digestibility and utilization.

Table 4 show the apparent ileal digestibility coefficients for crude protein, gross energy, calcium, and phosphorus. No interaction effect was observed for any nutrient digestibility. Meanwhile, the GE digestibility coefficients displayed a quadratic trend ($P < 0.10$). Nutrient digestibility improvements are directly related to kinetic and hindgut environmental conditions and their influence on diet chemical characteristics. Feed characteristics are related to the formation of nutrient chelates with lipoproteins, glycoproteins, oligoproteins, and other minerals, resulting in reduced protein and energy digestibility, which can be mitigated by PP content (Macari and Maiorka, 2017; Wise et al., 2024). In this sense, phytase acts by breaking down these complexes in smaller molecules to be absorbed by enterocytes. Dersjant-Li et al. (2022) detected a linear effect on nitrogen digestibility with the inclusion of 500 and 1000 FTU/kg in 15-day-old broilers, associating with the breakdown of PP by phytase and reducing amino acid complexation. Additionally, they include the impact of diet quality, meaning that diets with high digestibility tend to have a lower response to phytase activity. This corroborates the results of the present study, as the low-PP group has a diet with better

digestibility due to the inclusion of animal ingredients and a lower PP level, thereby reducing the favorable effect of phytase inclusion.

Additionally, calcium digestibility increases quadratically with phytase inclusion level, reaching a high coefficient at 1000 and 1500 FTU/kg ($P < 0.05$), with this effect more evident in high-PP diets. Under mineral deficiency conditions, Ca mobilization from bone occurs via PTH stimulation, which increases osteoclastic resorption to restore circulating Ca and P levels (Serna & Bergwitz, 2020). According to Macari and Maiorka (2017) and Joudaki et al. (2023), differences in Ca digestibility between the PP groups are influenced by chelate formation, gut pH, and the presence of mineral cations. The calcium in the proventriculus as bicarbonate increases pH and negatively influences phytase activity, eventually increasing PP binding and reducing calcium absorption (Selle et al., 2009). Osunbami et al. (2024), conducting a study to quantify the digestible calcium of an exogenous phytase in broilers, tested increasing levels of phytase to CN (0, 500, 1000, 2000, and 4000 FTU/kg). The AID and the Ca retention at 21 days of age. The authors reported similar behavior in both variables, increasing at 1000 FTU/kg and stabilized at the high levels (1500 and 2000 FTU/kg). A similar quadratic response in Ca digestibility was observed with phytase supplementation by Walters et al. (2019) in broiler chickens at 14 days old. The authors also observed that high phytase doses (3000 FTU/kg) reduced calcium digestibility. Similarly, Sommerfeld et al. (2018) observed that lower phosphorus content improved calcium digestibility. The reduction in calcium digestibility at higher phytase doses may be related to alterations in the Ca:P ratio and homeostatic regulatory mechanisms that modulate calcium absorption when mineral availability is excessive. This suggests that calcium utilization is influenced not only by phytase inclusion level but also by mineral balance and physiological regulation processes (Venter et al., 2024)

However, P digestibility was significantly affected by phytase supplementation level ($P < 0.05$), with a quadratic increase, reaching a maximum value at 1500 FTU/kg in birds fed with high-PP. These results indicate that phytase primarily improves nutrient digestibility in diets with low-PP levels, a relationship that depends on the substrate used in feed formulation. The greater response observed in the averages in the high-PP group suggests that higher phytase doses may still promote additional hydrolysis due to increased substrate availability, whereas the response in low-PP

diets may reflect substrate limitation (Zhang et al., 2024).

