

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/08/2023.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE PARA GALINHAS  
POEDEIRAS**

**Thaila Fernanda de Moura  
Zootecnista**

**2022**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE PARA GALINHAS  
POEDEIRAS**

**Discente: Thaila Fernanda de Moura**  
**Orientadora: Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura**  
**Coorientador: Dr. Matheus de Paula Reis**

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

**2022**

M929n Moura, Thaila Fernanda  
Níveis De Suplementação De Fitase Para Galinhas Poedeiras /  
Thaila Fernanda Moura. -- Jaboticabal, 2022  
65 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

Coorientadora: Matheus de Paula Reis

1. Nutrição Animal. 2. Alimentação e rações. 3. Ovos Produção. 4.  
Aves domésticas. 5. Alimentos aditivos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE PARA GALINHAS POEDEIRAS

AUTORA: THAILA FERNANDA DE MOURA

ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA

COORIENTADOR: MATHEUS DE PAULA REIS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:

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

Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD (Participação Virtual)  
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisadora Dra. DANIELLA CAROLINA ZANARDO DONATO (Participação Virtual)  
Dupont Brasil / Paulínia/SP

Jaboticabal, 15 de agosto de 2022

## **DADOS CURRICULARES**

THAILA FERNANDA DE MOURA, filha de Antonio Airton de Moura Junior e Noemia Maria da Silva Moura, nascida no dia 11 de junho de 1989 em São Paulo, São Paulo. Ingressou no curso de Zootecnia na Universidade de São Paulo – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Campus de Pirassununga, em março de 2009. Em julho de 2014 obteve o título de Zootecnista. Trabalhou 3 anos em uma empresa de nutrição animal e em março de 2020 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura, submetendo-se à defesa da dissertação em agosto de 2022.

Dedico

Ao meu pai Junior, pela força e compreensão desde o início dessa caminhada e por sempre acreditar em mim. Aos meus irmãos Lucas, Daniel e Leticia pelo amor e carinho e à minha Madrinha Lena, por ser a pessoa que sempre me ensinou a ver alegria nas coisas mais difíceis. A minha amiga Lis (Faísca) pela paciência e por estar sempre ao meu lado me apoiando.

## **AGRADECIMENTOS**

Um trabalho de mestrado é uma curta viagem, mas é um projeto para a vida. Essa trajetória inclui inúmeros desafios, tristezas, incertezas e algumas alegrias. Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de algumas pessoas, a quem agradeço do fundo do coração.

À minha amiga de sempre, Lis Chacon Xavier (Faísca), agradeço todo o apoio e motivação incondicional que me ajudou a enxergar esse período como uma experiência com muito aprendizado. Sou muito sortuda por tê-la como amiga.

Ao Vinicius Bruzeguez, pelos conselhos, total disponibilidade e encorajamento naqueles momentos cruciais desta difícil jornada, bem como pelas críticas construtivas contribuindo para o aperfeiçoamento do trabalho.

A meu Pai Junior, por estar ao meu lado todos estes anos, mesmo em seus momentos mais difíceis. Ao Lucas, meu eterno neném, que tentou me fazer rir, para não me deixar chorar. A minha madrinha, tia Lena, por todo apoio que me permitiu a realização de um sonho.

Ao meu coorientador, Doutor Matheus de Paula Reis por toda a ajuda e compreensão. E nessa trajetória construímos uma amizade que espero levar para sempre. Sua contribuição foi essencial para a concretização dessa pesquisa. Muito obrigada!

A minha orientadora, Professora Doutora Nilva Kazue Sakomura, que agradeço a orientação pautada por um elevado e rigoroso nível científico, os quais contribuíram para enriquecer, com grande dedicação, passo por passo, todas as etapas subjacentes ao trabalho realizado.

Aos amigos que fiz durante essa caminhada: Palloma, Guilherme, Raully, Freddy, Thais e Marcio que sempre estiveram do meu lado e que espero levar para a vida toda.

Aos colegas do aviário que participaram incondicionalmente na realização desse experimento: Luis, Bruno, Rosiane, Rony, Amanda, Gabriela, Leticia, Robson e seus filhos, estagiários e ao pessoal de iniciação científica. Enfim, muito obrigada pela inestimável ajuda.

