

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA

EDIONEI MAICO FRIES

Fitase na digestibilidade de alimentos proteicos vegetais para o jundiá *Rhamdia*
voulezi

Toledo
2014

EDIONEI MAICO FRIES

Fitase na digestibilidade de alimentos protéicos vegetais para o jundiá *Rhamdia
voulezi*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Altevir Signor
Co-orientador: Wilson Rogério Boscolo

Toledo

2014

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.
Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

F912f Fries, Edionei Maico
Fitase na digestibilidade de alimentos protéicos vegetais
para o jundiá (*Rhamdia voulezi*) / Edionei Maico Fries. --
Toledo, PR : [s. n.], 2014
x, 66 f.: il. (algumas color.), figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Altevir Signor
Coorientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do
Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e Ciências
Exatas.

1. Aqüicultura 2. Jundiá (Peixe) – Nutrição 3. Nutrição
animal 4. Jundiá (*Rhamdia voulezi*) – Suplementação com
fitase 5. Jundiá (*Rhamdia voulezi*) - Alimentação com proteína
vegetal 6. Digestibilidade e nutrição I. Signor, Altevir, orient.
II. Boscolo, Wilson Rogério, oriente. III. T.

CDD 20. ed. 639.3752

FOLHA DE APROVAÇÃO

EDIONEI MAICO FRIES

Fitase na digestibilidade de alimentos protéicos vegetais para o jundiá *Rhamdia
voulezi*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Altevir Signor
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr. José Dilson Silva de Oliveira
Instituto Federal do Paraná

Prof. Dr. Leandro Portz
Universidade Federal do Paraná

Aprovada em: 17 de dezembro de 2014.
Local de defesa: Sala de aula 15/*Campus* de Toledo.

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

Paulo Baleki

Fitase na digestibilidade de alimentos proteicos vegetais para o jundiá *Rhamdia voulezi*

RESUMO

Este estudo determinou o efeito da suplementação da fitase (1.500 UI de fitase kg^{-1} de dieta) sobre a digestibilidade aparente, disponibilidade de minerais, deposição mineral nos ossos, histologia do intestino e análise centesimal de filés para o jundiá (*Rhamdia voulezi*). Foram utilizados 360 jundiás com peso médio de $236,98 \pm 54,02$ g e comprimento médio de $27,39 \pm 2,02$ cm distribuídos em 24 tanques cônicos afunilados de 500L cada, para a coleta de excretas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e três repetições. Foram avaliados três alimentos proteicos (farelos de soja, canola e girassol) e os tratamentos consistiram na formulação de duas dietas referências com cerca de 30% de proteína bruta e 4240 kcal de energia bruta kg^{-1} e duas dietas testes para cada alimento testado. Para tanto, após a mistura dos ingredientes, foram adicionados 1.500 UI de fitase kg^{-1} em uma repetição de cada dieta, obtendo-se quatro dietas sem a suplementação da enzima fitase e quatro dietas com a suplementação da enzima. As dietas experimentais foram compostas de 30% do ingrediente teste e de 70% da dieta referência e o óxido de cromo (Cr_2O_3) foi utilizado como indicador inerte na proporção de 0,2%. Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de variância e, posteriormente, foi realizado o teste de comparação múltipla de médias de *Tukey* ($p < 0,05$). A análise fatorial para os coeficientes de digestibilidade aparente apresentaram efeito ($p < 0,05$) para a interação entre os alimentos e a suplementação ou não da fitase, com o farelo de soja apresentando os maiores valores de digestibilidade aparente para a matéria seca, proteína e extrato etéreo. A disponibilidade dos nutrientes dos alimentos apresentaram efeito ($p < 0,05$) para o alimento e a suplementação da enzima fitase, com os melhores resultados observados para os peixes alimentados com a dieta suplementada com a enzima fitase. A suplementação da enzima melhora a disponibilidade do cálcio e do magnésio, sendo os melhores valores de disponibilidade encontrados para o farelo de soja. A altura das vilosidades e a espessura da camada muscular intestinal, bem como a composição centesimal variaram ($p < 0,05$) conforme os tratamentos com os alimentos. A maior altura das vilosidades intestinais foi observada na dieta referência com fitase e maior espessura da camada muscular para a dieta com o farelo de canola sem fitase. Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) na utilização ou não de fitase sobre a retenção de fósforo. Por

outro lado, todos os alimentos com ou sem a suplementação da enzima fitase apresentaram diferenças ($p < 0,05$) sobre a deposição de magnésio nos ossos. Observou-se que os alimentos proteicos de origem vegetal avaliados respondem à ação da fitase de maneira distinta. Entre os alimentos avaliados, o farelo de soja foi o que apresentou os melhores coeficientes de digestibilidade e a suplementação da fitase melhorou a disponibilidade dos minerais cálcio e magnésio para os peixes analisados.