To clarify how P digestibility improves, nonlinear regression analysis was performed, revealing a trend across different PP sources (Figure 1). The results showed that the response for low-PP exhibited greater effect in P digestibility compared to high-PP, as indicated by the rate of increase (-0.0018 versus -0.0024) and a higher asymptotic value (75.05 versus 68.07) for low- versus high-PP, respectively. However, the starting point (control treatments representing zero phytase level) was very similar between PP groups. Zhang et al. (2024) found that the low-PP group's response stabilized at 0,19% with 2000 FTU/kg, while the high-PP group stabilized at 0,27%, requiring a higher dose (4000 FTU/kg). According to our results, this occurs because higher phytase dose are needed to maximize hydrolysis in diets with greater substrate availability. This increase in P release due to phytase addition has also been reported in previous studies (Osunbami et al., 2024; Walters et al., 2019; Varella et al., 2025). Additionally, in the low-PP group, there is a higher proportion of ingredients of animal origin with high digestibility and P availability, while maintaining only corn and soybean as PP sources (Zare-Sheibani et al., 2015; Dilelis et al., 2021). Casas and Stein (2015) tested the inclusion of phytase in pig diets with different rice by-products. They observed that ileal P digestibility was improved with the addition of phytase. However, the results varied according to the by-product, being less evident in brown rice bran and defatted rice bran. According to the authors, this result may have been influenced by the milling process, which possibly kept the aleurone layers, where PP is stored intact. Furthermore, the study demonstrated that the basal diet treatment (without rice by-product inclusion) yielded better results than the others, even with phytase inclusion, indicating the difficulty in breaking down PP present in rice. Dilelis et al. (2021) found in diets with meat and bone meal and poultry by-product meal higher ileal P digestibility.

As a result of calcium and phosphorus digestibility, it directly impacted bone mineralization. Although no interaction effects were detected for tibia breaking strength and bone mineral content, body composition, lean mass, and fat mass were not influenced by the factors evaluated (Table 5). For tibia breaking strength, a significant effect was observed for both phytase and PP ($p < 0.05$). Phytase levels showed linear effect ($p < 0.05$). DXA results, only bone mineral content was affected by the PP and

phytase factors, with linear effect for phytase levels. However, significance was observed only in the high PP group, whose showed a linear trend. Considering the mineral restriction adopted, bone tissue likely acted as a primary reservoir to buffer circulating mineral concentrations, explaining the sensitivity of TBS and BMC to phytase supplementation.

Calcium deposition in broilers occurs primarily in bone, and its deficiency, together with P, can cause rickets due to decreased mineralization (David et al., 2023; Li et al., 2020). Studies of Jiang et al. (2013), Valable et al. (2018), and Li et al. (2020) demonstrated that severe Ca and P deficiencies result in a decrease in mineralization, as observed using dual-energy X-ray absorptiometry and bone strength. Even under mineral restriction, phytase supplementation improved bone mineral indicators, reinforcing its capacity to release phytate-bound phosphorus and enhance mineral availability.

Catalan et al. (2023) evaluated the effect of phytase in diets with different substrate levels (low and high PP), similarly to the present study. The authors maintained the PP percentage at 0.23% in the low-PP diets and 0.34% in the high-PP diets, with total phosphorus of 0.54% and 0.62%, respectively, with a Ca level of 0.60%. The broilers showed worse performance and bone quality in the group fed the high-PP diets, even with the addition of 500 FTU/kg phytase. According to the authors, the phytase used may not have been efficient in releasing the complexed P, however, the low-PP group showed better utilization of the P and, consequently, better performance and bone mineralization. Variables such as bone mineral content and bone resistance are widely used as indicators of bone quality in broilers and show strong correlations with each other (Kim et al., 2012; Onyango et al., 2003). Phytase, when catalytically active, releases P bound to PP, leaving it free for absorption by the animal. Additionally, Ca deficiency, combined with P deficiency, causes bone resorption by osteoclasts through PTH stimulation. With the inclusion of phytase and increased substrate availability, P absorption increases, as does that of other nutrients such as Ca and protein (Nuamah et al., 2024). Due to greater substrate availability, the high PP group showed higher mineralization, indicating bones with a higher calcification and resistance to fracture. Leyva-Jiménez et al. (2019) evaluated four types of bacterial phytases, applied at regular doses (250, 500, and 1000 FTU/kg) and at overdoses

(1500 and 2000 FTU/kg). Enzyme supplementation improved bone mineralization. However, the super dose groups showed superior results for the TBS and BMC, suggesting that high phytase levels enhance bone mineralization and strength.

CONCLUSION AND APPLICATIONS

- Phytase supplementation effectively influences growth performance, nutrient digestibility, and bone mineralization in broiler chickens, confirming its role in improving phosphorus utilization in diets with different PP contents.
- The response to phytase is dependent on dietary PP availability, indicating that substrate level is a determining factor for optimizing enzyme efficacy and nutritional efficiency.
- From an applied perspective, adjusting phytase inclusion according to dietary PP levels represents an effective strategy to enhance mineral utilization, support skeletal development, and reduce the need for inorganic phosphorus in broiler diets.