A Danisco Animal Nutrition & Health pelo apoio financeiro ao estudo, ao Bello e Daniella pelo apoio técnico durante a condução do experimento.

Aos membros da minha banca de qualificação e defesa, Professor Luciano e Dani muito obrigada pela contribuição, com certeza ajudaram a enriquecer minha tese.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

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

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, pela estrutura e acolhimento, sendo minha segunda casa nesses dois anos.

A todos aqueles que contribuíram, de todas as formas possíveis, para a obtenção deste título.

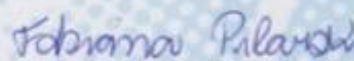
## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Efeito da suplementação da fitase sobre a Digestibilidade dos nutrientes e o desempenho de poedeiras", protocolo nº 5396/20, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 11 de fevereiro de 2021.

Vigência do Projeto	30/12/2020 a 10/08/2021
Espécie / Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> / Hy-line W80
Nº de animais	560
Peso / Idade	1,3 kg / 17 semanas
Sexo	Fêmeas
Origem	Granja Mayra, Pedralva – Minas Gerais

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2021.



Profa. Dra. Fabiana Pilarski  
Coordenadora – CEUA

## NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE PARA GALINHAS POEDEIRAS

### RESUMO

Uma estratégia nutricional para suprir as necessidades de fósforo (P) em monogástricos é alcançada pelo fornecimento de fontes inorgânicas como o fosfato bicálcico, porém as fontes de fósforo inorgânicas são finitas. Outra estratégia nutricional trata da liberação do fósforo ligado à molécula de fitato, que, além de ter baixa digestibilidade, leva à formação de complexos com outros nutrientes. Dessa forma, os nutricionistas utilizam a enzima fitase para liberar parte do P limitando a influência negativa do fitato. Atualmente, o uso de doses de fitase acima do recomendado, além de permitir reduzir o uso de fontes minerais de fósforo, hidrolisa de forma mais eficiente o P da molécula de fitato em alimentos vegetais. Devido à preocupação com o esgotamento das fontes minerais de fósforo, a retirada total dessa fonte mineral juntamente com o aumento da dose de fitase acima do seu nível recomendado se tornará uma estratégia nutricional futura. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da fitase sobre a produtividade de ovos, qualidade da casca e composição corporal de poedeiras alimentadas com dietas isentas de fósforo inorgânico e com níveis reduzidos de energia e nutrientes de 23 a 72 semanas de idade. Um total de 560 Hy-Line W80 (4 galinhas/gaiola × 28 réplicas de gaiola por tratamento) foram distribuídos aleatoriamente em cinco tratamentos experimentais. Uma dieta controle positivo (PC) foi formulada para conter os níveis recomendados de energia e nutrientes. Uma dieta basal (controle negativo, NC) foi formulada para conter 0,12% de fósforo disponível (avP) e com níveis reduzidos de energia e nutrientes em comparação com a ração PC. A fitase foi suplementada na dieta NC a 300, 600 e 900 FTU/kg de ração. As respostas avaliadas foram desempenho, qualidade dos ovos, composição corporal e composição da tíbia. Os dados foram analisados em medidas repetidas no tempo, contendo dois fatores (suplementação de fitase e tempo). Contrastes ortogonais e polinomiais foram aplicados para investigar as respostas das galinhas poedeiras com 5% de probabilidade. No geral, o consumo de ração, a taxa de postura e a massa de ovos foram afetados pela redução do avP da dieta ( $P < 0,05$ ), e os níveis crescentes de suplementação de fitase recuperaram essas respostas. As poedeiras que consumiram a ração NC com 900 FTU de fitase produziram mais ovos por ave alojada e ovos comercializáveis. A composição corporal não foi afetada pela redução do avP ( $P > 0,05$ ). Durante as primeiras 12 semanas de experimento, o desempenho das galinhas consumindo a dieta NC foi severamente afetado e a suplementação com fitase foi eficiente em minimizar esses efeitos. Recomenda-se a suplementação de 900 FTU de fitase para melhorar o número de ovos produzidos por ave e o número de ovos comercializáveis para galinhas poedeiras de 23 a 72 semanas de idade.

