

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

**EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE OS PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS
DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM PROTEASE E ÁCIDO
ASCÓRBICO**

ARMANDO CARLOS CONTIN NETO

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

BOTUCATU – SP

Fevereiro/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

**EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE OS PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS
DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM PROTEASE E ÁCIDO
ASCÓRBICO**

Armando Carlos Contin Neto
Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Antonio Celso
Pezzato

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

BOTUCATU – SP

Fevereiro/2019

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

C76e Contin Neto, Armando Carlos, 1993-
Efeito da temperatura sobre os parâmetros zootécnicos de frangos de corte suplementados com protease e ácido ascórbico / Armando Carlos Contin Neto. - Botucatu: [s. n.], 2019
x, 62 f.: tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2019
Orientador: Antonio Celso Pezzato
Inclui bibliografia

1. Frango de corte - Alimentação e rações. 2. Alimentos - Aditivos. 3. Vitamina C. 4. Enzimas proteolíticas. 5. Temperatura - Efeito fisiológico. I. Pezzato, Antonio Celso. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ARMANDO CARLOS CONTIN NETO – Nasceu no dia 02 de setembro de 1993, em Santa Cruz do Rio Pardo/SP. Em 2012 ingressou no curso de Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp, Campus de Botucatu, completando em dezembro de 2016. Sob orientação do prof. Dr. Antonio Celso Pezzato foi bolsista de Treinamento Técnico, e bolsista de iniciação científica Fapesp sob orientação do prof. Dr. José Roberto Sartori. Na referida instituição iniciou o curso de mestrado em 2017 no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Nutrição Animal), onde foi bolsista CNPq e FAPESP.

“A sorte favorece os corajosos: SEJA FORTE E CORAJOSO!”

DEDICATÓRIA

Dedico ao senhor Armando Carlos Contin e à senhora Maria do Carmo Pelegatti Contin, dois grandes amigos que estarão sempre comigo, seja em pensamento ou oração. E por feliz coincidência do destino, meus avós.

AGREDECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter permitido que eu chegasse até aqui, sempre me conduzindo pelo melhor caminho.

Agradeço especialmente à minha mãe Silvia e ao meu padrasto Edvaldo, que sempre me apoiaram em todas as decisões e mesmo de longe, sempre se fizeram presentes. Agradeço por entenderem que a minha ausência em muitos almoços de domingo; era para um bem maior. Um bem que só aconteceu com o auxílio de vocês.

Agradeço ao professor e orientador Antonio Celso Pezzato, por toda amizade e preocupação, por todo ensinamento compartilhado, pelas boas e produtivas conversas, sobretudo, pelos sábios conselhos, que ajudaram a moldar este trabalho e o profissional que sou.

Agradeço ao professor José Roberto Sartori pela coorientação. Pela amizade nesses longos anos de aprendizado em seu laboratório e por toda motivação ao ouvir: *É a zootecnia vencendo pela competência!*

Agradeço ao professor e amigo Filipe Giardini por toda ajuda com os dados estatísticos dessa dissertação e por ter me apresentado o indigesto *ora pro nobis*.

A todos da equipe do laboratório de Nutrição de Aves que estarão sempre guardados em meu coração com muito carinho: Wanderley Thiago e toda sua implicância, Juliana Denadai e sua sabedoria, Everton Calvina e seu humor, Guilherme Smigo e seus conselhos de academia, Tatiane Kika e seus “é rapidinho”, Livia Dita e sua confusão, Daniele Souza e seus ovos de codorna, Leonardo Zanetti e seu metodismo, Netto Ferreira e suas orientações de saúde, Robert Guaracy e suas pérolas, Julianna Batistiolli e suas comidas, Lucas Bebezão e seus conselhos informáticos, e Alex Arex e suas catuabas. Aos amigos de pós graduação, pelas quentes e fortes xícaras de café nas noites de estudo: Willian Xavier, Mariana Rodrigues e Jéssica Cruvinel. Ao amigo zootecnista Dr. Javer Alves pelo socorro nos momentos de dúvida.

Ao amigo Luiz Roberto de Oliveira Junior e nossas viagens, Mariana Maruno e seu padrão, a amiga Raphaela Carmo e ao Renie Vem Chann pelos bons momentos. Aos amigos Eduardo Alves, Pedro Vitti, Bruno Afonso, Giuliano Fior, João Victor, Caio Sperb e Pedro Oliveira: obrigado por compreenderem meus momentos de mau humor e implicância com limpeza e barulho.

À DSM®, pelas contribuições no desenvolvimento do projeto e fornecimento dos produtos utilizados nas rações experimentais, especialmente ao Dr. Vitor Barbosa Fascina pela contribuição, auxílio e confiança para que esse trabalho fosse realizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo nº 2017/16748-5) e a CNPQ pela concessão das bolsas de estudo.

Sem a contribuição de cada um, este trabalho não seria realizado. Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO I	1
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. ENZIMAS.....	3
2.2. PROTEASE	5
2.3. TEMPERATURA AMBIENTE	7
2.4. VITAMINA C	9
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
CAPÍTULO II	19
1. RESUMO	20
2. ABSTRACT.....	21
3. INTRODUÇÃO.....	22
4. JUSTIFICATIVA.....	23
5. MATERIAL E MÉTODOS	23
<i>Animais e delineamento experimental</i>	24
<i>Temperatura das câmeras</i>	25
<i>Dietas</i>	26
<i>Protease</i>	32
<i>Monitoramento ambiental</i>	32
<i>Características avaliadas</i>	32
<i>Desempenho</i>	32
<i>Coleta de excretas</i>	32
<i>Coeficiente de metabolizabilidade e energia metabolizável</i>	33
<i>Digestibilidade ileal</i>	33
6. RESULTADOS	34
7. DISCUSSÃO	48
8. CONCLUSÃO	52
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
CAPÍTULO III	60
1. IMPLICAÇÕES	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos experimentais	25
Tabela 2. Temperaturas (°C) preconizadas para cada fase de criação nas câmeras bioclimáticas	26
Tabela 3. Composição centesimal (g/kg) das deitas experimentais para a fase inicial (15 a 21 dias de idade).	28
Tabela 4. Composição nutricional (%) calculada das dietas experimentais para a fase inicial (15 a 21 dias de idade)	29
Tabela 5. Composição centesimal (g/kg) das dietas experimentais para a fase de crescimento (22 a 28 dias de idade)	30
Tabela 6. Composição nutricional (%) calculada das dietas experimentais para a fase inicial (22 a 28 dias de idade)	31
Tabela 7. Resultados de desempenho de frangos de corte no período de 15 a 21 dias de idade.	35
Tabela 8. Resultados de desempenho de frangos de corte no período de 15 a 28 dias de idade.	36
Tabela 9. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de protease na conversão alimentar de frangos de corte aos 28 dias de idade	37
Tabela 10. Resultados da digestibilidade ileal aparente em frangos de corte aos 28 dias de idade	38
Tabela 11. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de protease para PDMN em frangos de corte aos 28 dias de idade ...	39
Tabela 12. Resultados do ensaio de metabolizabilidade (coleta total de excretas) em frangos de corte aos 28 dias de idade	41

Tabela 13. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de protease para CMAPB, CMAE e EMMN em frangos de corte aos 28 dias de idade 42

Tabela 14. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de protease para PDMN e CDAMS em frangos de corte aos 28 dias de idade 46

Efeito da temperatura parâmetros zootécnicos de frangos de corte suplementados com protease e ácido ascórbico.

RESUMO: A temperatura ambiente afeta negativamente a produção de frangos de corte quando excede a termoneutralidade, por isso, alternativas nutricionais como a redução da proteína bruta da dieta são bem-vindas. Aliado a isso, a suplementação da ração com protease torna mais efetivo o aproveitamento da porção proteica, bem como o uso de vitamina C, combatendo metabólitos nocivos oriundos do estresse. A partir disso, objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da temperatura ambiente, da suplementação de protease e ácido ascórbico sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes de frangos de corte. Para este experimento, 720 pintos machos Cobb com 1 dia de idade foram alojados em galpão até os 15 dias de idade, em condições não experimentais, com a finalidade de evitar a adaptação dos frangos às temperaturas das câmaras bioclimáticas no período de estudo. Após esta fase inicial, os frangos foram distribuídos casualmente em três câmaras: termoneutra; quente e quente + suplementação de vitamina C. Os frangos de corte receberam duas dietas, uma delas com redução do nível de proteína bruta e aminoácidos (CN), e outra sem a redução de níveis dos mesmos nutrientes (CP). Adicionalmente, as dietas foram suplementadas com três níveis de protease: 0; 200 e 400 ppm, resultando em um esquema fatorial 3×2×3 (termoneutro, quente e quente+vit.C × dietas CP e CN × 0 ppm, 200 ppm e 400 ppm de protease). Para o desempenho avaliou-se o peso corporal (PC), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA). Já para a digestibilidade de nutrientes, avaliou-se o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB), coeficiente de digestibilidade aparente da energia (CDAE), energia digestível na matéria natural (EDMN), proteína metabolizável na matéria natural (PDMN) e coeficiente de digestibilidade aparente na matéria seca (CDAMS).

Palavras chave: avicultura, aditivos, digestibilidade de nutrientes; enzimas exógenas, nutrição.

Effect of temperature and dietary supplementation with protease and vitamin C on growth performance and nutrient utilization in broilers.

ABSTRACT: Ambient temperature adversely affects broiler production when it exceeds thermoneutrality, so nutritional alternatives such as diets reduced crude protein levels are welcome. In addition, supplementation with protease makes it more effective to take advantage of the diet's protein portion, as well as vitamin C use, which protects the body against harmful stress metabolites. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of ambient temperature, protease and ascorbic acid supplementation on performance and nutrient digestibility of broilers. For this, 720 day-old Cobb male chicks were housed in a shed until 15 days of age under non-experimental conditions, in order to avoid the chickens adaptation to the bioclimatic chambers temperatures during the trial. After the initial phase, the chickens were randomly distributed in three chambers: thermoneutral; warm and warm + vitamin C supplementation. The broilers were fed two diets, one of them with reduced crude protein and amino acids levels (NC), and another without the level reduction of the same nutrients (PC). In addition, diets were supplemented with three levels of protease: 0; 200 and 400 ppm; resulting in a 3×2×3 factorial scheme (thermoneutral, warm and warm + vit.C × PC and NC diets × 0 ppm, 200 ppm and 400 ppm of protease). The performance traits evaluated were: body weight (BW), average weight gain (AWG), average feed intake (AFI) and feed conversion ratio (FCR). The nutrient digestibility traits evaluated were: apparent digestibility coefficient of crude protein (ADCCP), apparent digestibility coefficient of energy (ADCE), digestible energy in natural matter (DEM_N), metabolizable protein in natural matter (MP_{NM}) and apparent dry matter digestibility coefficient (ADMDC).

Key words: additives, exogenous enzymes, nutrient digestibility, nutrition, poultry.

CAPÍTULO I

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Segundo o relatório anual da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) em 2017, o Brasil produziu 12,9 milhões de toneladas de carne de frango, ficando em segundo lugar no ranking mundial (ABPA, 2018). Tal fato se deve ao constante investimento em pesquisas e tecnologias no setor avícola, buscando melhorias na ambiência, genética, manejo e nutrição dos frangos de corte, além do aumento da procura por carne de frangos pelos consumidores (BUENO; ROSSI, 2006).

A nutrição representa um dos principais aspectos para melhorias na produção e a maior parcela do custo na criação de frangos de corte e, por isso, optar por alimentos alternativos ou aditivos, possibilita adequação econômica mais vantajosa ao produtor e condições que favoreçam a expressão do máximo potencial genético dos animais, sem acréscimos aos custos de produção (ARAUJO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2008).

O farelo de soja é a principal fonte proteica adicionada às dietas, porém, o seu uso exclusivo fez com que a avicultura ficasse muito dependente deste ingrediente, atrelado a isso, o custo da ração de acordo com o preço do farelo de soja. Assim, reduzir o nível proteico das dietas pode também reduzir custos. Outra alternativa seria melhorar a digestibilidade da proteína, não apenas do farelo de soja, mas de todos os ingredientes da ração (SUIDA, 2001).

Aditivos, tais como enzimas exógenas, são usados para reduzir características indesejadas dos ingredientes, como fatores antinutricionais, além de complementar a ação de enzimas endógenas, aumentar o valor energético dos alimentos e tornar os nutrientes mais disponíveis para absorção, melhorando o desempenho de frangos de corte (BEDFORD, 2000; MENG et al., 2004; KIARIE et al., 2013).

Contudo, apenas o correto manejo nutricional de frangos de corte não garante bom desempenho. O Brasil é um país de clima tropical e as aves são afetadas quando expostas ao calor, reduzindo seu desempenho quando a temperatura excede a faixa de termoneutralidade, prejudicando o consumo de ração e disponibilizando menor quantidade de nutrientes e, causando ainda, supressão do sistema imunológico e prejuízo no *turnover* proteico (OLIVEIRA NETO et al., 2000).

Sendo assim, se faz necessário buscar alternativas que reduzam as perdas na produtividade de frangos de corte em situação de estresse térmico, como por exemplo, a suplementação com vitamina C ou ácido ascórbico, que pode ser alternativa nutricional para melhorar o desempenho das aves quando expostas ao calor, visto que esta vitamina aumenta a degradação de corticosteroides, hormônios liberados em situações de estresse e que aumentam a degradação da proteína corporal e provoca morte de células linfóides (SAHIN et al., 2003), reduzindo o desempenho de frangos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ENZIMAS

Enzimas são fundamentais e indispensáveis para todos os animais, pois são moléculas específicas que atuam como catalisadores de reações em sistemas biológicos, acelerando as reações químicas. As enzimas do sistema digestório podem ser produzidas pelo próprio organismo, ou produzidas naturalmente por microrganismos presentes na microbiota intestinal. No entanto, o processo digestivo não é totalmente efetivo, e no caso de aves e suínos, cerca de 15-25% do alimento ingerido não é aproveitado, devido a fatores antinutricionais. Em muitos sistemas de produção animal, especialmente na criação de animais não ruminantes, a suplementação com enzimas exógenas pode melhorar a eficiência do aproveitamento de nutrientes, reduzindo custos e danos ambientais, impedindo a excreção de nutrientes antes não aproveitados, além de manter o trato gastrointestinal saudável (BARLETTA, 2010).

As enzimas exógenas são obtidas por meio da fermentação de bactérias e fungos geneticamente modificados, principalmente os do gênero *Bacillus* e *Aspergillus*. Estes microrganismos são alterados para produzirem de 50 a 100 gramas de proteína por litro de líquido fermentado, que posteriormente é purificado e a proteína produzida é removida dos resíduos indesejados (ADEOLA & COWIESON, 2011). São classificadas segundo a Instrução Normativa nº13, de 30 de novembro de 2004 do MAPA como aditivos

zootécnicos digestivos, responsáveis por facilitar a digestão dos alimentos ingeridos, atuando sobre determinadas matérias-primas.