DISCLOSURES

The authors declare they have no conflicts of interest.

Author Contributions

Pedro: Investigation, Methodology, Writing – Original Draft, Formal analysis, Data curation. ...Nilva Kazue Sakomura: Conceptualization, Project Administration, Funding, Review & Editing.

ACKNOWLEDGMENTS

The first author would like to thank the Capes-Brazil program (process number 88887.995039/2024-00) for the scholarship.

This study was funded by BASF, São Paulo, Brazil. All authors declare that the funding source did not influence the study design, analysis of the results, or their interpretation.

DISCLOSURES

The authors declare they have no conflicts of interest.

REFERENCES

- Abbasi, F., Fakhur-un-Nisa, T., Liu, J., Luo, X., & Abbasi, I. H. R. (2019). Low digestibility of phytate phosphorus, their impacts on the environment, and phytase opportunity in the poultry industry. **Environmental Science and Pollution Research**, 26(10), 9469-9479.
- Aderibigbe, A. S., Ajuwon, K. M., & Adeola, O. (2022). Dietary phosphorus level regulates appetite through modulation of gut and hypothalamic expression of anorexigenic genes in broiler chickens. **Poultry Science**, 101(2), 101591.
- AOAC. (1990). Official methods of analysis of the AOAC (15^a ed., Methods 965.17, 927.02, 964.06 and 2000.12). **Association of Official Analytical Chemists**. Arlington, VA, EUA.7
- Aviagen**. (2018). Broiler Pocket Guide – Ross 308 AP (148 p.). Huntsville, EUA: Aviagen.
- Aviagen**. (2022). Frango de carne Ross: especificações nutricionais 2022 [PDF]. Aviagen.https://aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Portuguese/Ross_BroilerNutritionSpecifications2022_PT.pdf. Access: 2024/10/08.
- Bedford, M. R., & Walk, C. L. (2016). Reduction of phytate to tetrakisphosphate (IP₄) to trisphosphate (IP₃), or perhaps even lower, does not remove its antinutritive properties. In *Phytate destruction-consequences for precision animal nutrition* (pp. 45-52). Wageningen Academic.
- Casas, G. A., & Stein, H. H. (2015). Effects of microbial phytase on the apparent and standardized total tract digestibility of phosphorus in rice coproducts fed to growing pigs. **Journal of animal science**, 93(7), 3441-3448.
- Catalan, A. A., Silva, S. N. D., Avila, V. S. D., Krabbe, E. L., Lopes, L. S., Kowski, V. L., ... & Roll, V. F. (2023). Phytate-phosphorus and phytase on performance, bone characteristics, tissue and serum mineral concentration on broilers. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 95(4), e20191162.
- Cowieson, A. J., Ruckebusch, J. P., Knap, I., Guggenbuhl, P., & Fru-Nji, F. (2016). Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science and Technology**, 222, 180-189.
- Cozannet, P., Jlali, M., Moore, D., Archibeque, M., & Preynat, A. (2023). Evaluation of phytase dose effect on performance, bone mineralization, and prececal phosphorus digestibility in broilers fed diets with varying metabolizable energy, digestible amino acids, and available phosphorus concentration. **Poultry Science**, 102(7), 102755.
- David, L. S., Anwar, M. N., Abdollahi, M. R., Bedford, M. R., & Ravindran, V. (2023). Calcium nutrition of broilers: Current perspectives and challenges. **Animals**, 13(10), 1590.
- de Queiroz, L. R., da Silva, F. M., de Leão, A. M., & Eduardo, N. (2025). Ação da vitamina d3 no metabolismo ósseo: impacto da deficiência e benefícios da suplementação. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, 11(5), 5063-5071.