Palavras-chave: Aquicultura. Espécies Nativas. Fitase. Nutrição.

*Phytase on digestibility of plant protein feed for catfish *Rhamdia voulezi**

ABSTRACT

This study had determined the effect of the supplementation of phytase ($1,500 \text{ IU kg}^{-1}$ diet phytase) on apparent digestibility, minerals availability, mineral deposition in the bones, intestinal histology and proximate analysis for catfish fillets (*Rhamdia voulezi*). Were utilized 360 catfishes with average weight of $236.98 \pm 54.02 \text{ g}$ and average length of $27.39 \pm 2.02 \text{ cm}$ distributed in 24 tapered conical tanks of 500L each for the excreta collection were used. The experimental design was completely randomized with eight treatments and three replications. Were measured three protein foods (soybean meal, canola and sunflower) and the treatments consisted in the formulation of two diets references with about 30% crude protein and 4,240 kcal of gross energy kg^{-1} and two test diets for each tested feed. For this, after the mixing of the ingredients were added $1,500 \text{ IU}$ of phytase kg^{-1} in a repetition of each diet, obtaining four diets without phytase supplementation and four diets with enzyme supplementation. The experimental diets were composed of 30% of the test ingredient and 70% of the reference diet and chromium oxide (Cr_2O_3) was used as an inert tracer in a proportion of 0.2%. Data were tabulated and submitted to analysis of variance and later was performed the multiple comparison test of Tukey ($p < 0.05$). Factor analysis for the coefficients of apparent digestibility showed effect ($p < 0.05$) for the interaction between ingredients and supplementation or not of phytase, with soybean meal showing the highest apparent digestibility values for dry matter, protein and ether extract. The availability of nutrients from food had effect ($p < 0.05$) for food and supplementation of phytase enzyme, with the best results observed for fish fed with the diet supplemented with the enzyme phytase. The enzyme supplementation improves the availability of calcium and magnesium being the best values for the availability founded on the soybean meal. The villus height and thickness of the intestinal muscle layer and the chemical composition had varied ($p < 0.05$) in accordance with treatments and with ingredients. The major intestinal villus height was observed in the reference diet with enzyme and lager thickness of the muscular layer for diet without phytase canola meal. There were not observed differences ($p > 0.05$) with or without phytase on phosphorus retention. Moreover, all ingredients with or without supplementation of phytase showed differences ($p < 0.05$) on the magnesium deposition in bones. Was observed that the

protein ingredients of vegetable origin evaluated have responded on the different way the effect of phytase. Among the evaluated ingredients, soybean meal had showed the best digestibility coefficients and the supplementation of phytase had improved the availability of the minerals calcium and magnesium for the fish analyzed.