Enzimas são altamente efetivas na catálise biológica e capazes de acelerar um processo de reação química em milhões de vezes, em alguns casos. No entanto, as enzimas são altamente específicas quanto ao seu substrato. As enzimas podem estar ou não ligadas a cofatores que se ligam ao sítio de reação específico e exercem sua atividade catalítica, tendo sua efetividade determinada por algumas condições, como: temperatura, umidade, pH, e em tempo definido. Essa especificidade entre enzima e substrato, acaba caracterizando-as em diferentes grupos, como por exemplo, carboidrases, proteases, fitases, entre outras (BARLETTA, 2010).

A utilização de enzimas exógenas nas dietas de animais de interesse zootécnico não possui uma função nutricional direta, mas sim de auxiliar o processo digestivo, melhorando índices de desempenho como consumo de ração, conversão alimentar ou ganho de peso, especialmente nas dietas a base de grãos de cereais, tais como trigo, cevada, milho e de oleaginosas, como a soja, que são ingredientes ricos em polissacarídeos não amiláceos. Esta resposta positiva com suplementação de enzimas é atribuída à diminuição da viscosidade do quimo, aumento da digestibilidade, modulação da microbiota intestinal e incremento do valor nutricional dos ingredientes antes não aproveitados (BARBOSA et al., 2012; ABDEL-LATIF et al., 2017).

Leite et al. (2012) afirmaram que a suplementação de protease em dietas de frangos de corte pode favorecer o aproveitamento do farelo de soja, segundo ingrediente mais caro da ração, melhorando a digestibilidade dos nutrientes e aumentando a energia metabolizável, em decorrência da quebra de polissacarídeos não amiláceos e oligossacarídeos, que caso não quebrados, formaria um gel viscoso, reduzindo a disponibilidade de nutrientes.

Em dietas a base de trigo, a inclusão de xilanase diminuiu significativamente a perda de energia, aumentando o ganho de energia líquida, além de modular a microbiota intestinal em frangos de corte (NIAN et al., 2011).

Saleh et al. (2018), observaram que a suplementação de dietas de frangos de corte com complexo enzimático (amilase, xilanase e protease) melhorou o desempenho, uma vez que a expressão de genes transportadores

de nutrientes foi aumentada, melhorando consequentemente, a absorção de micronutrientes.

Complexo enzimático contendo protease, amilase e xilanase em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte, promoveu melhora nos índices zootécnicos mesmo para aves com níveis nutricionais reduzidos, evidenciando o efeito compensatório da inclusão de enzimas exógenas (TORRES et al., 2003).

2.2. PROTEASE

As enzimas com especificidade para digestão de proteínas são denominadas de proteases, e possuem a capacidade de catalisar ligações em regiões de aminoácidos específicos. As proteases endógenas podem ser secretadas por células da mucosa do estômago (pepsinogênio) de suínos e do proventrículo de aves. Além do pepsinogênio secretado pela mucosa do estômago, o pâncreas é a principal fonte de proteases gastrointestinais (BARLETTA, 2010).

Essa variedade de proteases endógenas produzidas no trato gastrointestinal das aves, normalmente é suficiente para o adequado aproveitamento de proteínas, no entanto, consideráveis quantidades de aminoácidos e de proteínas passam pelo trato digestório sem serem aproveitados e completamente digeridos (LEMME et al. 2004). Glitsø et al. (2012) relataram que os animais não ruminantes produzem proteases como a pepsina, tripsina, quimotripsina, carboxipeptidases, aminopeptidases, tri e dipeptidases, dentre outras, porém, estas podem ser insuficientes para a digestão da proteína da dieta e, parte da porção proteica pode ser eliminada junto às excretas.

O intuito de usar proteases exógenas nas dietas é quebrar as proteínas que estão pouco disponíveis, como as proteínas de armazenamento, encontradas em quase todos os ingredientes de origem vegetal, e que possuem alta afinidade de se ligar ao amido, formando um complexo insolúvel na forma de quelato (BARLETTA, 2010).

O uso de protease exógena na alimentação de animais de produção melhora os índices produtivos, pois estes possuem uma exigência maior de

enzimas e aminoácidos devido ao seu rápido crescimento, graças ao melhoramento genético. A inclusão de protease em dietas de frangos de corte pode aumentar a produção de peptidases endógenas, permitindo a redução da proteína bruta e energia da ração, por melhorar a digestibilidade dos nutrientes e inativar fatores antinutricionais, ou polissacarídeos não amiláceos, melhorando a eficiência das aves em utilizar aminoácidos (BARLETTA, 2010; ANTIPATIS et al., 2013).

Segundo Oxenboll et al. (2011), a adição de protease exógena em dietas de frangos de corte promoveu maior digestibilidade dos alimentos, pois aumenta a quebra das frações proteicas, deixando mais eficiente a utilização do nitrogênio, resultando em melhor valor nutricional da dieta, desempenho e rendimento de carcaça, permitindo inclusive, a redução dos níveis de aminoácidos essenciais ou proteína bruta da dieta, tornando as rações mais eficientes e reduzindo a excreção de nitrogênio para o ambiente.

Cowieson et al. (2016a) afirmaram que o uso de protease exógena pode representar potencial desejável na nutrição de animais não ruminantes, devido a inativação de fatores antinutritivos, como lectinas, proteínas antigênicas e inibidores de tripsinas, além de suplementar a atividade proteolítica em animais jovens, liberando peptídeos menores que facilitam a ação das enzimas endógenas.

Há uma correlação entre a efetividade da protease exógena e a digestibilidade de aminoácidos. A protease exógena é mais efetiva quando a digestibilidade dos aminoácidos é baixa, e há declínio na resposta da protease à medida que a digestibilidade ileal dos aminoácidos aumenta. Assim, o efeito positivo da protease pode variar de acordo com a fonte proteica, reduzindo a perda de energia endógena, proteína, e alterar respostas fisiológicas em relação a fatores antinutricionais (COWIESON; ROSS, 2014).

No entanto, está claro que a inclusão de protease em dietas à base de milho e farelo de soja melhora o desempenho de frangos de corte, além de influenciar na dinâmica do trato digestivo, alterando a secreção de proteases endógenas, garantindo a integridade do trato e melhorando o transporte de aminoácidos livres (COWIESON et al., 2016b).

Cowieson et al. (2016a) afirmaram que a suplementação da dieta de frangos de corte com protease exógena melhorou a conversão alimentar, e

associaram essa melhora ao aumento da digestibilidade ileal de aminoácidos. Estes mesmos autores e Kalmendal & Tauson (2012) também observaram melhora na digestibilidade de energia, amido e gordura.

2.3. TEMPERATURA AMBIENTE

O comportamento e o desempenho de frangos de corte são fortemente condicionados por fatores ambientais, tais como: temperatura do ar, umidade relativa, qualidade da cama e velocidade do ar (FONTANA et al., 2015).

A temperatura do ar atua diretamente sobre o bem estar e comportamento das aves causando prejuízos ao desempenho quando acima da faixa de conforto para aves (DIAS et al., 2016). Além disso, altas temperaturas reduzem o consumo de ração, ganho de peso, digestibilidade de nutrientes e rendimento e rendimento de carcaça (SAHIN; KUCUK, 2003; SAHIN et al., 2017). O estresse por calor pode também afetar a expressão e transcrição de algumas proteínas, promover supressão do sistema antioxidante, bem como alterar concentrações séricas de vitaminas e minerais, que são componentes integrais a esse sistema de defesa de frangos de corte (BELAY; TEETER, 1996; SAHIN; KUCUK, 2003; SAHIN et al., 2009).

As aves são denominadas de animais homeotérmicos, pois conseguem manter sua temperatura interna constante por meio de mecanismos fisiológicos e respostas comportamentais, que são coordenadas pelo sistema termorregulador, reduzindo ou aumentando as perdas de calor pelo organismo (SILVA, 2000) e, segundo Tinôco (2001), a umidade do ar, radiação térmica, movimentação do ar e principalmente a temperatura do ar, são os fatores que mais afetam a homeotermia das aves.

A faixa de termoneutralidade é considerada o intervalo de temperatura do ambiente efetiva em que a taxa metabólica é mínima e a homeotermia é mantida com o menor gasto energético, e varia de acordo com a idade das aves segundo o manual da linhagem, sendo maior para pintos de 1 dia de idade (27°C a 30°C) e menor para frangos de corte próximos ao abate (18°C a 20°C) (MACARI; MAIORKA, 2017).

Das alterações comportamentais expressas por frangos de cortes criados sob condições de estresse por calor, é possível notar que as aves

mantem as asas abertas, deixando-as afastadas do corpo, expondo a região ventral que é altamente vascularizada, intensificando o fluxo sanguíneo para a superfície corporal e áreas não cobertas por penas (pés, crista e barbela), buscando facilitar a perda de calor não evaporativo para o ambiente (TAN et al., 2010).

Porém, em situações de estresse crônico, há um estímulo no eixo hipotalâmico dos frangos de corte, e corticosteroides são liberados tentando reestabelecer a homeostase; além de mudanças em seu comportamento, buscando compensar os efeitos negativos do calor, e as aves se condicionam a se alimentar nas horas mais frescas, afim de evitar a maior produção de calor endógeno nas horas mais quentes do dia (CANOINE et al., 2002).

Já em situações de estresse agudo, não há tempo hábil para os frangos de corte desencadearem essa série de mecanismos compensatórios, e o efeito danoso causado pelo calor acaba sendo mais acentuado e o desempenho é prejudicado. A influência do estresse agudo sob os frangos de corte é tamanha que as aves acabam perdendo a sua condição fisiológica de termorregulação em condições de extremo calor, principalmente a medida que ficam mais velhos/pesados, devido ao aumento da sua taxa metabólica, decorrente da seleção genética que comprometeu a capacidade dos sistemas fisiológicos de suporte (EMMANS; KYRIAZAKIS, 2000).

No entanto, quando esta série de comportamentos e ajustes fisiológicos não é suficiente, a temperatura corporal das aves é elevada, e para minimizar os efeitos danosos, o frango de corte reduz seu consumo de ração, evitando a produção de calor metabólico nos processos de ingestão, absorção e digestão. Porém, para manter a homeotermia, o frango de corte apresenta decréscimo no seu desempenho, devido à absorção insuficiente de nutrientes e energia para atender sua exigência (MACARI; MAIORKA, 2017).

Fernandes et al. (2014) relataram que sob condições de estresse por calor, frangos de corte diminuíram o consumo de alimento e a eficiência digestiva a fim de manter sua homeotermia, que conseqüentemente ocasiona menor disponibilidade de nutrientes para o metabolismo, reduzindo a taxa de crescimento.

Mack et al. (2013) verificaram que aves submetidas a condições de estresse por calor gastam menos tempo se alimentando, mais tempo bebendo

água, bem como maior tempo mantendo suas asas afastadas do corpo, menos tempo andando e maior tempo em ócio. Esses comportamentos, em uma situação de estresse por calor, resultam na redução significativa do consumo de ração (16,4%), ganho de peso (32,6%) e piora na conversão alimentar (25,4%).

No entanto, algumas medidas e estratégias podem ser tomadas na tentativa de reduzir os efeitos deletérios do calor sobre frangos de corte, como: incremento do nível energético da ração incluindo óleos e gorduras; redução no nível de proteína bruta e utilização de aminoácidos sintéticos nas dietas; formulação com balanço eletrolítico adequado; uso de cloreto de potássio e/ou bicarbonato de sódio; além do uso de vitamina C nas dietas (FERNANDES et al., 2014).

2.4. VITAMINA C

Para a maioria das espécies a vitamina C (ou ácido ascórbico) é um metabolito sintetizado a partir da glicose pela enzima *L-gluconolactona oxidase*, com atividade de L-ácido ascórbico e está presente em duas formas: ácido ascórbico e ácido deidroascórbico. A vitamina C é um importante agente do sistema antioxidante, pois reage com radicais livres deixando-os neutralizados, sendo de fundamental importância para o sistema de respiração celular, livrando o organismo da toxicidade causada pelas espécies reativas de oxigênio (NAVARRA, 2004; COMBS; McCLUNG, 2017).

A vitamina C também atua como cofator em diversas reações do organismo, como a coparticipação na hidroxilação da lisina e da prolina para a síntese do colágeno, síntese e metabolismo de neurotransmissores, relacionada com a manutenção do epitélio da mucosa e da parede dos vasos, participação na formação dos glóbulos vermelhos do sangue e do controle dos níveis de corticosteroides circulantes (WHITEHEAD; KELLER, 2003; FARIA et al., 2009; TEIXEIRA; ABREU, 2011).

As aves naturalmente sintetizam vitamina C para crescimento e metabolismo a partir da glicose-1-fosfato. No entanto, em situações de estresse, especialmente estresse por calor, a síntese e a utilização de vitamina C é reduzida devido ao bloqueio no sistema enzimático e nos mecanismos

fisiológicos envolvidos na biossíntese e absorção e transporte dessa vitamina (PARDUE; THAXTON, 1986; LEESON; SUMMERS, 2001; AKBARIAN et al., 2016).

Aves mais velhas possuem a exigência de ácido ascórbico menor que aves jovens, e estão menos sujeitas aos danos oxidativos de radicais livres, pois o sistema antioxidante é mais desenvolvido que o das aves jovens (SALAMI et al., 2015). Aliado a isso, Yigit et al. (2014) verificaram que a suplementação de matrizes com antioxidantes, como a vitamina C, aumentou o sistema de proteção antioxidante do embrião e, conseqüentemente, aumentou a viabilidade de frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial.

O genótipo dos frangos modernos permite que as aves tenham um rápido crescimento, aumentando a exigência de vitamina C para síntese do colágeno na estruturação das células e para o desenvolvimento do sistema antioxidante, fazendo com que sua síntese seja, muitas vezes, insuficiente, especialmente sob estresse pelo calor, evidenciando a necessidade de suplementação (WHITEHEAD; KELLER, 2003).

O uso de ácido ascórbico na dieta permitiu aliviar o estresse oxidativo causado principalmente pelo calor, proporcionando melhora no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte e de codornas japonesas (SAHIN; KUCUK, 2003; SALAMI et al., 2015).

A inclusão de vitamina C na ração de frangos de corte criados em condição de estresse por calor promoveu melhora no desempenho e maior efetividade contra a toxicidade de radicais livres oriundos da situação estressora de alta temperatura (SKRIVAN et al., 2012; ESTÉVEZ, 2015).

Puthuru et al. (2017) relataram que frangos de corte mantidos sob situações de estresse por calor apresentaram piora no ganho de peso, na taxa de conversão alimentar e nos parâmetros hematológicos. No entanto, a suplementação de vitamina C apresentou um efeito compensatório aos efeitos deletérios do calor nesses parâmetros.

De modo geral, os efeitos positivos do uso de vitamina C estão diretamente associados à sua participação no sistema antioxidante de defesa, diminuindo a concentração de corticosteroides circulantes e a concentração sérica metabólitos nocivos ao organismo, principalmente quando as aves são

criadas sob temperaturas que extrapolam as faixas de termoneutralidade (GHAZI et al., 2015).