- Dersjant-Li, Y., Abdollahi, M. R., Bello, A., Waller, K., Marchal, L., & Ravindran, V. (2022). Effects of a novel consensus bacterial 6-phytase variant on the apparent ileal digestibility of amino acids, total tract phosphorus retention, and tibia ash in young broilers. **Journal of Animal Science**, 100(2), skac037.
- Detmann, E., Souza, M. A., Valadares Filho, S. C., Queiroz, A. C., Berchielli, T. T., Saliba, E. O. S., Cabral, L. S., Pina, D. S., Ladeira, M. M., & Azevedo, J. A. G. (2021). **Métodos para análise de alimentos** (2ª ed., 214 p.). Visconde do Rio Branco: Suprema
- Dilelis, F., Freitas, L. W. D., Quaresma, D. V., Machado, N. D. J. B., Reis, T. L., Souza, C. S., & Lima, C. A. R. D. (2021). Standardized ileal phosphorus digestibility of meat and bone meal and poultry byproduct meal for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 50, e20200086.
- Gonçalves, C. A., Sakomura, N. K., Pereira da Silva, E., Artoni, S. M. B., Suzuki, R. M., & Gous, R. M. (2019). Dual energy X-ray absorptiometry is a valid tool for assessing in vivo body composition of broilers. **Animal Production Science**, 59(5), 993-1000.
- Hernandez, J. R., Gulizia, J. P., Adkins, J. B., Rueda, M. S., Haruna, S. I., Pacheco, W. J., & Downs, K. M. (2022). Effect of phytase level and form on broiler performance, tibia characteristics, and residual fecal phytate phosphorus in broilers from 1 to 21 days of age. **Animals**, 12(15), 1952.
- Humer, E., Schwarz, C., & Schedle, K. (2015). Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 99(4), 605-625.
- Jiang, S., Cui, L., Shi, C., Ke, X., Luo, J., & Hou, J. (2013). Effects of dietary energy and calcium levels on performance, egg shell quality and bone metabolism in hens. **The Veterinary Journal**, 198(1), 252-258.
- Joudaki, H., Aria, N., Moravej, R., Yazdi, M. R., Emami-Karvani, Z., & Hamblin, M. R. (2023). Microbial phytases: properties and applications in the food industry. **Current microbiology**, 80(12), 374.
- Kim, W. K., Bloomfield, S. A., Sugiyama, T., & Ricke, S. C. (2012). Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, 68(1), 71-82.
- Lee, S. A., Lopez, D. A., & Stein, H. H. (2022). Mineral composition and phosphorus digestibility in feed phosphates fed to pigs and poultry. **Animal bioscience**, 36(2), 167.
- Leyva-Jimenez, H., Alsadwi, A. M., Gardner, K., Voltura, E., & Bailey, C. A. (2019). Evaluation of high dietary phytase supplementation on performance, bone mineralization, and apparent ileal digestible energy of growing broilers. **Poultry Science**, 98(2), 811-819.
- Li, T., Xing, G., Shao, Y., Zhang, L., Li, S., Lu, L., ... & Luo, X. (2020). Dietary calcium or phosphorus deficiency impairs the bone development by regulating related calcium or phosphorus metabolic utilization parameters of broilers. **Poultry science**, 99(6), 3207-3214.
- Lim, C. I., Choo, H. J., & Park, J. H. (2024). Effect of phytase supplementation on performance, fecal excretion, and compost characteristics in broilers fed diets deficient in phosphorus and calcium. **Journal of Animal Science and Technology**, 66(1), 93.

Macari, M., & Maiorka, A. (2017). **Fisiologia das aves comerciais**. FUNEP, Jaboticabal. p.327-328.

Manobhavan, M., Elangovan, A. V., Sridhar, M., Shet, D., Ajith, S., Pal, D. T., & Gowda, N. K. S. (2016). Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn–soya-based diets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 100(1), 93-100.

Martínez-Heredia, L., Canelo-Moreno, J. M., García-Fontana, B., & Muñoz-Torres, M. (2024). Non-classical effects of FGF23: molecular and clinical features. **International Journal of Molecular Sciences**, 25(9), 4875.

Martínez-Vallespín, B., Ader, P., & Zentek, J. (2025). Effect of increasing levels of phytase on performance, prececal nutrient digestibility, intestinal mucosa physiology and immune response in broiler chickens from 1 to 21 days of age. **Poultry Science**, 105473.

Mera, P., Ferron, M., & Mosialou, I. (2018). Regulation of energy metabolism by bone-derived hormones. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, 8(6), a031666.