Keywords: Aquaculture. Native Species. Phytase. Nutrition

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *Aquaculture*. Disponível em: <<http://www.journals.elsevier.com/aquaculture/>>*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.2 Objetivos.....	3
1.2.1 Objetivo geral	3
1.2.2 Objetivos específicos	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Espécie estudada: Jundiá <i>Rhamdia voulezi</i>	4
2.2 Alimentos proteicos na aquicultura	5
2.2.1 Farelo de Soja	6
2.2.2 Farelo de Canola.....	7
2.2.3 Farelo de Girassol.....	8
2.3 Digestibilidade.....	9
2.4 Fitatos e fatores antinutricionais.....	12
2.5 Fitase na alimentação de peixes.....	15
3 REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO I.....	35
Fitase na digestibilidade de alimentos proteicos vegetais para o jundiá <i>Rhamdia voulezi</i>	35
1. Introdução.....	36
2. Material e Métodos.....	38
3. Resultados.....	44
4. Discussão	49
5. Conclusões.....	59
Referências	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do mio-inositol.....	13
Figura 2. Fotomicrografias representativas das alterações morfométricas no intestino médio de jundiás submetidos à dieta de girassol suplementada ou não com a enzima fitase. (A) girassol com suplementação de fitase em aumento de 80X, e (B) girassol com suplementação de fitase em aumento de 200x, (C) girassol sem suplementação de fitase em aumento de 80X e (D) girassol sem suplementação de fitase em aumento de 200x. Coloração HE.....	49
Figura 3. Fotomicrografias representativas das alterações morfométricas no intestino médio de jundiás submetidos à dieta suplementada ou não com a enzima fitase. (A) amostra inicial em aumento de 80X, e (B) amostra inicial em aumento de 200x, (C) referência com suplementação de fitase em aumento de 80X, (D) referência com suplementação de fitase em aumento de 200x, (E) referência sem suplementação de fitase em aumento de 80X e (D) referência sem suplementação de fitase em aumento de 200x. Coloração HE.	50
Figura 4. Fotomicrografias representativas das alterações morfométricas no intestino médio de jundiás submetidos à dieta suplementada ou não com a enzima fitase. (A) soja com suplementação de fitase em aumento de 80X, e (B) soja com suplementação de fitase em aumento de 200x, (C) soja sem suplementação de fitase em aumento de 80X, (D) soja sem suplementação de fitase em aumento de 200x, (E) canola com suplementação de fitase em aumento de 80X e (F) canola com suplementação de fitase em aumento de 80x, (G) canola sem suplementação de fitase em aumento de 80X, (H) canola sem suplementação de fitase em aumento de 200x Coloração HE.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química dos alimentos utilizados nas rações experimentais (matéria seca).....	39
Tabela 2. Composição percentual e valores nutricionais das dietas experimentais suplementados ou não com a enzima fitase, para o jundiá (g kg^{-1} de matéria seca).	40
Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, energia bruta e extrato etéreo de alimentados suplementados ou não com a enzima fitase, para o jundiá. Valores expressos em % da matéria seca.	45
Tabela 4. Digestibilidade aparente do cálcio, fósforo total, magnésio, zinco e ferro de alimentos suplementados ou não com a enzima fitase, para o jundiá. Valores expressos em % da matéria seca.....	46
Tabela 5. Altura dos vilos e espessura da camada muscular do intestino médio de jundiá, alimentados com dietas suplementadas ou não com a enzima fitase. Valores expressos em % da matéria seca.....	47
Tabela 6. Valores médios da análise centesimal dos filés de jundia alimentados com dietas suplementadas ou não com a enzima fitase.	48
Tabela 7. Valores médios de cálcio, fósforo total, magnésio, cobre e zinco nas vertebrae do jundiá alimentados com dietas sem e com a suplementação da enzima fitase.	48

1 INTRODUÇÃO GERAL

A pesca e a aquicultura são alternativas para suprir as necessidades humanas alimentares e nutricionais, além de diminuir a pobreza e gerar crescimento econômico. Já em 2010, diante destas alternativas, estima-se que o consumo mundial de peixes foi de 128 milhões de toneladas, com consumo médio de 18,6 kg de peixe por pessoa (FAO, 2014).

Atualmente, a Aquicultura continua sendo um dos setores de produção animal que mais cresce, enquanto a produção pesqueira permanece estável. Ainda segundo a FAO (2014), acredita-se que a produção pesqueira e aquícola em 2021 sejam de 172 milhões de toneladas de peixes e desse total a maior parte será proveniente da aquicultura, podendo, na próxima década, ultrapassar a produção de carne bovina, suína e avícola.

Mas, apesar do crescimento da aquicultura, ainda são insuficientes os estudos com objetivo de determinar as exigências nutricionais das espécies utilizadas na produção, em especial as espécies nativas. Neste contexto, os peixes nativos são importantes para a aquicultura nacional, pois apresentam resistência, crescimento e adaptação aos sistemas de cultivo, com carne de excelente qualidade e aceitação pelo consumidor (Melo et al., 2002; Signor et al., 2013). Além disso, a utilização de espécies nativas na aquicultura permite aproveitar potencialidades regionais promovendo seu desenvolvimento sustentável sem prejuízos à fauna local. Entre as espécies que merecem destaque está o jundiá *Rhamdia voulezi*, devido ao seu rápido crescimento, resistência ao manejo, fácil reprodução, adaptação às variações térmicas em sistemas de cultivo e aceitação de variadas dietas.