A partir dessas informações, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar se em situações de estresse por calor, pode-se reduzir o nível de proteína bruta (porém, com suplementação de protease afim de compensar a redução proteica) e; suplementação de vitamina C visando amenizar e/ou compensar os efeitos deletérios causados pelo calor, sem prejudicar o desempenho e digestibilidade de nutrientes de frangos de corte criados em ambiente de termoneutralidade e de estresse cíclico pelo calor.

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

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-LATIF, M. A.; EL-FAR, A. H.; ELBESTWY, A. R.; GHANEM, R.; MOUSA, S. A.; ABD EL-HAMID, H. S. Exogenous dietary lysozyme improves the growth performance and gut microbiota in broiler chickens targeting antioxidant and non-specific immunity mRNA expression. **PlosOne**, v. 12, n. 10, 2017.

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

AKBARIAN, A.; MICHIELS, J.; DEGROOTE, J.; MAJEDEDDIN, M.; GOLIAN, A.; DE SMET, S. Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. **Journal of Animal Science and Technology**, v. , p. 7-37, 2016.

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

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). Relatórios anuais. Disponível em: < <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>>. Acesso em /02/2019.

BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; BONATO, M. A.; HAUSCHILD, L.; OVIEDO-RONDON, E. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1497–1502, 2012.

BARLETTA, A. Introduction: Current Market and Expected Developments. **IN: BEDFORD, M.; PARTRIDGE, G. G. Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd ed. London, p. 1-11, 2010.

BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition- their current value and future benefits. **Animal Feed Science Technology**, v. 86, n. 1, p. 1-13, 2000.

BELAY, T.; TEETER, R. G. Effects of ambient temperature on broiler mineral balance partitioned into urinary and fecal loss. **British Poultry Science**, v. 37, p. 423-433, 1996.

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

CANOINE, V.; HAYDEN, T. J.; ROWE, K.; GOYMANN, W. The stress response of European stonechats depends on the type of stressor. **Behavior**, v. 139, p. 1303 – 1311, 2002.

COMBS, G. F.; McCLUNG, J. P. **The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health**. 5thed. London: Elsevier, 2017, 603p.

COWIESON, A. J.; ROOS, F. F. Bioefficacy of a mono-component protease in the diets of pigs and poultry: a meta-analysis of effect on ileal amino acid digestibility. **Journal Applied Animal Nutrition**, v. 2, n. 13, p. 1–9, 2014.

COWIESON, A. J.; LU, H.; AJUWON, K. M.; KNAP, I.; ADEOLA, O. Interactive effects of dietary protein source and exogenous protease on growth performance, immune competence and jejunal health of broiler chickens. **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p. 252-261, 2016. a

COWIESON, A. J.; ZAEFARIAN, F.; KNAP, I.; RAVINDRAN. Interactive effects of dietary protein concentration, a mono-component exogenous protease and ascorbic acid on broiler performance, nutritional status and gut health. 2016. b

DIAS, A. N.; MACIEL, M. P.; AIURA, A. L. O.; AROUCA, C. L. C. L.; SILVA, D. B.; MOURA, V. H. S. Linhagens de frangos caipiras criadas em sistema semi-intensivo em região de clima quente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 935-398, 2016.

EMMANS, G. C.; KYRIAZAKIS, I. Issues arising from genetic selection for growth and body composition characteristics in poultry and pigs. In: MORRIS, T. R.; FREEMAN, B. M. **Energy requirements of poultry**. Edinburgh: Poultry Science, 1974, p. 79 – 80.

ESTÉVEZ, M. Oxidative damage to poultry: From farm to fork. **Poultry Science**, v. 94, n. 6, p. 13268-1378, 2015.

FARIA, D. E.; JUNQUEIRA, O. M.; DUARTE, K. F. *Enfermidades Nutricionais*. In: BERCHIERI JR.; SILVA. E. N.; DI FÁBIO, J.; ZUANAZE, F. **Doenças das Aves**. 2ed. Campinas: FACTA/APINCO, 2009, v. 1, p. 927 – 971.

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

FONTANA, I.; TULLO, E.; BUTTERWORTH, A.; GUARINO, M. An innovative approach to predict the growth in intensive poultry farming. **Computer and Electronics in Agriculture**, v. 119, p. 178-183, 2015.

GHAZI, S.; AMJADIAN, T.; NOROUZI, S. Single and combined effects of vitamin C and oregano essential oil in diet, on growth performance, and blood parameters of broiler chicks reared under heat stress condition. **International Journal of Biometereology**, v. 59, n. 8, p. 1019-1024, 2015.

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

KALMENDAL, R.; TAUSON, R. Effects of a xylanase and protease, individually or in combination, and an ionophore coccidiostat on performance, nutrient utilization, and intestinal morphology in broiler chicken fed a wheat-soybean meal-based diet. **Poultry Science**, v. 91, p. 1387-1393, 2012.

KIARIE, E.; ROMERO, L.F.; NYACHOTI, C.M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and Poultry. **Nutrition Research Reviews**, v.26, n.1, p.71-88, 2013.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**, 4th ed. Ontário, 2001, 320p.

LEITE, P. R. S. C.; MENDES, F. R.; PEREIRA, M. L. R.; LACERDA, M. J. R.

Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 1138-1157, 2012.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **Poultry Science Journal**, v. 60, p. 423-437, 2004.

MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. 1thed. Jaboticabal: PROL Editora Gráfica, 2017, 806p.

MACK, L. A.; FELVER-GANT, J. N.; DENNIS, R. L.; CHENG, H. W. Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. **Poultry Science**, v. 92, n. 2, p. 285-294, 2013.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; GUENTER, W. The effect of fat type, carbohydrase, and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v.83, p. 1718-1727, 2004.

NAVARRA, T. **The Encyclopedia of vitamins, minerals and supplements**. 2nded: Facts On File Inc, 2004, 383p.

NIAN, F.; GUO, Y. M.; RU, Y. J.; PEARON, A.; LI, F. D. Effect of xylanase supplementation on the net energy producitin, performance and gut microflora of broilers fed corn/soy-based diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n.p, p. 1282-1287, 2011.

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

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

PARDUE, S. L.; THAXTON, J. P. Ascorbic acid in poultry: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 42, p. 107-123, 1986.

PUTHURU, N.; USHA, R. M.; VIJAY, K. M.; RAVINDRA, N. S.; SHIVI, M.; REDDY, A. G. Efficacy evaluation of poly herbal antistress formulation and synthetic vitamin C on broiler birds performance under physiological heat stress. **The Pharma Innovation Journal**, v.6, n. 2, p. 18-21, 2017.

RODRIGUES, R. M.; FERNANDES, E. A.; CAIRES, C. M.; FAGUNDES, N. S.; OLIVEIRA, B. R.; TORIDO, L. C. Efeito do glúten de milho no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, sup. 10, p. 86, 2008.

SAHIN, K.; KUCUK, O. Heat stress and dietary vitamin supplementation of poultry diets. **Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding**, v. 73, p. 41-50, 2003.

SAHIN, K.; SAHIN, N.; KUCUK, O. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high environmental temperature (32°C). **Nutrition Research**, v. 23, p. 225-238, 2003.

SAHIN, K.; TUZCU, M.; SMITH, O.; SAHIN, N. Chromium supplementation: A tool for alleviation of thermal stress in poultry. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 4, p. 1-11, 2009.

SAHIN, N.; HAYIRLI, A.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; AKDEMIR, F.; KOMOROWSKI, J. R.; SAHIN, K. Effects of the supplemental chromium form

on performance and oxidative stress in broilers exposed to heat stress. **Poultry Science**, v. 96, p. 4317 – 4324, 2017.

SALAMI, S. A.; MAJOKA, M. A.; SAHA, S. GARBER, A.; GABARROU, J. F. Efficacy of dietary antioxidants on broiler oxidative stress, performance and meat quality: Science and Market. **Avian Biology Research**, v. 8, n. 2, 65-78, 2015.

SALEH, A. A.; EL FAR, A. H.; ABDEL-LATIFE, M. A.; EMAM, M. A.; GHANEM, R.; EL-HAMID, H. S. A. Exogenous dietary enzyme formulations improve growth performance of broiler chickens fed a low-energy diet targeting the intestinal nutrient transporter genes. **Plos One**, v. 13, n. 5, p. 1-17, 2018.

SILVA, R. G. **Introdução à Bioclimatologia Animal**. São Paulo: Nobel, 286 p., 2000.

SKRIVAN, M.; MOROUNEK, M.; ENGLMAIEROVA, M.; SKRIVANOVA, E. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the composition and oxidative stability of meat of broilers. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 660-664, 2012.

SUIDA, D. Formulação de Rações por Proteína Ideal e Conseqüências Técnicas, Econômicas e Ambientais. In: Simpósio Internacional De Nutrição Animal: Proteína Ideal, Energia Líquida E Modelagem. **Anais...** Santa Maria: Embrapa, 2001. p.27-43.

TAN, G. Y.; FU, Y. Q.; FENG, J. H.; ZHANG, M. H. Effects of different acute high ambient temperature on function of hepatic mitochondrial respiration, antioxidative enzymes, and oxidative injury in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 89, n. 1, p. 115-122, 2010.

TEIXEIRA, M. P. F.; ABREU, M. L. T. Vitamina C em rações para frangos de corte estressados pelo calor. **Revista Nutritime**, v. 8, n. 2, p. 1489-1498, 2011.

TINÔCO, I. F. F. Avicultura Industrial: Novos conceitos de materiais, concepções e técnicas construtivas disponíveis para galpões avícolas brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, n. 1, p. 1-26, 2001.

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

WHITEHEAD, C. C.; KELLER, T. An update on ascorbic acid in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 59, p. 161-184, 2003.

YIGIT, A. A.; PANDA, A. K.; CHERIAN, G. The avian embryo and the antioxidant defence system. **Word's Poultry Science Journal**, v. 70, n. 3, p. 563-574, 2014.

CAPÍTULO II

Efeito da temperatura sobre os parâmetros zootécnicos de frangos de corte suplementados com protease e ácido ascórbico.

1. RESUMO

O objetivo foi avaliar o efeito da temperatura, da suplementação de protease e vitamina C na dieta de frangos de corte, sob os parâmetros zootécnicos e digestibilidade de nutrientes. Foram utilizados 720 pintos Cobb machos de 15 dias de idade, antes criados em galpão sem as condições experimentais, distribuídos casualmente em um esquema fatorial 3x2x3 (ambiente termoneutro, quente e quente + vit. C x dieta controle positivo (sem redução de proteína bruta e aminoácidos) e dieta controle negativo (com a redução desses nutrientes) x 0ppm, 200ppm e 400ppm de protease) com 8 repetições totalizando 18 tratamentos. Os dados de desempenho avaliados foram peso corporal (PC), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA). Aos 28 dias, houve efeito de temperatura sobre PC, GPM e CR, e interação tripla entre ambiente, dieta e nível de protease para CA. A digestibilidade dos nutrientes foi avaliada por dois métodos (coleta total de excreta e digestibilidade ileal) por meio das variáveis: coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB), coeficiente de digestibilidade aparente da energia (CDAE), energia digestível na matéria natural (EDMN), proteína metabolizável na matéria natural (PDMN) e coeficiente de digestibilidade aparente na matéria seca (CDAMS), mostrando que em ambiente quente, a inclusão de 200 ppm de protease em dietas CN favorece a digestibilidade, e em ambientes quentes com a suplementação de vitamina C, a inclusão de 400 ppm de protease apresentou melhores resultados sobre os índices.

Palavras chave: avicultura, aditivos, enzimas exógenas, nutrição, utilização de nutrientes.

Effect of temperature and dietary supplementation with protease and vitamin C on growth performance and nutrient utilization in broilers.

2. ABSTRACT

This study aimed to evaluate temperature and protease and vitamin C dietary supplementation effects on broiler zootechnical traits and nutrient digestibility. A total of 720 15-day-old male Cobb chicks, previously bred in a shed without experimental conditions, were randomly distributed in a 3x2x3 factorial scheme [thermoneutral environment, warm and warm + vit. C x positive control (without crude protein and amino acids reduction) and negative control diet (with reduction of these nutrients) x 0 ppm, 200 ppm and 400 ppm of protease] with 8 replications totaling 18 treatments. The performance data evaluated were body weight (BW), average weight gain (AWG), average feed intake (AFI) and feed conversion ratio (FCR). At 28 days of age, there was a temperature effect on BW, AWG and AFI, and triple interaction between environment, diet and protease level for FCR. The nutrient digestibility was evaluated by two methods (total excreta collection and ileal digestibility) by means of the variables: apparent digestibility coefficient of crude protein (ADCCP), apparent digestibility coefficient of energy (ADCE), digestible energy in natural matter (DEMN), metabolizable protein in natural matter (MPNM) and apparent dry matter digestibility coefficient (ADMDC). The results show that in hot environment, 200 ppm of protease in NC diets favors digestibility, and in hot environments with vitamin C supplementation, the inclusion of protease at 400 ppm showed better results on the parameters.

Key words: additives, exogenous enzymes, nutrient digestibility, nutrition, poultry.

3. INTRODUÇÃO

Atualmente, a produção de frangos de corte é considerada como atividade econômica internacionalizada e uniforme, destacando-se no mercado internacional de carnes, sendo que, desde 2015, o Brasil passou a ser o segundo maior produtor de carne de frango com 13.056 mil toneladas e o primeiro em exportação com 4.320 mil toneladas (ABPA, 2017).

A nutrição é um dos principais fatores na produção animal, sendo importante procurar alternativas que melhorem o aproveitamento dos ingredientes e ofereçam condições que favoreçam a expressão do máximo potencial genético dos animais, sem aumento dos custos de produção (ARAUJO et al., 2007).

As enzimas exógenas melhoram o desempenho por aumentar a digestibilidade dos nutrientes e ajudam a diminuir a excreção de nutrientes e minerais. Concomitantemente, as enzimas são consideradas componentes naturais alternativos que favorecem a redução do uso de antibióticos na alimentação animal, melhorando as características de epitélio intestinal, além de atuarem como moduladores de dieta (TEIXEIRA, 2007).

Segundo Wang et al. (2006) e Oxenboll et al. (2011), as proteases exógenas utilizadas em dietas de frangos agem promovendo maior digestibilidade dos ingredientes, aumentando a hidrólise de frações proteicas da dieta, e beneficiando a utilização do nitrogênio, promovendo melhora no valor nutricional dos alimentos, no desempenho e no rendimento de carcaça. Assim, é possível reduzir o teor de aminoácidos essenciais ou proteína total da dieta, que tornam as rações mais eficientes e, também, promovem diminuição na excreção de nitrogênio.

Contudo, apenas o correto manejo nutricional de frangos de corte não garante bom desempenho das aves. O Brasil é um país de clima tropical e as aves são afetadas quando submetidas ao calor, reduzindo seu desempenho quando a temperatura excede a faixa de termoneutralidade (OLIVEIRA NETO et al., 2000).

Quando os frangos de corte estão em situações de estresse térmico, estes reduzem o consumo de alimentos para diminuir a produção de calor metabólico e manter a homeotermia. Assim, menor quantidade de nutrientes é

disponibilizada para o metabolismo, resultando em menor taxa de crescimento (ABU-DIEYEH, 2006).