**Palavras-chave:** doses, digestibilidade, fósforo, mineralização óssea.

## PHYTASE SUPPLEMENTATION LEVELS FOR LAYING HENS

### ABSTRACT

A nutritional strategy to meet the phosphorus requirements in monogastric is achieved by the supply of inorganic phosphorus sources such as dicalcium phosphate, but the global sources of dicalcium phosphate are finite. Another nutritional strategy deal with the releasing of the phosphorous bound to the phytate molecule, which, in addition to having low digestibility, leads to the formation of complexes with other nutrients. In this way, nutritionists use the enzyme phytase to release part of the phytate P, limiting the negative influence of phytate. Nowadays, the use of phytase doses above recommended levels, besides allowing reduce the use of phosphorous mineral sources, hydrolyzes more efficiently the P from the phytate molecule in vegetal feedstuffs. Due to the concern about inorganic phosphorous sources, the total withdrawal of this mineral source together with an increase in phytase dose above their recommended level, will become a future nutritional strategy. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of phytase over egg productivity, eggshell quality, and body composition of laying hens fed with an inorganic phosphorus-free diet reduced in energy and nutrients from 23 to 72 weeks of age. A total of 560 Hy-Line W80 (4 hens/cage × 28 cage replicates per treatment) were randomly assigned to five experimental treatments. A positive control feed (PC) was formulated to contain the recommended levels of energy and nutrients. A basal negative control feed (NC) was formulated to contain 0.12% of available phosphorus (avP) and reduced energy and nutrients in comparison with PC feed. Phytase was supplemented in the NC feed at 300, 600, and 900 FTU/kg of feed. The responses evaluated were performance, egg quality, body composition, and tibia composition. Data were analyzed by a two-factor repeated measure analysis and orthogonal and polynomial contrasts were applied to investigate the responses of laying hens with 5% probability. Overall, the feed intake, rate of lay, and egg mass were affected by the reduction in dietary avP ( $P < 0.05$ ), and the crescent levels of phytase supplementation recovered those responses. Laying hens consuming the NC feed with 900 FTU of phytase produced more eggs per hen-housed and marketable eggs. The body composition was not affected by dietary avP reduction ( $P > 0.05$ ). During the first 12 weeks of trial, the performance of hens in the negative control treatment was severely affected and phytase supplementation was efficient in minimizing those effects. The supplementation of 900 FTU of phytase is recommended to improve the number of eggs produced per hen-housed and the number of marketable eggs produced through 23 to 72 weeks of age.

**Keywords :** Digestibility, phosphorus, calcium, phytase, bone mineralization.

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1.1. Introdução à revisão da literatura

O fósforo (P) é um mineral essencial na produção de galinhas poedeiras devido à sua participação expressiva na formação do ovo, além de estar envolvido em muitas funções no desenvolvimento animal, incluindo metabolismo energético e mineralização óssea (Raina et al., 2012, Nie et. al 2018). Cerca de 80% do P é armazenado no complexo mineral hidroxiapatita  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  (Neuman e Neuman, 1953; Veum et al., 2010), fazendo parte da estrutura da matriz óssea, o que permite ser disponibilizado quando necessário. No metabolismo, esse mineral forma parte do ATP para o fornecimento de energia, manutenção do pH e fluidos corporais, promovendo controle da acidose sanguínea, mantendo estável as concentrações de bicarbonato e, por consequência, na formação da casca do ovo (Pelicia et al., 2009).

Tanto as exigências de P da ave, quanto à valorização de P nos ingredientes são apresentados como P disponível (Pd), desse modo, definir valores de exigência de Pd das aves através do aporte Pd dos ingredientes é prioridade para formular dietas que atendam os parâmetros produtivos sem prejuízos econômicos e ambientais. De acordo com Rostagno et al. (2017) a exigência dietética de Pd é de 368 mg/d por galinha. No entanto, ao longo dos anos, grande parte das pesquisas mostraram reduções nas necessidades de Pd, que não afetam parâmetros de desempenho, podendo variar entre 168 e 225 mg Pd/galinha/dia (Keshavarz e Nakajima, 1993; Meyer e Parsons, 2011; Jing et al., 2018; Fernandez et al., 2019). Paralelamente a isso, cerca de 70% do P nos ingredientes utilizados na alimentação de aves está na forma de P fítico (Boling al., 2000), que é pouco disponível devido à sua baixa digestibilidade, principalmente pela formação de complexos cátion-fitato (Wise e Gilbert, 1981), além dos seus efeitos antinutricionais (Woyengo e Nyachoti, 2013).