Nuamah, E., Okon, U. M., Jeong, E., Mun, Y., Cheon, I., Chae, B., ... & Choi, N. J. (2024). Unlocking phytate with phytase: A meta-analytic view of meat-type chicken muscle growth and bone mineralization potential. **Animals**, 14(14), 2090.

Onyango, E. M., Hester, P. Y., Stroshine, R., & Adeola, O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. **Poultry Science**, 82(11), 1787-1791.

Osunbami, O. T., Walk, C. L., & Adeola, O. (2024). Digestible calcium equivalency of phytase and nutrient utilization of broiler chickens fed graded levels of limestone or phytase during the starter phase. **Poultry Science**, 103(2), 103360.

Philippi, H., Sommerfeld, V., Monteiro, A., Rodehutschord, M., & Olukosi, O. A. (2024). Impact of trace mineral source and phytase supplementation on prececal phytate degradation and mineral digestibility, bone mineralization, and tissue gene expression in broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, 202(11), 5235-5250.

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F. G., Saraiva, A., Teixeira, M. L., Rodrigues, P. B., Oliveira, R. F., Barreto, S. L. T., Brito, C. O., & Cruz, G. M. (2024). **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais** (5ª ed.). Universidade Federal de Viçosa.

Selle, P. H., Cowieson, A. J., & Ravindran, V. (2009). Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock science**, 124(1-3), 126-141.

Serna, J., & Bergwitz, C. (2020). Importance of dietary phosphorus for bone metabolism and healthy aging. **Nutrients**, 12(10), 3001

Shi, H., Lopes, T., Tompkins, Y. H., Liu, G., Choi, J., Sharma, M. K., & Kim, W. K. (2024). Effects of phytase supplementation on broilers fed with calcium and phosphorus-reduced diets, challenged with *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina*: influence on growth performance, body composition, bone health, and intestinal integrity. **Poultry science**, 103(4), 103511.

- Sinclair-Black, M., Garcia, R. A., & Ellestad, L. E. (2023). Physiological regulation of calcium and phosphorus utilization in laying hens. **Frontiers in Physiology**, 14, 1112499.
- Sommerfeld, V., Schollenberger, M., Kühn, I., & Rodehutschord, M. (2018). Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. **Poultry Science**, 97(4), 1177-1188.
- Kritmetapak, K., Kumar, R., 2021. Phosphate as a signaling molecule. *Calcified Tissue International* 108, 16–31.
- Valable, A. S., Narcy, A., Duclos, M. J., Pomar, C., Page, G., Nasir, Z., ... & Létourneau-Montminy, M. P. (2018). Effects of dietary calcium and phosphorus deficiency and subsequent recovery on broiler chicken growth performance and bone characteristics. **Animal**, 12(8), 1555-1563.
- Varella, G. O. M., Riveros, R. L., Leme, B. B., Ribeiro, B., Poujol, M., & Sakomura, N. K. (2025). Evaluation of the calcium humophosphate supplemented with phytase on phosphorus digestibility and performance in 21-day old broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, 34(2), 100526.
- Venter, K., Li, W., Angel, R., Plumstead, P. W., Proszkowiec-Weglarz, M., Enting, H., & Ellestad, L. E. (2024). Calcium and phosphorus digestibility in broilers as affected by varying phytate concentrations from corn. **Poultry Science**, 103(11), 104191.
- Walters, H. G., Coelho, M., Coufal, C. D., & Lee, J. T. (2019). Effects of increasing phytase inclusion levels on broiler performance, nutrient digestibility, and bone mineralization in low-phosphorus diets. **Journal of Applied Poultry Research**, 28(4), 1210-1225.
- Wang, D., Song, J., & Ma, H. (2018). An in vitro experimental insight into the osteoblast responses to vitamin D3 and its metabolites. **Pharmacology**, 101(5-6), 225-235.
- Wise, T. L., Haetinger, V. S., Alagbe, E. O., Sorbara, J. O. B., & Adeola, O. (2024). Evaluation of exogenous phytase in high-phytate diets for broiler chickens and pigs. **animal**, 18(5), 101135.
- Zare-Sheibani, A. A., Arab, M., Zamiri, M. J., Rezvani, M. R., Dadpasand, M., & Ahmadi, F. (2015). Effects of extrusion of rice bran on performance and phosphorous bioavailability in broiler chickens. **Journal of animal science and technology**, 57(1), 26.
- Zhang, Q., Walk, C. L., Cowieson, A. J., Stamatopoulos, K., Wu, J. L., & Sorbara, J. O. B. (2024). Efficacy of a novel phytase in response to low and high phytate diets using a short-term digestibility model in broiler chickens at two ages. **Animal Feed Science and Technology**, 307, 115832.
- Zuidhof, M. J., Schneider, B. L., Carney, V. L., Korver, D. R., & Robinson, F. E. (2014). Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poultry science*, 93(12), 2970-298

Table 1 – Nutritional composition of basal diets.