Sendo assim, se faz necessário buscar alternativas que reduzam as perdas na produtividade de frangos de corte em situação de estresse térmico. Mas, como as modificações nas instalações são alternativas caras, o ajuste nutricional das rações buscando diminuir os efeitos negativos das altas temperaturas vem ganhando destaque dentre as alternativas disponíveis (RABELLO, 2008).

A vitamina C ou ácido ascórbico é classificada como não essencial para as aves, pois os frangos de corte sintetizam a mesma em quantidades suficientes para atender suas exigências (RUTZ et al., 2014). Entretanto, aves mantidas sob estresse térmico necessitam de maior aporte de vitaminas e minerais e, em altas temperaturas, a síntese de vitamina C é reduzida e sua absorção é prejudicada (MILTENBURG, 1999). Porém, a inclusão de vitamina C aumenta a degradação destes hormônios, pois apresentam função antioxidante, além de aumentar os níveis de hormônios T3 e T4 circulantes, que agem como promotores de crescimento, e essencial para a síntese do colágeno, evidenciando que a inclusão desta vitamina em rações de aves estressadas por calor, é uma alternativa nutricional para melhorar o desempenho (AIMEE; VILLAMOR, 2007; SAHIN et al., 2003; MAHMOUD et al., 2004).

4. JUSTIFICATIVA

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi o de avaliar o efeito da suplementação de protease e vitamina C na digestibilidade e desempenho de frangos de corte com 15 dias de idade criados em ambiente termoneutro e ambiente com estresse cíclico por calor de doze horas por dia.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, no Laboratório de Nutrição de Aves. Todos os procedimentos experimentais utilizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão

de Ética no Uso de Animais desta Faculdade, sob o número 0164/2017, estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 720 pintos de corte machos da linhagem Cobb, vacinados contra doenças de Gumboro, Bouda aviária e Marek. Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período de criação.

Com um dia de idade, as aves foram alojadas em galpão com piso de maravalha, com temperatura controlada para manter a termoneutralidade, e com 15 dias de idade foram transferidas para salas climatizadas e alojadas em gaiolas, sendo distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3x2x3 (ambiente termoneutro, quente e quente + vit. C x dieta controle positivo e dieta controle negativo x 0ppm, 200ppm e 400ppm de protease) com oito repetições totalizando 18 tratamentos. (Tabela 1), quando passaram a receber as dietas. Após cinco dias de adaptação foram submetidas as temperaturas de acordo com cada tratamento (Tabela 2).

Tabela 1. Tratamentos experimentais.

Tratamentos	Temperatura	Dieta	Adição de protease (ppm)*
T1	Termoneutra	CP	0
T2	Termoneutra	CP	200
T3	Termoneutra	CP	400
T4	Termoneutra	CN	0
T5	Termoneutra	CN	200
T6	Termoneutra	CN	400
T7	Estresse pelo calor	CP	0
T8	Estresse pelo calor	CP	200
T9	Estresse pelo calor	CP	400
T10	Estresse pelo calor	CN	0
T11	Estresse pelo calor	CN	200
T12	Estresse pelo calor	CN	400
T13	Estresse pelo calor + Vit. C ¹	CP	0
T14	Estresse pelo calor + Vit. C ¹	CP	200
T15	Estresse pelo calor + Vit. C ¹	CP	400
T16	Estresse pelo calor + Vit. C ¹	CN	0
T17	Estresse pelo calor + Vit. C ¹	CN	200
T18	Estresse pelo calor + Vit. C ¹	CN	400

¹Adição de vitamina C na dieta: 200 mg/kg.

²Protease: adicionado à dieta para proporcionar 15.000 PROT/kg de dieta (200ppm) e 30.000 PROT/kg de dieta (400ppm).

Temperaturas das câmaras

As aves foram alojadas em três câmaras climatizadas contendo 48 gaiolas metabólicas cada, totalizando 144 gaiolas, com dimensões de 0,60 x 0,50 x 0,45 m, equipadas com bebedouro do tipo *nipple* e comedouros frontais do tipo calha e bandeja coletora para as excretas.

As temperaturas das câmaras foram reguladas para promover condições de termoneutralidade até 21 dias de idade, após os quais se aumentou a temperatura nos tratamentos com estresse térmico por calor. Esse

procedimento foi realizado para que fosse possível simular estresse cíclico agudo, o que é mais comum a campo, pois normalmente, até os 21 dias de idade as aves raramente sofre por calor, o que também evita que as aves se adaptem ao calor.

Na sala 1 a termoneutralidade foi mantida, conforme Manual de manejo de Frangos de Corte (Cobb, 2008) preconizadas para cada fase de vida e, nas salas 2 e 3 sob condições de estresse cíclico pelo calor (Estresse cíclico por calor de 12 horas, sendo duas horas para atingir a temperatura desejada, oito horas de estresse constante e duas horas para reduzir a temperatura para termoneutralidade), sendo uma delas com adição de vitamina C na dieta, conforme demonstradas na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2. Temperaturas (°C) preconizadas para cada fase de criação nas câmaras.

Idade das aves (dias)	Sala 1 (termoneutra) ¹	Sala 2 (estresse cíclico) ²	Sala 3 (estresse cíclico ² + vit. C)
15-21	28	28	28
22-28	26	31	31

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

Dietas

Todas as aves receberam a mesma dieta até os 15 dias de idade, compreendida da ração basal com matriz nutricional, sem vitamina C e sem protease no período de 1- 7 dias, pré-inicial e 7 a 14 dias, inicial e, após esse período, passaram receber as dietas experimentais (Tabela 3) dos 15 a 21 dias de idade (ração inicial) e dos 21 a 28 dias de idade (ração de crescimento).

As dietas basais foram formuladas à base de milho e farelo de soja, seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2011) para frangos de corte machos de desempenho superior e para as fases de criação pré-inicial (0 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias) e crescimento (22 a 28 dias de idade). Na fase de crescimento, parte das aves receberam dieta basal, conforme já citado, denominada controle positivo (CP) e parte recebeu dieta com redução de nutrientes, denominadas controle negativo (CN) segundo valorização pela

matriz da protease, as quais foram formuladas seguindo as mesmas recomendações, porém com o nível proteico e dos aminoácidos lisina, metionina, metionina+cistina, treonina, triptofano, arginina, valina, isoleucina e leucina reduzidos em 6% da recomendação. Na terceira câmara com estresse cíclico por calor, foram utilizadas as mesmas dietas (CP e CN), porém, com a inclusão de 0,057% de vitamina C (200 mg/kg de ração).

Tabela 3. Composição centesimal (g/kg) das dietas experimentais para a fase inicial (15 a 21 dias de idade).

	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz
Ingredientes (g/kg)	s/Protease	200 ppm	400 ppm	s/Protease	200 ppm	400 ppm	s/ Protease	200 ppm	400 ppm	s/Protease	200 ppm	400 ppm
	s/vit C	s/vit C	s/vit C	c/vit C	c/vit C	c/vit C	s/ vit C	s/vit C	s/vit C	c/vit C	c/vit C	c/vit C
Milho	591,860	591,860	591,860	591,860	591,860	591,860	610,200	610,200	610,200	610,200	610,200	610,200
Farelo de Soja	347,700	347,700	347,700	347,700	347,700	347,700	332,920	332,920	332,920	332,920	332,920	332,920
Óleo	21,630	21,630	21,630	21,630	21,630	21,630	18,710	18,710	18,710	18,710	18,710	18,710
Fosfato Bicálcico	15,030	15,030	15,030	15,030	15,030	15,030	15,140	15,140	15,140	15,140	15,140	15,140
Calcário	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300	9,300
Sal	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050	4,050
DL-metionina	2,880	2,880	2,880	2,880	2,880	2,880	2,590	2,590	2,590	2,590	2,590	2,590
L-lisina	2,200	2,200	2,200	2,200	2,200	2,200	2,130	2,130	2,130	2,130	2,130	2,130
Bicarbonato de Sódio	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Inerte	1,000	0,800	0,600	0,428	0,228	0,028	1,000	0,800	0,600	0,428	0,228	0,028
L-treonina	0,550	0,550	0,550	0,550	0,550	0,550	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230
L-valina	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,130	0,130	0,130	0,130	0,130	0,130
Cloreto de Colina	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600
Suplemento vitamínico ¹	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500
Suplemento mineral ²	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Protease	0,000	0,200	0,400	0,000	0,200	0,400	0,000	0,200	0,400	0,000	0,200	0,400
Vitamina C	0,000	0,000	0,000	0,572	0,572	0,572	0,000	0,000	0,000	0,572	0,572	0,572

¹ Suplemento Vitamínico (níveis de garantia/kg de ração): Vitamina A (mín) 13.500 U.I., Vitamina D3 (mín) 3.750 U.I., Vitamina E (mín) 30 U.I., Vitamina K3 (mín) 3,75 mg, Vitamina B1 (mín) 3 mg, Vitamina B2 (mín) 9 mg, Ácido pantotênico (mín) 18 mg, Vitamina B6 (mín) 4,5 mg, Vitamina B12 (mín) 22,5 µg, Ácido Nicotínico (mín) 52,5 mg, Ácido Fólico (mín) 2,25 mg, Biotina (mín) 0,15 mg, Selênio (mín) 0,375 mg.

² Suplemento Mineral (níveis de garantia/kg de ração): Ferro (mín) 50 mg, Cobre (mín) 10 mg, Manganês (mín) 65 mg, Cobalto (mín) 1 mg, Zinco (mín) 65 mg, Iodo (mín) 1 mg. 200ppm = 200ppm de protease; 400ppm = 400ppm de protease.

Tabela 4. Composição nutricional (5) calculada das diestas experimentais para a fase inicial (15 a 21 dias de idade).

Composição nutri. (%)	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz
	s/Protease	200 ppm	400 ppm	s/Protease	200 ppm	400 ppm	s/ Protease	200 ppm	400 ppm	s/Protease	200 ppm	400 ppm
	s/vit C	s/vit C	s/vit C	c/vit C	c/vit C	c/vit C	s/ vit C	s/vit C	s/vit C	c/vit C	c/vit C	c/vit C
EMA (kcal/kg)	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00	3000,00
Proteína Bruta (%)	20,80	20,80	20,80	20,80	20,80	20,80	20,22	20,22	20,22	20,22	20,22	20,22
Fibra Bruta (%)	2,87	2,87	2,87	2,87	2,87	2,87	2,82	2,82	2,82	2,82	2,82	2,82
Cálcio (%)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Fósforo disp. (%)	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Lisina dig. (%)	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14
Metionina dig. (%)	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
AAS dig. (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Treonina dig. (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
Triptofano dig. (%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Arginina dig.(%)	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,26	1,26	1,26	1,26	1,26	1,26
Valina dig. (%)	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
Isoleucina dig. (%)	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Leucina digt. (%)	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61
Glicina+Serina dig. (%)	1,74	1,74	1,74	1,74	1,74	1,74	1,69	1,69	1,69	1,69	1,69	1,69
Potássio (%)	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Sódio (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cloro (%)	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Ácido Linoleico (%)	2,61	2,61	2,61	2,61	2,61	2,61	2,47	2,47	2,47	2,47	2,47	2,47
Gordura (%)	4,90	4,90	4,90	4,90	4,90	4,90	4,65	4,65	4,65	4,65	4,65	4,65
Amido (%)	41,39	41,39	41,39	41,39	41,39	41,39	42,36	42,36	42,36	42,36	42,36	42,36

¹ Suplemento Vitaminico (níveis de garantia/kg de ração): Vitamina A (mín) 13.500 U.I., Vitamina D3 (mín) 3.750 U.I., Vitamina E (mín) 30 U.I., Vitamina K3 (mín) 3,75 mg, Vitamina B1 (mín) 3 mg, Vitamina B2 (mín) 9 mg, Ácido pantotenico (mín) 18 mg, Vitamina B6 (mín) 4,5 mg, Vitamina B12 (mín) 22,5 µg, Ácido Nicotínico (mín) 52,5 mg, Ácido Fólico (mín) 2,25 mg, Biotina (mín) 0,15 mg, Selênio (mín) 0,375 mg.

² Suplemento Mineral (níveis de garantia/kg de ração): Ferro (mín) 50 mg, Cobre (mín) 10 mg, Manganês (mín) 65 mg, Cobalto (mín) 1 mg, Zinco (mín) 65 mg, Iodo (mín) 1 mg. 200ppm = 200ppm de protease; 400ppm = 400ppm de protease.

Tabela 5. Composição centesimal (g/Kg) das dietas experimentais para fase de crescimento (22 a 28 dias de idade).

Ingredientes (g/kg)	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	s/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz	c/ matriz
	s/Protease	200 ppm	400 ppm	s/ Protease	200 ppm	400 ppm	s/Protease	200 ppm	400 ppm	s/ Protease	200 ppm	400 ppm
	s/vit C	s/vit C	s/vit C	c/ vit C	c/vit C	c/vit C	s/vit C	s/vit C	s/vit C	c/ vit C	c/vit C	c/vit C
Milho	617,500	617,500	617,500	617,500	617,500	617,500	634,670	634,670	634,670	634,670	634,670	634,670
Farelo de Soja	315,090	315,090	315,090	315,090	315,090	315,090	301,350	301,350	301,350	301,350	301,350	301,350
Óleo	31,360	31,360	31,360	31,360	31,360	31,360	28,660	28,660	28,660	28,660	28,660	28,660
Fosfato Bicálcico	12,630	12,630	12,630	12,630	12,630	12,630	12,730	12,730	12,730	12,730	12,730	12,730
Calcário	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660	8,660
Sal	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810	3,810
DL-metionina	2,570	2,570	2,570	2,570	2,570	2,570	2,270	2,270	2,270	2,270	2,270	2,270
L-lisina	2,190	2,190	2,190	2,190	2,190	2,190	2,090	2,090	2,090	2,090	2,090	2,090
Bicarbonato de Sódio	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Inerte	1,000	0,800	0,600	0,428	0,228	0,028	1,000	0,800	0,600	0,428	0,228	0,028
L-treonina	0,390	0,390	0,390	0,390	0,390	0,390	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
L-valina	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
Cloreto de Colina	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600
Suplemento vitamínico ¹	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500
Suplemento mineral ²	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Protease	0,000	0,200	0,400	0,000	0,200	0,400	0,000	0,200	0,400	0,000	0,200	0,400
Vitamina C	0,000	0,000	0,000	0,572	0,572	0,572	0,000	0,000	0,000	0,572	0,572	0,572
Óxido de cromo	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Carofil	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040

¹Suplemento Vitamínico (níveis de garantia/kg de ração): Vitamina A (mín) 13.500 U.I., Vitamina D3 (mín) 3.750 U.I., Vitamina E (mín) 30 U.I., Vitamina K3 (mín) 3,75 mg, Vitamina B1 (mín) 3 mg, Vitamina B2 (mín) 9 mg, Ácido pantotênico (mín) 18 mg, Vitamina B6 (mín) 4,5 mg, Vitamina B12 (mín) 22,5 µg, Ácido Nicotínico (mín) 52,5 mg, Ácido Fólico (mín) 2,25 mg, Biotina (mín) 0,15 mg, Selênio (mín) 0,375 mg.