As dietas formuladas para peixes apresentam ingredientes vegetais, os quais em alguns casos são os únicos constituintes. A grande disponibilidade de proteínas oriundas de alimentos vegetais e sua utilização nas dietas dos animais levam à necessidade de mais conhecimentos sobre a disponibilidade dos nutrientes e sua interação nos processos metabólicos dos peixes. As fontes vegetais de proteína geralmente apresentam baixa digestibilidade, com deficiência em metionina e lisina, além da possibilidade de apresentar fatores antinutricionais, dentre os quais citam-se os fitatos (ácido fítico) (Cyrino et al., 2010).

O fitato presente nas sementes encontra-se indisponível para animais monogástricos, em função da ausência da enzima fitase no trato gastrintestinal, e nesse caso é necessária a suplementação das rações com fósforo inorgânico (Sajjadi e Carter, 2004; Sales et al., 2003).

Portanto, a enzima fitase, degrada o ácido fítico e seus sais (fitatos) disponibilizando inositol, inositol monofosfato e fosfato inorgânico (Casey e Walsh, 2004). Uma vez que, o

desperdício de fósforo causa apreensão na aquicultura, porque este mineral comumente é o fator mais limitante no que se refere ao crescimento de algas no meio aquático e seu excesso pode estimular a eutrofização (Overturf et al., 2003).

Vários estudos indicam que a suplementação da enzima fitase é considerada alternativa para melhorar a disponibilidade de minerais para peixes (Fortes-Silva et al., 2011; Gonçalves et al., 2005) e, essa suplementação e ensaios de digestibilidade permitem determinar o valor nutricional de dietas, alimentos e nutrientes, além da quantificação de volumes potenciais de material fecal oriundos do manejo alimentar, que é fonte primária de resíduos sólidos no ambiente aquático (Cyrino et al., 2010). Apenas o conhecimento espécie-específico da digestibilidade das dietas, ingredientes e nutrientes permitem a elaboração de rações ambientalmente corretas e economicamente viáveis para os peixes.

Dentre os ingredientes de origem vegetal que disponibilizam fitato e que podem ser utilizados em rações para peixes está o farelo de canola, um subproduto obtido da extração do óleo da semente da canola (Gatlin III et al., 2007). De acordo com Bell (1993) e Bell e Keith (1991) esse farelo apresenta maior conteúdo de matéria seca, aminoácidos sulfurados, extrato etéreo, fibra bruta, cálcio, fósforo total e vitaminas do complexo B em comparação ao farelo de soja. Como fator limitante, o farelo de canola apresenta os metabólitos provenientes da hidrólise dos glicosinolatos, inibidores de tripsina, fitatos, compostos fenólicos e taninos (Teskeredžić et al., 1995).

Já o farelo de soja é um subproduto obtido após a extração do óleo do grão de soja. É a principal fonte proteica de origem vegetal usada na nutrição de monogástricos, inclusive para peixes, pois, apresenta valor proteico em torno de 40%. Gatlin III et al. (2007) relataram o bom perfil em aminoácidos da proteína do farelo de soja, possuindo uma concentração de aminoácidos essenciais adequada às exigências dos peixes. De acordo com Pezzato (1995), o farelo de soja apresenta alto teor de lisina, além de conter vitaminas do complexo B e minerais como cálcio e fósforo.

Quanto ao farelo de girassol, é obtido após o processo de extração do óleo da semente do girassol. Este subproduto apresenta teores de proteína bruta variando de 28 a 44%, com deficiência em lisina, e fibra bruta variando de 14 a 32% (Villamide e San Juan, 1998). A semente descorticada apresenta excelente palatabilidade, bom balanço de aminoácidos essenciais, altos níveis de niacina e pode substituir em até 50% a farinha de peixe nas formulações de rações para peixes (Pezzato, 1995).