INGREDIENTS	Basal Diets	
	Low PP	High PP
Corn	66.601	59.430
Soybean Meal (45%)	21.161	31.300
Poultry by-product meal	5.000	0.000
Feather meal	2.000	0.000
Rice bran	0.000	5.000
Meat and bone meal	0.148	0.000
Soybean oil	0.000	1.280
Dicalcium phosphate	0.000	0.580
Limestone	0.490	0.630
Salt	0.441	0.490
Mineral premix	0.100	0.100
Vitamin premix	0.100	0.100
DL-Methionine 99	0.366	0.380
L-Lysine HCL	0.340	0.240
L-Threonine 98	0.143	0.120
L-Tryptophan 99	0.000	0.000
L-Valine 99	0.070	0.070
L-Arginine	0.138	0.070
L-Isoleucine	0.069	0.040
Choline Chl. 60%	0.050	0.050
Salinomycin	0.100	0.100
Inert*	2.680	0.020
Total	100.00	100.00
CALCULATED COMPOSITION		
ME. kcal/kg	2990	2990
CP. %	20.33	20.33
SID AMINO ACIDS, (%)		
Lysine	1.196	1.196
Met+cis	0.913	0.913
Threonine	0.799	0.799
Valine	0.908	0.908
Thyptophan	0.191	0.220
Arginine	1.292	1.292
Isoleucine	0.787	0.789
Leucine	1.537	1.552
Histidine	0.429	0.481
Fen+Tir	1.423	1.522
Gli+ser	1.740	1.601

Calcium	0.488	0.488
Available phosphorus	0.238	0.238
Total Phosphorus	0.434	0.526
Phytic phosphorus	0.196	0.288
Sodium	0.207	0.207

Vitamin and mineral supplementation per kg of premix: vitamin A 11,000,000 IU, vitamin D3 4,000,000 IU, vitamin E 55,000 IU, vitamin K3 3,000mg, vitamin B1 2,300 mg, vitamin B2 7,000mg, pantothenic acid 12g, vitamin B6 4,000mg, vitamin B12 25,000mcg, niacin 60g, folic acid 2,000mg, biotin 250mg, selenium 300mg, iron 100g, copper 20g, manganese 130g, zinc 130g, iodine 2,000mg.

*The phytase enzyme were added to form the dietary treatments at 1000, 1500 and 2000 FTU/kg above the basal diets in replacement of inert.

Table 2 -Chemical composition of the experimental diets. Dry Matter (DM), Ash, Crude Protein (CP), Gross Energy (GE), Total Calcium (Ca), Total Phosphorus (P), and Phytase activity (FTU/kg).

Feeds	Dry matter (%)	Ash (%)	Crude protein (%)	Gross energy (kcal/g)	Calcium (% DM)	Phosphorus (% DM)	Phytase activity (FTU/kg)
Low PP + 0 FTU/kg	88.01	6.91	22.81	3900	0.59	0.50	<0.10
Low PP + 1.000 FTU/kg	89.81	6.94	22.30	3901	0.64	0.50	1390
Low PP + 1.500 FTU/kg	87.87	6.99	22.21	3899	0.64	0.50	1660
Low PP + 2.000 FTU/kg	87.85	6.51	21.61	3926	0.59	0.56	2810
High PP + 0 FTU/kg	87.35	4.69	21.96	4063	0.58	0.70	<0.10
High PP + 1.000 FTU/kg	87.49	4.80	22.81	4020	0.56	0.69	1280
High PP + 1.500 FTU/kg	87.51	4.51	22.35	4016	0.54	0.69	1780
High PP + 2.000 FTU/kg	87.80	4.35	21.51	4034	0.51	0.72	2710

Table 3 -Performance response of broiler chickens from 1 to 21 d, fed with high and low phytic phosphorus content diets supplemented with levels of phytase enzyme.