²Suplemento Mineral (níveis de garantia/kg de ração): Ferro (mín) 50 mg, Cobre (mín) 10 mg, Manganês (mín) 65 mg, Cobalto (mín) 1 mg, Zinco (mín) 65 mg, Iodo (mín) 1 mg. 200ppm = 200ppm de protease; 400ppm = 400ppm de protease.

Tabela 6. Composição nutricional (%) calculada das deitas experimentais para fase de crescimento (22 a 28 dias de idade).

Composição nutri. (%)	s / matriz s/Protease s/vit C	s/ matriz 200 ppm s/vit C	s/ matriz 400 ppm s/vit C	s/ matriz s/ Protease c/ vit C	s/ matriz 200 ppm c/vit C	s/ matriz 400 ppm c/vit C	c/ matriz s/Protease s/vit C	c/ matriz 200 ppm s/vit C	c/ matriz 400 ppm s/vit C	c/ matriz s/ Protease c/ vit C	c/ matriz 200 ppm c/vit C	c/ matriz 400 ppm c/vit C
EMA (kcal/kg)	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00	3100,00
Proteína Bruta (%)	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	19,50	18,95	18,95	18,95	18,95	18,95	18,95
Fibra Bruta (%)	2,74	2,74	2,74	2,74	2,74	2,74	2,70	2,70	2,70	2,70	2,70	2,70
Cálcio (%)	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Fósforo disp. (%)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Lisina dig. (%)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06
Metionina digt. (%)	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
AAS digest. (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
TTreonina dig. (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Triptofano dig. (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Arginina dig.(%)	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17
Valina dig. (%)	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Isoleucina dig. (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Leucina dig. (%)	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53
Glici + Serina dig. (%)	1,62	1,62	1,62	1,62	1,62	1,62	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58
Potássio (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Sódio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
Ácido Linoleico (%)	3,15	3,15	3,15	3,15	3,15	3,15	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03
Gordura (%)	5,91	5,91	5,91	5,91	5,91	5,91	5,68	5,68	5,68	5,68	5,68	5,68
Amido (%)	42,66	42,66	42,66	42,66	42,66	42,66	43,57	43,57	43,57	43,57	43,57	43,57

¹Suplemento Vitamínico (níveis de garantia/kg de ração): Vitamina A (mín) 13.500 U.I., Vitamina D3 (mín) 3.750 U.I., Vitamina E (mín) 30 U.I., Vitamina K3 (mín) 3,75 mg, Vitamina B1 (mín) 3 mg, Vitamina B2 (mín) 9 mg, Ácido pantotênico (mín) 18 mg, Vitamina B6 (mín) 4,5 mg, Vitamina B12 (mín) 22,5 µg, Ácido Nicotínico (mín) 52,5 mg, Ácido Fólico (mín) 2,25 mg, Biotina (mín) 0,15 mg, Selênio (mín) 0,375 mg.

²Suplemento Mineral (níveis de garantia/kg de ração): Ferro (mín) 50 mg, Cobre (mín) 10 mg, Manganês (mín) 65 mg, Cobalto (mín) 1 mg, Zinco (mín) 65 mg, Iodo (mín) 1 mg. 200ppm = 200ppm de protease; 400ppm = 400ppm de protease.

Protease

A enzima utilizada foi produzida por fermentação submersa a partir de *Bacillus licheniformes* contendo genes transcritos de *Nocardiosis prasina*. A atividade desta protease é medida em unidades PROT, sendo uma unidade definida como a quantidade para liberar 1 μmol de p-nitroanilina a partir de 1 μM de substrato (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-p-Nitroanilina) por minuto em pH 9,0 e 37°C. Essa protease comercial foi adicionada à dieta para proporcionar 15.000 PROT/kg de dieta (200ppm) e 30.000 PROT/kg de dieta (400ppm).

Monitoramento ambiental

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

Características Avaliadas

Desempenho

As aves foram pesadas aos 15 (peso inicial), 21 e aos 28 dias de idade, bem como as rações utilizadas e as sobras encontradas no período de 15 a 28 dias, para cálculo do ganho de peso, do consumo de ração e da conversão alimentar. A mortalidade foi registrada diariamente e as aves mortas foram pesadas para cálculo de correção do consumo de ração e da conversão alimentar.

O fator de produção foi calculado aos 28 dias de idade pela multiplicação entre o ganho de peso médio diário e a viabilidade, divididos pela conversão alimentar, e então multiplicados por 100.

Coleta de excretas

A coleta de excretas foi realizada aos 28 dias de idade. As bandejas foram previamente revestidas com plástico sob as gaiolas e as excretas coletadas duas vezes ao dia (às 8 e 17 horas). Para determinar a quantidade de ração consumida, foi considerado a adição de 0,1% de óxido de cromo. Uma vez coletadas, as excretas foram acondicionadas em um único saco plástico, identificadas por

repetição (gaiola) e mantidas em congelamento. No final do ensaio metabólico foram determinadas as quantidades totais de excretas para cada repetição.

Após o descongelamento à temperatura ambiente, as excretas das aves de cada uma das repetições foram homogeneizadas e retirada uma amostra de aproximadamente 500 g, para secar em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas a fim de se proceder a pré-secagem para determinação matéria seca ao ar. Posteriormente foram moídas em moinho tipo faca, com peneira de 1 mm de diâmetro de furo e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia da FMVZ, UNESP - Botucatu juntamente com as amostras das dietas experimentais.

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

Coefficientes de metabolizabilidade e energia metabolizável

Com base nos resultados das análises bromatológicas foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), do nitrogênio (CMAN) e da energia (CDAE) das dietas:

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

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

EMA, kcal/kg MS (rações teste) = $(\text{EB ingerida} - \text{EB excretada}) / \text{MS ingerida}$

EMAN (rações teste, kcal/kg MS) = $\{[\text{EB ingerida} - ((\text{EB excretada} + 8,22 \times \text{*BN})] / \text{MS ingerida}\}$

*BN (balanço de nitrogênio) = $\text{N ingerido} - \text{N excretado}$

Digestibilidade Ileal

Para determinar os coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDA) foi adicionado 0,1% de óxido de cromo na ração como marcador inerte. Após a coleta de excretas que foi realizada aos 28 dias de idade, as aves retornaram a temperatura de termoneutralidade e após um período de 12 horas, foram abatidas para coleta de conteúdo ileal. Foram sacrificadas cinco aves por gaiola (repetição)

para coleta do conteúdo ileal, obtido a partir da metade inferior do íleo (divertículo de Meckel) até a junção ileocecal. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em coletores universais e mantidas congeladas (-20°C) e, posteriormente foram moídas em moinho criogênico para serem submetidas às análises bromatológicas para determinação matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB). Tais análises, também foram realizadas nas rações, as quais foram submetidas aos mesmos sistemas de conservação e preparo de amostras que o conteúdo ileal.

Os coeficientes de digestibilidade ileal dos nutrientes (matéria seca, nitrogênio e energia), foram calculados com base no teor de óxido de cromo dos nutrientes nas rações e no conteúdo ileal, conforme a fórmula a seguir descrita por Silva et al. (2006):

$$CDa(n) = 100 - \left[100 \left(\frac{\%Cr2O3r}{\%Cr2O3f} \right) \times \left(\frac{\%Nf}{\%Nr} \right) \right]$$

Onde:

CDa (n) = Digestibilidade ileal do nutriente;

Cr₂O_{3r} = % de óxido de cromo na ração;

Cr₂O_{3f} = % de óxido de cromo no conteúdo ileal;

Nr = % Nutrientes na ração;

Nf = % Nutriente no conteúdo ileal.

6. RESULTADOS

A análise estatística dos resultados foi realizada através da análise de variância com o auxílio do pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute, 2008) e, quando significativas, as médias foram comparados pelo teste de Tukey a 5%.

Na Tabela 7 estão representados os resultados de desempenho de frangos de corte no período de 15 a 21 dias de idade. Não houve efeito da temperatura, dieta e protease ($P < 0,05$) e nem interação entre estes fatores para as variáveis de desempenho dos frangos de corte nesse período, justamente pelo fato de que, nesse período as aves estavam em adaptação à câmara e o ambiente era termoneutro para todas as salas; o estresse por calor começou a partir dos 21 dias.

Tabela 7. Resultados de desempenho de frangos de corte no período de 15 a 21 dias de idade.

TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	PI ²	P21 ³	GPD21 ⁴	CR21 ⁵	CA21 ⁶
TN			487,76	844,84	51,01	520,38	1,460
QU			487,81	846,47	51,24	517,42	1,444
QC			485,54	854,33	52,68	529,07	1,443
	CP		486,71	847,03	51,48	521,41	1,450
	CN		487,37	850,06	51,81	523,17	1,444
		0	483,63	842,80	51,31	522,73	1,457
		200	489,66	850,78	51,59	522,78	1,450
		400	487,83	852,06	52,03	521,36	1,434
Valor de P							
TEMP ¹			ns	ns	ns	ns	ns
DIETA			ns	ns	ns	ns	ns
PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
TEMP*DIETA			ns	ns	ns	ns	ns
TEMP*PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
DIETA*PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
TEMP*DIETA*PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
CV, %			4,17	4,30	7,72	6,43	3,87

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

^{A,B}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna para cada fator, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Tabela 8 estão representados os resultados de desempenho dos frangos de corte no período de 15 a 28 dias de idade. Não houve efeito da dieta nem de nível de protease sobre o desempenho nesse período, porém, houve efeito da temperatura sobre peso (P28), ganho de peso diário (GPD28) e consumo de ração aos 28 dias (CR28). Para as variáveis P28 e GPD28, os frangos de corte criados em temperatura termoneutra apresentaram maiores valores em comparação aos frangos de corte estressados pelo calor. Para consumo de ração, o mesmo foi verificado, mas a adição de vitamina C nos frangos estressados pelo calor melhorou o consumo em aves que estavam em estresse em comparação com as que não receberam vitamina C.

Tabela 8. Resultados de desempenho de frangos de corte de 21 a 28 dias de idade.

TEMP1	DIETA	PROTEASE	PI ²	P28 ³	GPD28 ⁴	CR28 ⁵	CA28 ⁶
TN			487,76	1488,07a	71,45a	1502,85a	1,503
QU			487,81	1438,46b	67,90b	1421,68c	1,496
QC			485,54	1456,83b	69,38b	1459,93b	1,504
	CP		486,71	1463,78	69,79	1460,99	1,496
	CN		487,37	1458,46	69,36	1461,98	1,506
		0	483,63	1445,18	68,68	1457,83	1,517
		200	489,66	1471,24	70,11	1474,99	1,503
		400	487,83	1466,94	69,94	1451,64	1,483
Valor de P							
TEMP1			ns	**	**	**	ns
DIETA			ns	ns	ns	ns	ns
PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
TEMP*DIETA			ns	ns	ns	ns	ns
TEMP*PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
DIETA*PROTEASE			ns	ns	ns	ns	ns
TEMP*DIETA*PROTEASE			ns	ns	ns	ns	*
CV, %			4,17	4,25	5,37	5,08	2,74

¹TEMP = temperatura; ²PI = peso inicial (g); ³PC28 = peso final aos 28 dias de idade(g); ⁴GPD28 = ganho de peso diário aos 28 dias de idade (g); ⁵CR28 = consumo de ração aos 28 dias de idade (g); ⁶CA28 = conversão alimentar aos 28 dias de idade. CP= Controle positivo; CN = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente.

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

Houve interação entre temperatura, dieta e protease para conversão alimentar aos 28 dias (Tabela 9). Para os frangos de corte criados em temperatura quente e que receberam dieta CN, a inclusão de 400 ppm de protease melhorou a conversão alimentar. Para frangos de corte criados em temperatura quente, recebendo vitamina C e dieta CP, a inclusão de 400 ppm de protease melhorou a conversão alimentar.

Tabela 9. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de Protease na conversão alimentar de frangos de corte aos 28 dias de idade.

DIETA	PROTEASE	CA 28		
		TN	QU	QC
CP	0	1,492aAx	1,507aAx	1,532aAx
CP	200	1,520aAx	1,472aAx	1,504aABx
CP	400	1,486aAx	1,490aAx	1,464aBx
CN	0	1,527aAx	1,533aAx	1,511aAx
CN	200	1,494aAx	1,507aABx	1,522aAx
CN	400	1,500aAx	1,467aBx	1,492aAx

CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; QV = temperatura quente + vitamina C; CA = Conversão Alimentar.

^{a,b}Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas, na linha, diferem para temperatura dentro do mesmo nível de protease e mesma dieta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{A,B} Nas interações, médias seguidas de letras maiúsculas e distintas, na coluna, diferem para nível de protease dentro mesma dieta e mesma temperatura, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{x,y}Nas interações, médias seguidas de letras minúsculas distintas, na coluna, diferem quanto a mesmo nível de protease em diferentes dietas e mesma temperatura, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 10 apresenta os resultados para a digestibilidade ileal aparente em frangos de corte aos 28 dias de idade. Houve interação entre temperatura e dieta (tabela 8) para as variáveis coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB), coeficiente de digestibilidade da energia bruta (CDAE), energia digestível na matéria natural (EMAMN) e coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS). Frangos de corte criados em temperatura quente com adição de vitamina C e que receberam dieta CP apresentaram menores valores de CDAPB, CDAE, EMAMN e CDAMS que os frangos de corte que receberam dieta CN. Frangos de corte criados em temperatura quente com vitamina C e receberam dieta CN apresentaram maiores valores de CDAPB, CDAE, EMAMN e CDAMS que os frangos de corte criados nas demais temperaturas com a mesma dieta.

Houve interação entre temperatura e nível de Protease para as variáveis CDAPB, CDAE, EMAMN e CDAMS (tabela 10). Quando comparado dentro do mesmo ambiente, os diferentes níveis de protease, o nível de 400 ppm de protease, proporcionou menores valores de CDAPB, CDAE, EMAMN e CDAMS tanto na sala termoneutra quanto na sala quente, enquanto que para os frangos de corte, criados em ambiente quente com vitamina C, o nível de 200 ppm de protease, apresentou pior valor para estas variáveis.

Tabela 10. Resultados da digestibilidade ileal aparente em de frangos de corte aos 28 dias de idade.