A baixa disponibilidade do fósforo fítico (PP), assume importância quando fontes minerais de P precisam ser adicionadas à dieta para atender às exigências de P das aves, porém, as reservas mundiais de fosfato rochoso não são renováveis, o que poderia

levar a uma crise de suprimento de P no futuro (Boling et al., 2000; Ahmadi & Rodehutschord, 2012; Jing et al., 2018). Portanto, estratégias nutricionais como o uso de fitase, para hidrolisar o PP, reduziram a suplementação mineral de P inorgânico, e, conseqüentemente, a preservação das reservas globais de P, além de neutralizar a influência negativa do fitato (Van Der Klis et al., 1997; Maenz, 2001; Péron e Partridge, 2009).

O nível padrão de inclusão de fitase exógena adicionada à maioria das dietas de poedeiras é de 300 FTU/kg (Dersjant-Li et al. 2015); paralelamente a isso, doses superiores (5 a 20 vezes o nível padrão) de fitase em dietas de frango de corte sob condições experimentais tem demonstrado consistentemente aumentar a liberação de fosfatos e nutrientes (Walk e Olukosi, 2019). No entanto, em poedeiras o uso de doses acima do comumente utilizado sob condições experimentais mostraram resultados inconsistentes (Skřivan et. al., 2018; Javadi et al., 2021). Visto que há uma preocupação ambiental pela excreção de P nas excretas somado á constante redução das reservas de fosfatos, retirar o P de fontes minerais e aproveitar a maior quantidade de PP nos ingredientes é uma necessidade atual, portanto o objetivo do presente estudo foi avaliar a suplementação de doses crescentes de fitase em dietas livre de fontes de P inorgânico em galinhas de 23 a 72 semanas no desempenho, qualidade de ovo, digestibilidade de nutrientes e composição corporal.

## **CONCLUSION**

The phytase used in this study was efficient to recover the performance responses of laying hens consuming an inorganic phosphorus-free diet with low dietary available phosphorus. The group of hens consuming a feed supplemented with 900 FTU of phytase produced the best results for hen-housed egg production and hen-day marketable egg production inside each period evaluated. The laying hens consuming an inorganic phosphorus-free diet without phytase supplementation partially overcome the reduction in dietary available phosphorus, recovering feed intake and performance traits; nevertheless, such recovering takes time (more than 90 days in this study) which may affect the revenue from an egg production farm.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 88887.489168/2020-00.

## **DECLARATION OF INTEREST**

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.

## **SOFTWARE AND DATA REPOSITORY RESOURCES**

None of the data was deposited in an official repository. The data can be obtained from the authors upon request.

## REFERENCES

- Abelson, P. H. (1999). A potential phosphate crisis. *Science*, 283(5410), 2015-2015. <https://doi.org/10.1126/science.283.5410.2015>
- Adeola, O. 2010. Phosphorus equivalency value of an *Escherichia coli* phytase in the diets of White Pekin ducks. *Poultry science*, 89(6), 1199-1206. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00682>
- Adeola, O., & Cowieson, A. J. 2011. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of animal science*, 89(10), 3189-3218. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>
- Aderibigbe, A. S., Ajuwon, K. M., & Adeola, O. 2022. Dietary phosphorus level regulates appetite through modulation of gut and hypothalamic expression of anorexigenic genes in broiler chickens. *Poultry Science*, 101(2), 101591. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101591>
- Alves, WJ, Malheiros, EB, Sakomura, NK, Da Silva, EP, Gabriel, DSV, Matheus, DPR, Camila, AG and Rafael, MS 2019. *In vivo* description of body growth and Chemical componentes of egg-laying pullets. *Livestock Science* 220, 221 – 229 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.12.023>
- Angel, R., Tamim, N. M., Applegate, T. J., Dhandu, A. S., & Ellestad, L. E. 2002. Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *Journal of Applied Poultry Research*, 11(4), 471-480. <https://doi.org/10.1093/japr/11.4.471>
- Bedford, M., and X. Rousseau. 2017. Recent findings regarding calcium and phytase in poultry nutrition. *Anim. Prod. Sci.* 57:2311-2316. <https://doi.org/10.3382/japr/pfv073>
- Beeson, L. A., Walk, C. L., Bedford, M. R., & Olukosi, O. A. 2017. Hydrolysis of phytate to its lower esters can influence the growth performance and nutrient utilization of broilers with