Phytate (PP)	Phytase (FTU)	Feed Intake (g)	Body weight gain (g)	Feed conversion rate (g/g)
Low	0	889.0	509.8	1.663
	1000	887.9	582.1	1.535
	1500	903.6	584.5	1.545
	2000	940.7	605.3	1.592
Mean		905.3	570.4	1.584
High	0	919.5	610.9	1.506
	1000	921.3	653.0	1.411
	1500	984.2	686.3	1.445
	2000	968.7	696.6	1.401
Mean		948.4	661.7	1.441
SEM		0.061	0.065	0.099
Main Effects				
PP		0.0013	<0.0001	<0.0001
FTU		0.0055	<0.0001	<0.0001
PP*FTU		0.3618	0.3912	0.0756
Polynomial Contrasts				
Phytase level				
	¹ L	0.6758	<0.0001	<0.0001
	² Q	0.0010	0.0048	<0.0001
Phytase level within each Phytate level				
Low	¹ L	0.0405	<0.0001	0.0138
	² Q	0.3022	0.0130	<0.0001
High	¹ L	0.0066	<0.0001	0.0001
	² Q	0.6081	0.1202	0.1557

¹L: Linear.

²Q: Quadratic.

³SEM: standard error.

Table 4 - Apparent ileal digestibility (%) of broiler chickens from 1 to 21 d, fed with high and low phytic phosphorus content diets supplemented with levels of phytase enzyme.

Phytate (PP)	Phytase (FTU)	Crude Protein (%)	Gross Energy (%)	Calcium (%)	Phosphorus (%)
Low	0	72.00	67.60	62.64	52.09
	1000	72.98	68.66	63.82	70.70
	1500	75.30	67.78	67.18	74.50
	2000	71.44	66.74	62.67	73.74
Mean		72.93	67.69	64.08	67.76
High	0	75.44	63.00	56.51	53.59
	1000	82.03	69.15	69.00	65.00
	1500	81.73	67.44	65.84	72.71
	2000	77.29	66.65	64.11	64.53
Mean		79.12	66.56	63.86	63.96
SEM		0.693	0.453	0.870	1.324
Main Effects					
PP		<0.0001	0.1733	0.9493	0.0680
FTU		0.0080	0.0667	0.0062	<0.0001
PP*FTU		0.3851	0.1580	0.0880	0.2618
Polynomial contrasts					
Phytase level					
FTU	¹ L	0.5633	0.4661	0.1148	<0.0001
	² Q	0.0008	0.0118	0.0028	<0.0001
Phytase level within each phytate level					
Low	¹ L	0.9282	0.5031	0.7372	<0.0001
	² Q	0.1373	0.3567	0.2258	0.0004
High	¹ L	0.4673	0.1302	0.0575	0.0032
	² Q	0.0010	0.0110	0.0018	0.0007

¹L: Linear.

²Q: Quadratic.

³SEM: standard error.

Table 5 - DXA and Tibia breaking strength of broiler chickens from 1 to 21 d, fed with high and low phytic phosphorus content diets supplemented with levels of phytase enzyme.

Phytate (PP)	Phytase (FTU)	Tibia breaking strength (kgf)	Bone mineral content (%)	Lean mass (%)	Fat mass (%)
Low	0	9.06	1.22	79.97	18.73
	1000	9.41	1.38	80.26	18.43
	1500	8.61	1.27	81.33	17.45
	2000	10.81	1.34	81.37	17.37
Mean		9.47	1.30	80.73	18.00
High	0	9.28	1.08	81.94	16.93
	1000	10.13	1.37	83.28	15.32
	1500	10.47	1.19	80.15	18.70
	2000	11.52	1.29	81.83	16.91
Mean		10.35	1.23	81.80	16.97
SEM		0.188	0.021	0.326	0.324
Main Effects					
PP		0.0047	0.0336	0.0980	0.1070
FTU		0.0006	0.0002	0.6768	0.5024
PP*FTU		0.3284	0.6138	0.1195	0.1039
Polynomial contrasts					
Phytase level					
FTU	¹ L	0.0003	0.0280	0.7499	0.7577
	² Q	0.1234	0.0648	0.9677	0.9899
Phytase level within each Phytate level					
Low	¹ L	0.0439	0.2611	0.1894	0.2036
	² Q	0.0525	0.4005	0.8927	0.9046
High	¹ L	0.0010	0.0433	0.3892	0.4040
	² Q	0.8247	0.0722	0.8510	0.9212

¹L: Linear.