28 dias de idade.								
TEMP ¹	DIETA	PROTEASE	CDAPB%	CDAE%	EMAMN	PDMN%	CDAMS%	
N			81,41	70,92	2831,89	9,49	65,10	
Q			81,06	71,38	2850,65	9,51	64,32	
QC			84,42	75,15	3008,57	9,08	71,34	
	CP		81,70	71,16	2860,88	9,13	64,45	
	CN		82,89	73,80	2933,20	9,56	69,39	
		0	83,64	73,85	2958,33	9,69	69,30	
		200	84,40	74,18	2959,27	10,41	68,28	
		400	78,84	69,41	2773,52	7,99	63,17	
TEMP X DIETA	TN	CP	80,25aA	70,64aA	2837,18aA		64,85aA	
		CN	79,65bA	71,19bA	2826,61bA		65,34bA	
	QU	CP	79,97aA	71,43aA	2869,20aA		62,77aA	
		CN	78,89bA	71,32bA	2832,10bA		65,86bA	
	QC	CP	80,38aB	71,40aB	2876,27aB		65,71aB	
		CN	86,90aA	78,89aA	3140,87aA		76,97aA	
TEMP X PROTEAS E	TN	0	82,36aA	72,77aA	2906,94aA		67,71aA	
		200	85,85aA	76,63aA	3052,80aA		72,38aA	
		400	71,63bB	63,34bB	2535,94bB		55,21bB	
	QU	0	81,93aA	72,86aA	2910,20aA		67,94aA	
		200	83,72aA	75,44aA	3006,02aA		66,10aAB	
		400	72,64bB	65,82bB	2635,73bB		58,90bB	
	QC	0	83,58aB	75,91aA	3057,83aA		72,26aAB	
		200	79,97bB	70,47bB	2818,99bB		66,36aB	
		400	87,37aA	79,06aA	3148,89aA		75,40aA	
	DIETA X PROTEAS E	CP	0	81,19bA				
			200	81,71bA				
			400	77,70aB				
CN		0	84,06aA					
		200	84,65aA					
		400	76,72aB					
Valor de P								
TEMP1			**	**	**	*	**	
DIETA			*	**	*	**	**	
PROTEASE			**	**	**	**	**	
TEMP*DIETA			**	**	**	**	**	
TEMP*PROTEASE			**	**	**	**	**	
DIETA*PROTEASE			*	ns	ns	**	ns	
TEMP*DIETA*PROTEASE			ns	ns	ns	**	ns	
CV%			5,49	7,37	7,38	9,36	13,28	

CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; CDAPB = Coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (%); CDAE = coeficiente da digestibilidade aparente da energia bruta (%); EMAMN = energia metabolizável aparente na matéria natural (kcal/kg); PDMN = proteína digestível na matéria natural (%); CDAMS = Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (%). ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$); * significativo ao nível de 5 % de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$); ns = não significativo.

^{a,b}Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem para ambiente dentro de dieta e para nível de protease dentro do mesmo ambiente ou da mesma dieta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{A,B}Nas interações, médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem quanto a dieta dentro de ambiente e quanto ao ambiente ou à dieta dentro do nível de protease, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em diferentes ambientes, os frangos que receberam 200 ppm de protease apresentaram menores valores de CDAPB e CDAE quando criados em ambiente quente com vitamina C. O oposto foi observado para os frangos que receberam 400 ppm de protease, os quais tiveram maiores valores de CDAPB, CDAE e CDAMS quando criados em ambiente quente com vitamina C.

Houve interação entre dieta e nível de protease (Tabela 10) para a variável CDAPB. Frangos de corte que receberam dieta CP e CN com nível de 400 ppm de protease apresentaram piores resultados de CDAPB. Nos mesmos níveis de inclusão de protease de 0 e 200 ppm, frangos que receberam dieta CN apresentaram maiores valores de CDAPB que os que receberam dieta CP. Este efeito de dieta não foi verificado para frangos que receberam 400 ppm de protease.

Os dados do desdobramento da interação tripla que houve entre temperatura, nível de protease e dieta da variável PDMN para frangos de corte aos 28 dias encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de Protease para PDMN em frangos de corte aos 28 dias de idade.

DIETA	PROTEASE	PDMN		
		TN	QU	QC
CP	0	11,27aAx	10,55aBx	5,59bCy
CP	200	12,04aAx	12,23aAx	6,65bBx
CP	400	6,33bBx	6,36bCx	11,20aAy
CN	0	8,95bBy	9,35bBy	12,44aAx
CN	200	12,72aAx	12,56aAx	6,29bBx
CN	400	5,64bCx	6,06bCx	12,35aAx

CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; QV = temperatura quente + vitamina C; CA = Conversão Alimentar; PDMN = proteína digestível na matéria natural (%).

^{a,b}Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas, na linha, diferem para temperatura dentro do mesmo nível de protease e mesma dieta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{A,B} Nas interações, médias seguidas de letras maiúsculas e distintas, na coluna, diferem para nível de protease dentro mesma dieta e mesma temperatura, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{x,y}Nas interações, médias seguidas de letras minúsculas distintas, na coluna, diferem quanto a mesmo nível de protease em diferentes dietas e mesma temperatura, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Frangos de corte criados recebendo dieta CP com 0 e 200 ppm de protease apresentaram melhores valores para PDMN dentro das temperaturas termoneutra e quente do que os que estavam em ambiente quente com adição de vitamina C.

Frangos de corte recebendo dieta CP com nível de 400 ppm apresentaram melhor resultado para PDMN em ambiente quente com adição de vitamina C em relação aos frangos mantidos em temperatura termoneutra e quente.

Frangos de corte recebendo dieta CN e com nível de 0 e 400 ppm de protease apresentaram melhor resultado para PDMN em ambiente quente com vitamina C que nas temperaturas termoneutra e quente. Frangos com 200 ppm de protease e dieta CN tiveram melhores resultados de PDMN que os que receberam 0 e 400 ppm, quando criados em temperaturas termoneutra e quente. Para temperatura quente com vitamina C, o pior resultado foi para a inclusão de 200 ppm de protease.

Ao comparar diferentes níveis de protease em frangos de corte mantidos em mesmo ambiente e mesma dieta, observou-se que para os frangos de corte que receberam dietas CP e CN, mantidos tanto ambiente termoneutro e quente, os que receberam nível de 200 ppm de protease, apresentaram melhor valor de PDMN quando comparados aos que receberam 0 e 400 ppm. No entanto, a inclusão de 400 ppm de protease na dieta proporcionou maiores valores de PDMN em relação aos níveis de 0 e 200 ppm, para frangos com dietas CP e CN quando criados em ambiente quente com adição de vitamina C.

Ao se comparar diferentes dietas em frangos que receberam o mesmo nível de protease e mesma temperatura, observou-se que os frangos de corte criados em temperaturas termoneutra e quente e que receberam nível 0 ppm de protease, apresentaram os piores resultados de PDMN para a dieta CN em comparação aos que receberam dieta CP. Frangos de corte criados em ambiente quente com vitamina C obtiveram os piores resultados quando receberam nível de 0 e 400 ppm de protease na dieta CP em comparação à dieta CN.

Na tabela 12 estão apresentados os resultados do ensaio de metabolizabilidade (coleta total de excretas) em frangos de corte aos 28 dias de idade. Houve interação entre temperatura, níveis de protease e dieta para todas as variáveis analisadas.

Tabela 12. Resultados do ensaio de metabolizabilidade (coleta total de excretas) em de frangos de corte aos 28 dias de idade.

TEMP1	DIETA	PROTEASE	CDAPB%	CDAE%	EMAMN	PDMN%	CDAMS%
N			61,32	73,64	2978,58	11,72	73,64
Q			61,59	74,15	3006,36	11,75	74,15
QC			59,25	74,03	3013,65	11,29	74,03
	CP		88,93	74,09	2978,48	17,03	72,81
	CN		93,24	76,00	3020,58	17,73	75,07
		0	62,26	74,88	3042,75	11,85	74,88
		200	64,10	75,25	3041,22	12,76	75,25
		400	55,81	71,69	2914,62	10,15	71,69
Valor de P							
TEMP1			*	ns	ns	*	ns
DIETA			**	**	**	**	**
PROTEASE			**	**	**	**	**
TEMP*DIETA			**	**	**	**	**
TEMP*PROTEASE			**	**	**	**	**
DIETA*PROTEASE			**	**	**	**	**
TEMP*DIETA*PROTEASE			**	**	**	**	**
CV%			8,03	3,22	3,22	9,36	3,47

CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; CDAPB = coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (%); CDAE = coeficiente de digestibilidade aparente da energia (%); EMAMN = Energia metabolizável aparente na matéria natural (kcal/kg); PDMN = proteína digestível na matéria natural (%); CDAMS = Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (%); ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$); * significativo ao nível de 5 % de probabilidade ($0,01 \leq P < 0,05$); ns = não significativo ($P \geq 0,05$).

Os resultados do desdobramento da interação entre temperatura, níveis de protease e dieta para o ensaio de metabolizabilidade (coleta total de excretas) de frangos de corte aos 28 dias de idade estão representados nas tabelas 13 e 14.

Tabela 13. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de Protease para CDAPB, CDAE e EDMN em frangos de corte aos 28 dias de idade.

DIETA	PROTEAS	CDAPB, %			CDAE, %			EMAMN, kcal/kg		
	E	TN	QU	QC	TN	QU	QC	TN	QU	QC
CN	0	66,78aAx	63,21aBx	45,18bBy	76,15aBx	73,64abB	71,40bBy	3050,17aBx	2949,59abB	2895,17bBy
						y			y	
	200	71,48aAx	72,43aAx	48,39bBx	79,68aAx	80,51aAx	68,85bBx	3206,60aAx	3239,59aAx	2763,06bCx
	400	48,61bBx	48,79bCx	68,66aAx	68,15bCx	68,75bCy	79,60aAx	2739,68bCx	2763,92bCy	3197,77aAx
CP	0	61,58bBy	63,80bBx	72,98aAx	74,61cBx	78,08bAx	81,83aAx	2972,78cBx	3110,94bAx	3277,33aAx
	200	72,32aAx	71,52aAx	48,42bBx	79,06aAx	78,75aAx	70,57bBx	3117,44aAx	3105,26aAy	2815,11bCx
	400	47,15bCx	49,75bCx	71,87aAx	69,82bCx	71,93dBx	79,31aAx	2784,79bCx	2868,57bBx	3132,97aBx

CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; QV = temperatura quente + vitamina C; CMAPB = Coeficiente de metabolizabilidade aparente da proteína bruta; CDAE = Coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta; EMAMN = Energia metabolizável aparente na matéria natural.

^{a,b}Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas, na linha, diferem para temperatura dentro do mesmo nível de protease e mesma dieta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{A,B} Nas interações, médias seguidas de letras maiúsculas e distintas, na coluna, diferem para nível de protease dentro mesma dieta e mesma temperatura, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{x,y}Nas interações, médias seguidas de letras minúsculas distintas, na coluna, diferem quanto a mesmo nível de protease em diferentes dietas e mesma temperatura, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Considerando-se dieta CN, com nível de 0 e 200 ppm de protease, obteve-se maiores resultados de CDAPB quando os frangos de corte foram mantidos em temperatura termoneutra e quente em comparação a temperatura quente com vitamina C (tabela 13). Nesta mesma situação, para o nível de 400 ppm de protease, o melhor valor para CDAPB foi em temperatura quente com vitamina C. Considerando-se frangos recebendo dieta CN sob temperaturas termoneutra e quente, o nível de 400 ppm de protease resultou em piores resultados de CDAPB, diferentemente da temperatura quente com vitamina C, onde o nível de 400 ppm de protease proporcionou o melhor resultado de CDAPB.

Para frangos de corte recebendo dieta CP e com níveis de 0 e 400 ppm de protease, observou-se maiores valores para CDAPB quando os frangos de corte foram mantidos em temperatura quente com vitamina C, em relação às demais ambientes. Para a inclusão de 200 ppm de protease na dieta CP, os melhores resultados de CDAPB foram para frangos mantidos nas temperaturas termoneutra e quente.

Ao se analisar resultados de CDAPB para frangos recebendo dieta CP com diferentes níveis de protease sob mesma temperatura, o nível de 400 ppm de protease apresentou pior resultado quando em temperaturas termoneutra e quente. E quando em ambiente quente com vitamina C, o pior valor de CDAPB foi observado nos frangos com 200 ppm de protease na dieta.

Quando se comparou mesmo nível de protease em diferentes dietas de frangos de corte mantidos em mesma temperatura, para o nível de 0 ppm de protease em temperatura termoneutra, a dieta CN proporcionou melhores CDAPB de que nos frangos que receberam dieta CP, diferentemente da temperatura quente com vitamina C, onde a dieta CP apresentou melhores resultados de CMAPB em comparação a CN, no nível 0 de inclusão de protease.

O desdobramento da interação entre temperatura, dieta e nível de inclusão de protease para a variável coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDAE) de frangos de corte aos 28 dias de idade (tabela 11) mostrou que frangos de corte recebendo mesma dieta CN, com níveis de 0 e 200 ppm de protease, obtiveram melhores resultados quando em temperaturas

termoneutra e quente. Já o melhor resultado de CDAE para frangos de corte que receberam dieta CN e nível de 400 ppm de protease na dieta foi em temperatura quente com vitamina C.

Ao se comparar os valores de CDAE em frangos de corte que receberam diferentes níveis de protease, com dieta CN e mantidos sob mesma temperatura verificou-se melhores resultados com a inclusão de 200 ppm em temperaturas termoneutra e quente. Já para os frangos de corte mantidos em temperatura quente com vitamina C, o melhor valor de CDAE foi obtido na dieta CN com nível de 400 ppm de protease.

Frangos de corte recebendo dieta CP, com níveis de 0 e 400 ppm de protease, obtiveram melhores resultados para CDAE quando mantidos em temperatura quente com vitamina C. Já para nível de 200 ppm de protease, com dieta CP, frangos apresentaram maior CDAE quando em temperaturas termoneutra e quente.

Frangos de corte criados com dieta CP e mantidos sob mesma temperatura com diferentes níveis de protease, apresentaram menores valores de CDAE quando alojados em temperatura termoneutra e quente e recebendo 400 ppm de protease na dieta em comparação aos que receberam 0 e 200 ppm. No entanto, para os frangos mantidos em temperatura quente com vitamina C, o nível de 200 ppm de protease apresentou o pior resultado para CDAE em relação aos outros níveis..

Ao se comparar mesmo nível de protease com diferentes dietas sob mesma temperatura, frangos de corte que receberam dieta CN com nível de 0 e 400 ppm sob temperatura quente tiveram pior resultado para CDAE que os frangos de corte com dieta CP; enquanto que, para os frangos de corte mantidos em temperatura quente com vitamina C e com nível de 0 ppm de protease, o pior resultado para CDAE ocorreu quando receberam dieta CN em comparação dieta CP.

Houve interação entre temperatura, dieta e nível de protease (tabela 13) para a variável energia metabolizável aparente na matéria natural (EMAMN). Frangos de corte recebendo dieta CN, com níveis de 0 e 200 ppm de protease apresentaram pior resultado quando mantidos em temperatura quente com vitamina C. Já para o nível de 400 ppm, os piores resultados para EMAMN foram para as temperaturas termoneutra e quente.

Ao se comparar a mesma dieta em frangos de corte criados em mesma temperatura com diferentes níveis de protease, observou-se que frangos alimentados com dieta CN sob temperaturas termoneutra e quente apresentaram maiores resultados de EMAMN com nível de 200 ppm de protease, enquanto que os frangos de corte mantidos em temperatura quente com vitamina C apresentaram maior valores de EMAMN com o nível de 400 ppm de protease.