- regular or super doses of phytase. *Poultry Science*, 96(7), 2243-2253.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pex012>
- Boling, S.D., Douglas, M.W. Johnson, M.L., Wang, X., Parsons, C.M., Koelkebeck, K.W Zimmerman, R.A. 2000. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens *Poult. Sci.*, 79 pp. 224-230  
<https://doi.org/10.1093/ps/79.2.224>
- Cowieson, A. J., Wilcock, P., & Bedford, M. R. 2011. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*, 67(2), 225-236.  
<https://doi.org/10.1017/S0043933911000250>
- Dersjant-Li, Y., Awati, A., Schulze, H., & Partridge, G. 2015. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 878-896..  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.6998>
- Engelen A. J. , Van der Heeft F. C., Randsdorp P. H. , Smit E. L. 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. *J AOAC* ;77(3):760-4. PMID: 8012231.  
<https://doi.org/10.1093/jaoac/77.3.760>
- Garcia, E. A., Mendes, A. A., Pizzolante, C. C., Gonçalves, H. C., Oliveira, R. P., & Silva, M. A. 2002. Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 4(1), 00-00.  
<https://doi.org/10.1590/S1516-635X2002000100007>
- Gomori, G. 1942, Modification of the colorimetric phosphorus determination for use with photometric colorimeter. *J. Lab. Clin. Med.*, 27 p. 955-966.

- Gordon, R. W., Roland, D. A. 1998. Influence of supplemental phytase on calcium and phosphorus utilization in laying hens. *Poult. Sci.* 77:290-294. <https://doi.org/10.1093/ps/77.2.290>
- Hamdi, M., S. Lopez-Verge, E. G. Manzanilla, A. C. Barroeta, and J. F. Perez. 2015. Effect of different levels of calcium and phosphorus and their interaction on the performance of young broilers. *Poult. Sci.* 94:2144-2151. <https://doi.org/10.3382/ps/pev177>
- Hughes, A. L., Dahiya, J. P., Wyatt, C. L., & Classen, H. L. 2009. Effect of Quantum phytase on nutrient digestibility and bone ash in White Leghorn laying hens diet corn-soybean meal-based diets. *Poultry Science*, 88(6), 1191-1198.
- Jalal, M. A., & Scheideler, S. E. 2001. Effect of supplementation of two different sources of phytase on egg production parameters in laying hens and nutrient digestibility. *Poultry Science*, 80(10), 1463-1471. <https://doi.org/10.1093/ps/80.10.1463>
- Javadi, M., Pascual, J. J., Cambra-López, M., Macías-Vidal, J., Donadeu, A., Dupuy, J., ... & Cerisuelo, A. 2021. Effect of Dietary Mineral Content and Phytase Dose on Nutrient Utilization, Performance, Egg Traits and Bone Mineralization in Laying Hens from 22 to 31 Weeks of Age. *Animals*, 11(6), 1495. <https://doi.org/10.3390/ani11061495>
- Kelly, T. L., Berger, N., & Richardson, T. L. 1998. DXA body composition: theory and practice. *Applied radiation and isotopes*, 49(5-6), 511-513. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(97\)00226-1](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(97)00226-1)
- Keshavarz, K. 2000. Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. *Poultry science*, 79(5), 748-763. <https://doi.org/10.1093/ps/79.5.748>
- Kisinyo, P., & Opala, P. 2020. Depletion of phosphate rock reserves and world food crisis: Reality or hoax?. <https://doi.org/10.5897/AJAR2020.14892>