²Q: Quadratic.

³SEM: standard error.

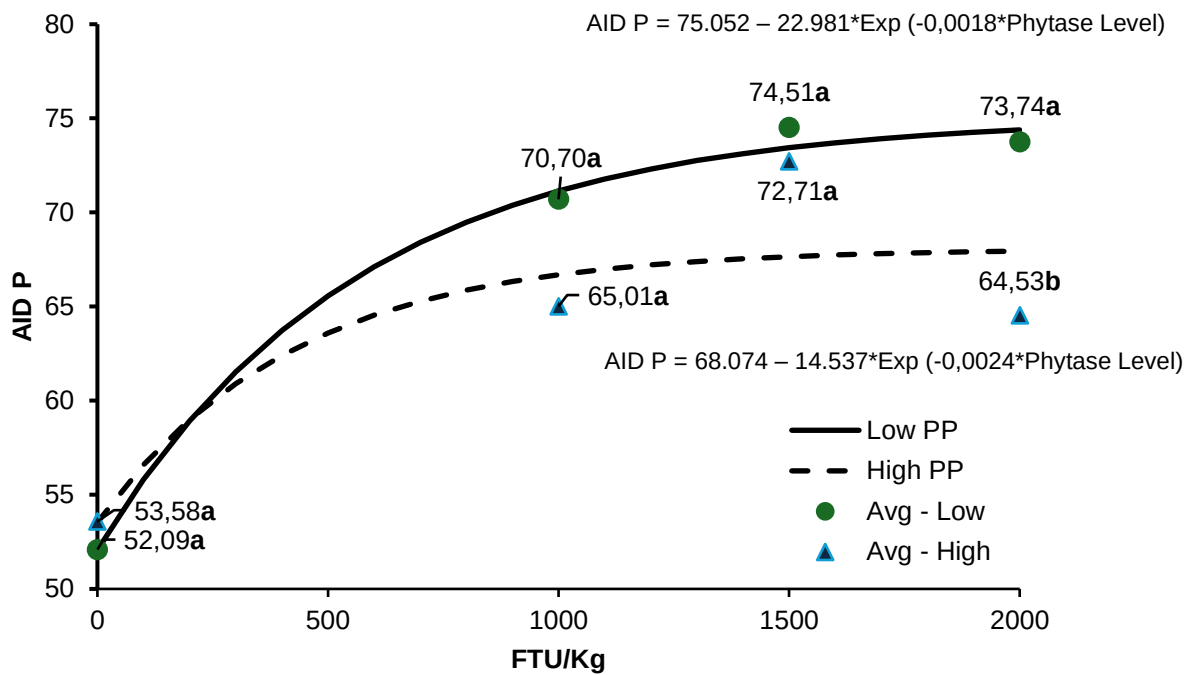


Figure 1 - Apparent ileal digestibility coefficient of phosphorus exponential curves as a function of the phytase supplementation levels of growing broiler chickens fed with two levels of phytate, high and low. Distinct lowercase letters at the same phytase level (FTU/kg) differ statistically through orthogonal contrasts.

CAPÍTULO 3 – IMPLICAÇÕES

Considerações Finais

1. IMPLICAÇÕES

Esta dissertação mostrou que a resposta à fitase não depende apenas da dose utilizada, mas também do nível de fósforo fítico da dieta e do equilíbrio da relação Ca:P. Os resultados reforçam que a enzima deve ser avaliada dentro do contexto da formulação, considerando a composição da dieta e a disponibilidade de substrato. A integração entre desempenho, digestibilidade e mineralização óssea permitiu uma visão mais completa da utilização de cálcio e fósforo pelas aves.

Como continuidade, são necessários estudos que avaliem os mecanismos de absorção mineral, a resposta ao longo de todo o ciclo produtivo e os impactos econômicos e ambientais da redução do fósforo inorgânico. Essas informações podem contribuir para formulações mais precisas e sustentáveis na produção de frangos de corte.