Frangos de corte recebendo dieta CP, com níveis de 0 e 400 ppm inclusão de protease apresentaram melhores resultados de EMAMN quando mantidos em temperatura quente com vitamina C. Já para o nível de 200 ppm de protease os melhores resultados de EMAMN foram para os frangos de corte criados em temperaturas termoneutra e quente.

Ao se avaliar os valores de EMAMN para frangos de corte que recebiam dieta CP, mantidos em mesma temperatura e com diferentes níveis de protease, frangos de corte criados em ambiente termoneutro e quente apresentaram maiores resultados com inclusão de 0 ppm de protease, enquanto que para temperatura termoneutra o melhor resultado foi com a inclusão de 200 ppm de protease.

Comparando-se diferentes dietas, com mesmo nível de protease em mesma temperatura, frangos mantidos em temperatura quente, recebendo dietas com níveis de 0 e 400 ppm de protease obtiveram piores resultados para EMAMN quando receberam dietas CN comparados aos que receberam dieta CP. Para o nível de 200 ppm de protease em ambiente quente, frangos que receberam dieta CP foram os que apresentaram pior resultado em comparação aos que receberam dieta CN. Quando frangos foram mantidos em temperatura quente com vitamina C e com nível 0 ppm de suplementação de proteases, os valores de EMAMN para frangos que receberam dieta CP foram melhores que para os com dieta CN.

Tabela 14. Desdobramento da interação entre temperatura, dieta e níveis de inclusão de Protease na PDMN e CDAMS em frangos de corte aos 28 dias de idade.

DIETA	PROTEASE	PDMN			CDAMS		
		TN	QU	QC	TN	QU	QC
CN	0	11,27aAx	10,54aBx	5,56bCy	75,24aBx	72,41abBy	69,54bBy
	200	12,03aAx	12,22aAx	6,65bBx	78,70aAx	79,44aAx	67,55bBx
	400	6,33bBx	6,36bCx	11,20aAy	66,79bCx	67,12bCy	78,42aAx
CP	0	8,94bBy	9,34bBy	12,44aAx	73,75cBx	77,37bAx	80,91aAx
	200	12,72aAx	12,55aAx	6,29bBx	78,59aAx	77,99aAx	69,21bAx
	400	5,63bCx	6,06bCx	12,35aAx	68,71bCx	70,57bBx	78,51aAx

CP= Controle positivo; CP = controle negativo; TN = temperatura neutra; QU = temperatura quente; QV = temperatura quente + vitamina C; PDMN = Proteína digestível na material natural; CDAMS = Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca.

^{a,b}Nas interações, médias seguidas por letras minúsculas distintas, na linha, diferem para temperatura dentro do mesmo nível de protease e mesma dieta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{A,B, C} Nas interações, médias seguidas de letras maiúsculas e distintas, na coluna, diferem para nível de protease dentro mesma dieta e mesma temperatura, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

^{x,y}Nas interações, médias seguidas de letras minúsculas distintas, na coluna, diferem quanto a mesmo nível de protease em diferentes dietas e mesma temperatura, pelo teste F a 5% de probabilidade

O desdobramento da interação para proteína metabolizável na matéria natural (PDMN) em frangos de corte aos 28 dias de idade (tabela 14) indicou que para frangos de corte recebendo dieta CN com níveis de 0 e 200 ppm de protease, os piores valores obtidos foram quando em temperatura quente com vitamina C. Já para o nível de 400 ppm de protease, os piores valores de PDMN foram obtidos para os frangos mantidos sob temperaturas termoneutra e quente.

Frangos de corte criados em temperaturas termoneutra e quente, com dieta CN, apresentaram menores valores de PDMN quando com nível de 400 ppm de protease, enquanto que os criados em temperatura quente com vitamina C apresentaram menor valor para esta variável quando não receberam protease na dieta.

Ao se comparar frangos de corte recebendo dieta CP com níveis de 0 e 400 ppm de protease, os melhores resultados de PDMN foram obtidos quando os frangos de corte foram criados em temperatura quente com vitamina C. Já para a inclusão de 200 ppm de protease, obteve-se maiores resultados de

PDMN quando os frangos foram criados em temperaturas termoneutra e quente.

Ao se comparar mesma dieta para frangos criados em mesma temperatura, mas com diferentes níveis de protease, observou-se que frangos de corte recebendo dieta CP alojados em temperaturas termoneutra e quente, apresentaram menores resultados de PDMN quando receberam o nível de 400 ppm de protease na dieta; enquanto que, os frangos de corte criados em temperatura quente com vitamina C apresentaram menor valor PMMN com nível de 200 ppm de protease.

Frangos de corte criados em temperatura termoneutra e quente, com inclusão de 0 ppm de protease na dieta, tiveram menores valores de PDMN quando receberam dieta CP em relação aos que receberam dieta CN; enquanto que, frangos de corte criados em temperatura quente com vitamina C e recebendo dietas com 0 e 400 ppm de protease apresentaram menores valores de PDMN na dieta CN em relação à CP.

Para o coeficiente de metabolizabilidade aparente na matéria seca (CDAMS) em frangos de corte aos 28 dias de idade (tabela 14), verificou-se que para frangos de corte criados sob diferentes temperaturas, recebendo dieta CN e com níveis de 0 e 200 ppm de protease, os piores valores de CDAMS foram observados em frangos mantidos em temperatura quente com vitamina C; enquanto que, para o nível de 400 ppm de protease, os piores valores foram para os frangos de corte criados em temperaturas termoneutra e quente.

Frangos de corte criados em temperatura termoneutra e quente e com dieta CN, apresentaram maiores resultados de CDAMS quando receberam 200 ppm de protease na dieta; enquanto que, para frangos de corte criados em temperatura quente com vitamina C, o melhor resultado de CDAMS ocorreu quando receberam o nível de 400 ppm de protease.

Para frangos de corte que receberam dieta CP com mesmo nível de protease em diferentes temperaturas, os frangos de corte mantidos em temperatura quente com vitamina C com níveis de 0 e 400 ppm de protease, apresentaram os melhores valores para CDAMS, que os mantidos em temperaturas termoneutra e quente; enquanto que, frangos com de 200 ppm de protease na dieta apresentaram maiores valores de CDAMS quando em

temperaturas termoneutra e quente, em relação aos criados em temperatura quente com vitamina C.

Frangos de corte que receberam dieta CP e que receberam nível de 400 ppm de protease, apresentaram o pior valor de CDAMS quando mantidos em temperaturas termoneutra e quente quando comparados aos criados em temperatura quente com vitamina C.

Ao se comparar frangos de corte criados em temperatura quente e recebendo níveis de 0 e 400 ppm de protease, os que receberam dieta CN tiveram piores resultados de CDAMS que os que receberam dieta CP. Já, os frangos de corte que receberam dieta CN, com nível 0 de protease e mantidos sob temperatura quente com vitamina C apresentaram menor valor de CDAMS em relação aos que receberam dieta CP.

7. DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, a finalidade de expor os frangos de corte ao ambiente quente somente aos 21 dias de idade, foi, justamente, evitar possível adaptação dos frangos (aclimatação), uma vez que em situações de estresse por calor prolongadas, uma série de respostas fisiológicas compensatórias são desencadeadas para amenizar a situação estressora (BORGES et al., 2003), com o intuito de criar condição experimental semelhante à que pode ser encontrada no campo, nas quais dias quentes podem se suceder à dias frios durante o período de criação dos frangos, tendo-se em vista que o Brasil possui vários tipos de clima, com grandes variações de temperatura e umidade do ar devidas às estações do ano, horário do dia, maior ou menor incidência de raios solares, chuvas, frentes frias ou quentes, entre outros fatores climáticos, que podem ocasionar altas temperaturas e alta umidade, principalmente dentro dos aviários, prejudicando o desempenho de frangos de corte (FURLAN, 2006).

O efeito negativo do calor, mesmo com a utilização da vitamina C, sobre alguns parâmetros de desempenho dos frangos de corte (PC28, GP28 e CR28) é devido ao fato das aves, sob condições de estresse, direcionarem a energia para manter a homeostase em detrimento do desempenho, reduzindo a deposição proteica, além de alterarem seus comportamentos. Uma dessas medidas comportamentais e fisiológicas é a redução do consumo de alimento, com a finalidade de diminuir o calor metabólico gerado pela digestão do

alimento (OLIVEIRA et al., 2006; OBA et al. 2012) causando, por consequência, efeito negativo sobre desempenho.

Os frangos de corte criados em temperatura quente com vitamina C, apresentaram maior consumo quando comparados com os frangos de corte criados em ambiente quente. Essa melhora no consumo de ração pode estar associada com o efeito do ácido ascórbico sobre a manutenção dos níveis dos hormônios t circulantes, os quais aceleram o metabolismo da ave fazendo com que o consumo de alimento seja maior, promovendo o crescimento dos frangos de corte (McNABB & KING, 1993; SOUZA et al., 2011;), além do fato de que a atividade da vitamina C está diretamente ligada em reparar danos oxidativos nas células causados, entre outros, pelo excesso calor (COMBS JR., 2012).

A inclusão de 400 ppm de protease melhorou a conversão de frangos de corte recebendo dieta CP em ambiente quente com vitamina C, e de frangos de corte recebendo dieta CN em ambiente quente. Resultados semelhantes foram encontrados por Pucci et al. (2010) com a suplementação de protease em rações de frangos de corte, obtendo melhora de 2,94% para conversão alimentar em relação as aves que não receberam a enzima na dieta. O uso de protease melhorou valores de CA a medida que o nível de inclusão de protease foi aumentado, independente da dieta e da adição de vitamina C, pois esta permite a digestão de nutrientes antes não digeridos (fatores antinutricionais) e/ou a hidrólise de ligações peptídicas de nutrientes que antes eram parcialmente digeridos (BARLETTA, 2010).

Os dados de digestibilidade ileal de frangos de corte recebendo dieta CN apresentaram melhores resultados que os frangos que receberam dieta CP, quando criados em ambiente quente e quente com vitamina C para CDAPB, CDAE, EDMN e CDAMS. Esses resultados corroboram com os encontrados por Oliveira et al. (2010), recomendando a redução da proteína bruta em situações de altas temperaturas afim de se reduzir a produção de calor metabólico. Warpechowski et al. (2006) também afirmaram que a digestibilidade ileal melhora com dietas contendo menor nível proteico e com a suplementação de aminoácidos sintéticos, como feito nas dietas dessa pesquisa, aumentando a energia, reduzindo o consumo diário de ração e, por consequência, a ingestão de proteína e excreção de nitrogênio, melhorando os

coeficientes de digestibilidade, principalmente, da proteína (HARMS & RUSSEL, 1998a).

A vitamina C, suplementada na dieta dos frangos de corte em ambiente quente, também pode ter contribuído para os melhores resultados dos frangos que receberam dieta CN. A vitamina C é um importante agente antioxidante responsável por manter a integridade das células do corpo protegendo-as dos danos oxidativos causados por radicais livres, além de ser fundamental para a síntese e maturação do colágeno, responsável pela estrutura e saúde das células, principalmente as intestinais, devido sua curta vida (WHITEHEAD & KELLER, 2003).

Em situações de estresse por calor, a taxa de passagem do alimento no trato gastrointestinal é acelerada, fazendo com que a proteína fique menor tempo nos sítios de ligações das enzimas, não permitindo a completa produção dos produtos finais da degradação proteica (BEDFORD & PATRIDGE, 2010), somado ao fato de dietas com maiores níveis de proteína estarem mais sujeitas a putrefação na parte mais distal do intestino, liberando metabólitos nocivos a saúde intestinal (WINDEY et al., 2012). Sendo assim, o fato dos frangos de corte serem suplementados com ácido ascórbico pode ter preservado as células intestinais, garantindo eficiência nos processos absorptivos e, aliados ao fato de receberem dieta com redução do nível proteico, pode ter contribuído com o bom funcionamento do trato intestinal, melhorando os coeficientes de digestibilidade.

A interação entre temperatura e 400 ppm de protease na dieta, proporcionou menores valores de CDAPB, CDAE, EMAMN e CDAMS tanto na sala termoneutra quanto na sala quente, já no ambiente quente com vitamina C, o nível de 200 ppm de protease, apresentou pior valor para estas variáveis, exceto para CDAMS. O pior resultado com níveis mais altos de protease, pode ser justificado pelo efeito negativo do estresse pelo calor. Em situações crônicas, onde o frango de corte está fora de sua homeostase, uma série de respostas fisiológicas são desencadeadas, entre elas, alteração da frequência respiratória, efeito depressivo do sistema imunológico, modificação na estrutura e no pH intestinal e do sangue (WANG et al., 2018). Segundo Bedford & Partridge (2010), as enzimas possuem uma faixa de pH ótimo, entre 3 e 5, para se ligarem ao substrato e terem a máxima eficácia, bem como o tempo de

permanência em contato do substrato com o sítio de ligação da enzima, que em situações de estresse é reduzido devido a alta taxa de passagem.

A interação entre dieta (CN e CP) e 400 ppm de protease para a variável CDAPB apresentaram piores resultados. Estes resultados divergem dos encontrados por Freitas et al. (2011), que obtiveram resultados positivos para digestibilidade da proteína com a inclusão de até 800 ppm de protease na dieta de frangos de corte. No entanto, Mahagna et al. (1995) afirmaram que a suplementação de protease, em níveis elevados, reduz a digestibilidade de nutrientes, além de reduzir o peso de intestino delgado e inibir a secreção de proteases endógenas, principalmente a quimotripsina. Este fato é atribuído pelo autor ao intenso melhoramento genético feito durante a seleção de frangos de corte, principalmente aos efeitos relacionados ao trato gastrointestinal, que não se desenvolvem na mesma velocidade que os demais órgãos, principalmente na fase inicial.

Na interação tripla entre temperatura, dieta e nível de protease sobre a variável PDMN de frangos de corte aos 28 dias, o nível de 0 e 200 ppm de protease proporcionou melhores valores em ambientes termoneutro e quente, e o nível de 400 ppm, o pior resultado de PDMN para estes mesmos ambientes. Porém, em ambiente quente com vitamina C, ocorreu o oposto e o nível de 400 ppm de protease apresentou melhor valor de PDMN tanto frangos que receberam dieta CP quanto para dieta CN. Dornelas (2017) encontrou resultados parecidos, onde frangos de corte recebendo dieta CP com níveis menores de protease apresentaram melhores resultados que os frangos que receberam níveis mais altos e dieta CN para PDMN.

O resultado da metabolizabilidade (coleta total de excretas) dos frangos de corte aos 28 dias de idade se comportou de modo semelhante aos dados de digestibilidade (conteúdo ileal) de frangos de mesma idade. O nível de 400 ppm de protease apresentou piores valores para as variáveis estudadas (CDAPB, CDAE, EMAMN, PDMN e CDAMS) para os frangos de corte sob temperatura termoneutra e quente, com exceção quando estes foram mantidos sob temperatura quente com vitamina C, onde o nível de 400 ppm de protease proporcionou melhores valores, tanto em dieta CN quanto em dieta CP.