- Kornegay, E.T., Quian, H. 1996. Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs diet on a maize-soybean-meal diet. *Br. J. Nutr.*, 76(4):563-578. <https://doi.org/10.1079/BJN19960063>
- Krinsky, N. I. 1993. Actions of carotenoids in biological systems. *Annual review of nutrition*, 13(1), 561-587. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.13.070193.003021>
- Lucky, N. J., Howlider, M. A. R., Alam, M. A., & Ahmed, M. F. (2014). Effect of dietary exogenous phytase on laying performance of chicken at older ages. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 43(1), 52-55. <https://doi.org/10.3329/bjas.v43i1.19385>
- Maenz, D. D., & Classen, H. L. 1998. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. *Poultry Science*, 77(4), 557-563. <https://doi.org/10.1093/ps/77.4.557>
- Maga, J. A. 1982, Phytate: Its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(1), 1-9. <https://doi.org/10.1021/jf00109a001>
- Meléndez-Martínez, A. J., Mandić, A. I., Bantis, F., Böhm, V., Borge, G. I. A., Brnčić, M., ... & O'Brien, N. (2022). A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: Status quo, applications, patents, and research needs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(8), 1999-2049..
- Mullaney, E. J., Daly, C. B., & Ullah, A. H. (2000). *Advances in phytase research*.
- National Research Council, 1994. National Research Council. *Nutrient Requirements of Poultry (9th Rev.)*, National Academy Press, Washington, DC.

- Nelson, T. S., Shieh, T. R., Wodzinski, R. J., & Ware, J. H. 1971. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. *The Journal of nutrition*, 101(10), 1289-1293. <https://doi.org/10.1093/jn/101.10.1289>
- Park, K. W., Rhee, A. R., Um, J. S., & Paik, I. K. 2009. Effect of dietary available phosphorus and organic acids on the performance and egg quality of laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 18(3), 598-604. <https://doi.org/10.3382/japr.2009-00043>
- Punna, S., & Roland Sr, D. A. 1999. Influence of supplemental microbial phytase on first cycle laying hens diet phosphorus-deficient diets from day one of age. *Poultry science*, 78(10), 1407-1411. <https://doi.org/10.1093/ps/78.10.1407>
- Reddy, N. R., S. K. Sathe, and D. K. Salunkhe. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 28:1-92. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60110-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60110-X)
- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Hannas, M.I. Et Al. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. 488p. Viçosa: UFV.
- Rousseau, X., A. S. Valable, M. P. Letourneau-Montminy, N. M<sup>e</sup>me, E. Godet, M. Magnin, Y. Nys, M. J. Duclos, and A. Narcy. 2016. Adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions. *Poult. Sci.* 95:2849–2860. <https://doi.org/10.3382/ps/pew172>
- Selle, P. H., and V. Ravindran. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135:1-41. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010>
- Skřivan, M., Englmaierová, M., & Skřivanová, V. 2018. Negative effect of phytase superdosing in laying hens. *Czech Journal of Animal Science*, 63(5), 182-187. <https://doi.org/10.17221/113/2017-CJAS>
- Sommerfeld, V., Schollenberger, M., Kühn, I., & Rodehutscord, M. 2018. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the

digestive tract of broiler chickens. *Poultry Science*, 97(4), 1177-1188.

<https://doi.org/10.3382/ps/pex404>

Stadelman, W.J. and O.J. Cotterill, 1995. *Egg Science and Technology*. 4th ed. Food Products Press . An Imprint of the Haworth Press. INC. New York. London, UK.

Tsuchiya, K., & Akihisa, T. 2021. The importance of phosphate control in chronic kidney disease.

*Nutrients*, 13(5), 1670. <https://doi.org/10.3390/nu13051670>

White, E., Bold, R., Wealleans, A.L., Dersjant-Li, Y. and Kwakernaak, S. 2016. Effect of a *Buttiauxella* phytase on nutrient digestibility and performance in laying hens diet a diet without supplemental inorganic phosphorus. *Proceeding of WPSA*, Chester, UK

<https://doi.org/10.3382/ps/pez220>

Wodzinski, R. J., & Ullah, A. H. J. 1996. Phytase. In *Advances in applied microbiology* (Vol. 42, pp. 263-302). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70375-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70375-7)

Wu, G., Liu, Z., Bryant, M. M., & Roland Sr, D. A. 2006. Comparison of Natuphos and Phyzyme as phytase sources for commercial layers diet corn-soy diet. *Poultry science*, 85(1), 64-69.

<https://doi.org/10.1093/ps/85.1.64>