Como observado anteriormente por Mahagna et al. (1995) e por Matias et al. (2015), em pesquisa mais recente, maiores níveis de protease podem

inibir a produção de protease endógena, podendo resultar em menores coeficientes de digestibilidade. Ding et al. (2016) encontraram efeito positivo da inclusão de protease em dietas com e sem redução de proteína bruta, além de encontrarem um aumento de atividade de 16% da tripsina no pâncreas com a suplementação de 300 ppm de protease e, correlacionando a atividade desta com o nível de PB da dieta e não com a inclusão de enzima exógena.

A inclusão de vitamina C nas dietas de frangos de corte mantidos em ambiente quente pode ter efeito amenizador do estresse causado pelo calor. Sahin & Kucuk (2001) em estudos realizados com codornas mantidas sobre estresse crônico (34°C) e suplementadas com vitamina C, encontraram melhora nos coeficientes de digestibilidade de matéria seca, proteína bruta e energia. Cowieson et al. (2017), estudando diferentes níveis proteicos, suplementação da dieta com protease exógena e ácido ascórbico em frangos de corte, encontraram efeito positivo da adição de protease tanto em dieta CP quanto em dieta CN, e uma tendência da ação da vitamina C em favorecer os coeficientes de digestibilidade de N ileal e de aminoácidos essenciais e não essenciais. Porém o efeito não significativo da vitamina C na melhora da utilização de nutrientes, pode ser um sinal de que a vitamina C exerceu sua função metabólica, impedindo um resultado negativo, que poderia ser encontrado caso esta não fosse suplementada.

Tal achado, reportado por estes pesquisadores, se deve ao efeito antioxidante da vitamina C, interagindo com os radicais livres oriundos do estresse ocasionado pelo calor, mantendo a integridade das células (COMBS JR., 2012). Aliado a isso, a participação do ácido ascórbico na biossíntese do colágeno permite a correta conformação e estruturação das células, principalmente as intestinais, que tendem a serem mais comprometidas e a aumentar a permeabilidade da mucosa em situações estressoras, deixando o tecido intestinal susceptível a colonização de microrganismos nocivos a saúde, afetando negativamente o desempenho e utilização de nutrientes.

8. CONCLUSÕES

O estresse pelo calor diminui o peso corporal, ganho de peso e consumo de ração aos 28 dias de idade e a adição de vitamina C não

compensa o efeito deletério do calor. A inclusão de protease melhora a conversão alimentar de frangos aos 28 dias de idade.

A redução de 6% de proteína e aminoácidos, com inclusão de 200 ppm de protease em rações para frangos de corte criados em ambiente quente, proporciona melhores resultados para os coeficientes de digestibilidade de nutrientes. Já os frangos mantidos em ambiente quente com a suplementação de vitamina C apresentaram melhores resultados para os coeficientes de digestibilidade de nutrientes quando receberam o nível de 400 ppm de protease.

Os dados de digestibilidade foram, em suma, iguais independente da metodologia de coleta total de excreta ou coleta de conteúdo ileal, sugerindo então, a adoção da metodologia de coleta total de excreta, uma vez que o frango de corte não precisa ser abatido.

Portanto, com base neste trabalho, é recomendado o uso de dietas com redução do nível de proteína bruta e uso de 200 ppm de protease exógena para frangos de corte criados em ambiente quente e, para frangos criados em ambiente quente com suplementação de vitamina C, recomenda-se o uso de 400 ppm de protease exógena.

9. REFERÊNCIAS

Abu-Dieyeh, Z. H. M. 2006. Effect of high temperature per se on growth performance of broilers. *International Journal of Poultry Science*. 5: 19-21.

Aimee, L. W, and E. Villamor. 2007. Effects of antioxidant and non-antioxidant vitamin supplementation on immune function. *Nutrition Reviews*. 65: 181-217.

Araujo, J. A, J. H. Vilar da Silva, A. L. L. Amâncio, M. R. Lima, and C. B. Lima. 2007. Uso de aditivos na alimentação de aves. *Acta Veterinária Brasília*. 1: 69-77.

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2016. São Paulo. Disponível em: <<http://abpa->

br.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital
_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf>. Acesso em:
02 fev. 2017.

Barletta, A. 2010. Introduction: Current Market and expected developments. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. Enzymes in farm animal nutrition. 2ed. London: Cab Internacional. 1: 1 – 11.

Bedford, M. R, and G. G. Partridge. 2010. Enzymes in farm animal nutrition. 2ed. London: Cab International. 329p.

Borges, S. A., A. Maiorka, and A. V. F. Silva. 2003. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. *Ciência Rural*. 33: 975 – 981.

Combs Jr. G. F. 2012. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. 4ed. New York: Academic Press. 589p.

Coweison, A. J, F. Zaefarian, I. Knap, and V. Ravindran. 2017. Interactive effects of dietary protein concentration, a mono-component exogenous protease and ascorbic acid on broiler performance, nutritional status and gut health. *Animal Production Science*. 57: 1058 – 1068.

Ding, X. M, D. D. Li, Z. R. Li, J. P. Wang, Q. F. Zeng, S. P. Bai, W. Su, and K. Y. Zhang. 2016. Effect of dietary crude protein levels and exogenous protease on performance, nutrient, digestibility, trypsin activity and intestinal morphology in broilers. *Livestock Science*. 198: 26 – 31.

Dornelas, L. C. 2017. Efeito da temperatura ambiente e suplementação da dieta com protease no desempenho e utilização de nutrientes em frangos de corte. Dissertação (Mestrado em nutrição de animais não ruminantes) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP. 50p.

Freitas, D. M, L. Vieira, R. Angel, A. Favero, and A. Maiorka. 2011. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component protease. *The Journal of Applied Poultry Research*. 20: 322-334.

Furlan, R. L. 2006. Influência da temperatura na produção de frangos de corte. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 7. Chapecó. Anais...Chapecó/SC: AVISUL, 2006. p. 104 – 135.

Harms, R. H, and G. B. Russel, 1998. Adding methionine and lysine to broiler diets to lower feed costs. *Journal of Applied Poultry Research*. 7: 202 – 218.

Mahagna, M, I. Nir, M. Larbier, and Z. Nitsan. 1995. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. *Reproduction Nutrition Development*. 35: 212.

Mahmoud, K. Z, F. W. Edens, E. J. Eisen, and G. B. Havenstein. 2004. Ascorbic acid decreases heat shock protein 70 and plasma corticosterone response in broilers (*Gallus gallus domesticus*) subjected to cyclic heat stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 137: 35-42.

Matterson, L. D., L. M. Potter, N. W. Stutz, and E. P. Singen. 1965. The metabolizable energy of feeds ingredients for chickens. *Agricultural Experimental Station Research Report*. 7: 3 – 11.

Matias, C. F, J. S. R. Rocha, M. A. Pompeu, R. C. Baião, N. C. Baicão, L. J. C. Lara, W. L. S. Climaco, L. F. P. Pereira, E. O. Caldas, M. P. F. Teixeira, and P. C. Cardeal. 2015. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 67: 492 – 498.

McNabb, F. M. A, and D. B. King. 1993. Thyroid hormones effect on growth development and metabolism in Schreibman (Ed.) The endocrinology o growth development and metabolism in vertebrates. Zoological Science. 10: 873 – 885.

Miltenburg, G. 1999. Tendência futura del uso de aditivos en nutrición aviar. Revista Avicultura Profesional. 17: 33 - 35.

Oba, A., P. C. F. Lopes, M. M. Boiago, A. M. S. Silva, H. J. Montassier, and P. A. Souza. 2012. Características produtivas e imunológicas de frangos de corte submetidas a dietas suplementadas com cromo, criados sob diferentes condições de ambiente. Revista Brasileira de Zootecnia. 41: 1186 – 1192.

Oliveira Neto, A. R, R. F. M. Oliveira, J. L. Donzele, R. A. F. Rostagno, H. C. Maximiano, and H. C. Gasparino. 2000. Efeito da temperatura ambiente sobre o desempenho e características de carcaças de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. Revista Brasileira de Zootecnia. 29: 183-190.

Oliveira, P. W, R. F. M. Oliveira, J. L. Donzele, P. C. Gomes, M. S. Martins, and A. P. Assis. 2010. Redução no nível de proteína bruta em rações para frangos de corte em ambiente de estresse pelo calor. Revista Brasileira de Zootecnia. 39: 1092 – 1098.

Oliveira, R. G. M, J. L. Donzele, M. L. T. Abreu, R. A. Ferreira, R. G. M. V. Vaz, and P. S. Cella. 2006. Efeitos das temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. Revista Brasileira de Zootecnia. 35: 797 – 803.

Oxenboll, K.M, K. Pontoppidan, and F. Fru-Nji. 2011. Use of a protease in poultry feed offers promising environmental benefits. International Journal of Poultry Science. 10: 842-848.

Pucci, L. E. A., P. B. Rodrigues, A. G. Bertechini, A. G. A. J. Nascimento, R. R. Lima, and L. R. Silva. 2010. Forma física, suplementação enzimática e nível

nutricional de rações para frangos de corte na fase inicial: desempenho e digestibilidade de nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39: 1272 – 1279.

Rabello, C. V. M. 2008. Produção de aves em clima quente. *Anais...XVIII Congresso Brasileiro de Zootecnia – ZOOTEC*, João Paraíba/PB.

Rosales, A. G, P. Villegas, P. D. Lukert, M. A. Fletcher, M. A. Mohamed, and J. Brown. 1989. Isolation identification and pathogenicity of two strains of infectious bursal virus. *Avian Disease*. 33: 35-41.

Rostagno, H. S, L. F. T. Albino, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.252.

Rutz, F, M. A. Anciutti, and J. C. Mier. 2014. Digestão, Absorção e Metabolismo das Vitaminas. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B.; K.; HAUSCHILD, L. (Ed.). *Nutrição de não ruminantes*, 1 ed. Funep/Jaboticabal, 2014, cap. 10, p. 143-166.

Sahin, K, O. Kucuk, N. Sahin, and M. Sari, 2002. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34°C). *International Journal of Vitamin Nutrition Research*. 72: 91-100.

SAHIN, K, and O. Kucuk. 2001. Effects of vitamin C and vitamin E on performance, digestion of nutrients and carcass characteristic of Japanese quails reared under chronic heat stress (34°C). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 85: 335 – 341.

Sahin, K, N. Sahin, and O. Kuçul. 2003. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high environmental temperature (32°C). *Nutrition Research*. 23: 225-238.

Silva, D. J, and A. C. Queiroz. 2002. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV. 235p.

Silva, Y. L, P. B. Rodrigues, R. T. F. Freitas, A. G. Bertechini, E. T. Fialho, E. J. Fassani, and C. R. Pereira. 2006. Redução de proteína e fosforo em rações com fitase para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e teores de minerais na cama. Revista Brasileira de Zootecnia. 35: 840-848.

Souza, M. G, R. F. M. Oliveira, J. L. Donzele, A. P. A. Maia, E. M. Balbino, and W. P. Oliveira. 2011. Utilização de vitaminas C e E em rações de frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura. Revista Brasileira de Zootecnia. v. 40: 2192 – 2198.

Teixeira, M. Anátomo-clínica e biologia em frangos de corte experimentalmente infectados com *Eimeria acervulinae* suplementados com betaína. 2007. 60f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Thom, E. C. 1958. Cooling degree: day air conditioning, heating, and ventilating. Transaction of the American Society of Heating. 55: 65 – 72.

Yunianto, V. D, K. Hayashi, S. Kaneda, A. Ohtsuka, and Y. Timita. 1997. Effect of environmental temperature on muscle protein turnover and heat production in tube-fed broiler chickens. British Journal of Nutrition. 77: 897-909.

Wang, J. J, J. D. Gatlich, and J. C. H. Shin. 2006. Beneficial effects of Versazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broiler chickens. The Journal of Applied Poultry Research: 544-550.

Wang, Y, P. Saelao, K. Chanthavixay, R. Gallardo, D. Bunn, S. J. Lamont, J. M. Dekkers, T. Kelly, and H. Zhou. 2018. Physiological responses to heat stress in two genetically distinct chicken inbred lines. *Poultry Science*. 97: 770 – 780.

Waperchowski, M. B, A. M. Kessler, S. Pophal, A. Ebert, and A. M. Ribeiro. 2006. Digestibilidade ileal verdadeira da proteína em frangos de corte sob deitas com diferentes níveis de proteína bruta. *Acta Scientiarum Animal Sciences*. 28: 281 – 287.

Whitehead, C. C, and T. Keller. 2003. *World's Poultry Science Journal*. 59: 161 – 184.

Windey, K, V. Preter, and K. Verbeke. 2012. Relevance of protein fermentation to gut health. *Molecular Nutrition & Food Research*. 56: 184 – 196.

CAPÍTULO III

1. IMPLICAÇÕES

No estudo apresentado foi exposta a hipótese de melhorias na produção de frangos de cortes por meio de estratégias nutricionais, buscando sanar e ou compensar as variáveis que afetam negativamente a produção de aves e que são encontrados no campo.

O efeito ambiental das altas temperaturas afeta, de fato, o desempenho e aproveitamento de nutrientes pelos frangos de corte. Estratégias como o uso de protease exógena com a finalidade de melhorar a digestibilidade se mostrou eficiente, porém, há a necessidade de mais pesquisas sobre o assunto, uma vez que a efetividade da enzima varia muito em relação à quantidade de substrato (redução ou não do teor proteico da dieta); tipo; digestibilidade da proteína e nível de inclusão da enzima à ração.

Os níveis usados de protease nesse trabalho, tomaram como base o valor recomendado pelo fabricante, um valor acima e um outro valor abaixo. Sabe-se que o uso em grandes quantidades de protease podem inibir a síntese de protease ou até mesmo, afetar a estrutura intestinal. Portanto, uma avaliação histológica poderia complementar os dados de digestibilidade e auxiliar, com mais propriedade, a justificar os efeitos dos níveis de protease usados. Além da avaliação histológica, seria pertinente uma análise econômica explanando a economia em reais com a redução da proteína bruta e os dispendios com a suplementação de protease e vitamina C.

A inclusão de vitamina C à dieta, juntamente com protease, também se mostrou efetiva, especialmente, quando a inclusão da enzima era maior, principalmente em ambiente quente. Contudo, mostra-se uma fatia extensa que pode ser estudada amplamente, além de direta aplicação no campo, uma vez que é a realidade de quase todos os aviários brasileiros, e que foi abordada de forma não muito profunda nessa pesquisa.

Quanto a metodologia usada, tanto a coleta total de excreta quanto a coleta de conteúdo ileal apresentaram resultados similares. Sendo assim, o uso da metodologia de coleta total de excretas se mostra mais eficiente, uma vez que não há a necessidade de sacrificar o animal.

Os dados obtidos nesse trabalho possuem aplicação no campo, visto que ficou claro a possibilidade de reduzir a proteína bruta da dieta, refletindo

em menor contaminação ambiental devido a menor excreção de nitrogênio, além de reduzir os custos da dieta e promover maior bem estar as aves.