O uso de alimentos proteicos de origem vegetal está em evidência no cenário mundial, essencialmente em países onde são produzidos em grande escala, além de apresentarem custo

reduzido e com disponibilidade de grandes quantidades para o uso em rações animais. No entanto, seu uso e o conhecimento da ação da enzima fitase em disponibilizar minerais existentes nos alimentos é de suma importância para a formulação de dietas economicamente viáveis e ambientalmente corretas. Sabendo que os alimentos presentes nas rações e suas respeitivas proporções variam de acordo com a espécie, o hábito alimentar, a fase de crescimento, o custo do ingrediente e sua disponibilidade, bem como a forma de processamento.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliação da ação da enzima fitase na digestibilidade e disponibilidade de nutrientes de alimentos proteicos vegetais de farelo de soja, farelo de canola e farelo de girassol pelo jundiá *R. voulezi*.

1.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, energia bruta, cálcio, fósforo total, magnésio, manganês, cobre, zinco e ferro do farelo de soja, farelo de canola e de girassol pelo o jundiá *R. voulezi*;
- ✓ Verificar a influência da suplementação da fitase na dieta de jundiá *R. voulezi* nos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, energia bruta, cálcio, fósforo total, magnésio, manganês, cobre, zinco e ferro dos farelos de origem vegetal testados;
- ✓ Avaliar a influência da suplementação da fitase nas dietas sobre a morfometria intestinal de jundiá *R. voulezi*.
- ✓ Mensurar o efeito da suplementação da fitase na dieta de jundiá *R. voulezi* sobre a composição mineral dos ossos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Espécie estudada: Jundiá *Rhamdia voulezi*

O jundiá pertence ao gênero *Rhamdia*, que é composto por 11 espécies, dentre as quais se encontra o *R. voulezi*. Esta espécie pertence à seguinte divisão: Classe: *Osteichthyes*, Série: *Teleostei*, Ordem: *Siluriformes*, Família: *Heptapteridae*, Gênero: *Rhamdia*, Espécie: *R. voulezi*. Os bagres desse gênero são de hábito alimentar onívoro (Baldisserotto and Radünz-Neto, 2005), apresentando corpo alongado e barbilhões relativamente grandes (Agostinho e Gomes, 1997), e sua coloração varia do marrom ao cinza (Gomes et al., 2000).

No Brasil, entre as diversas espécies nativas com potencial para piscicultura, encontra-se o jundiá, *R. spp*, que, segundo Baldisserotto e Radünz-Neto (2005), pode ser encontrada desde o sudeste do México até a região central da Argentina. Esta espécie é descrita como endêmica da bacia do rio Iguaçu (Ingenito et al., 2004). A bacia apresenta elevado endemismo com índice de cerca de 80% das espécies desta ictiofauna endêmicas, condição esta que foi beneficiada pelo isolamento geográfico conferido pelas cataratas do Iguaçu (Agostinho e Gomes, 1997).

Estudos do conteúdo estomacal de jundiás adultos capturados na natureza sugerem que esta espécie é onívora, com preferência por peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (Kramer e Bryant, 1995). Porém, suas características anatômicas, tais como o trato gastrointestinal ausente de cecos pilóricos ou moela, rastros branquiais curtos e espaçados, apresenta intestino de tamanho reduzido (quociente intestinal [QI] = 0,76), similar aos de peixes carnívoros (QI < 1,0) (Baldisserotto, 2009; Fracalossi et al., 2007), com capacidade limitada para usar ingredientes energéticos ricos em amido (Moro et al., 2010; Oliveira Filho e Fracalossi, 2006).

O jundiá tem se destacado na piscicultura da região Sul do Brasil pelo rápido crescimento, até mesmo nos meses mais frios (Fracalossi et al., 2004), elevada eficiência alimentar (Meyer e Fracalossi, 2004), resistência ao manejo, carne saborosa, ausência de espinhas intramusculares, além de oferta da espécie na região Sul (Canton et al., 2007). Atinge seu potencial produtivo em temperaturas que variam de 18 a 28 °C (Carneiro et al., 2002). Em cativeiro possui a capacidade de ingerir dietas formuladas com fontes vegetais, no entanto, seu intestino curto, próprio de espécies carnívoras, é menos eficiente que de outros peixes onívoros que aproveitam melhor este tipo de alimento (Rodrigues et al., 2012). Por

apresentar esta característica, o jundiá é considerado onívoro com tendência a carnívoro (Moro et al., 2010).

Nos últimos anos, a produção do jundiá vem aumentando nas pisciculturas continentais e, portanto, contribuindo para o crescimento do setor aquícola nacional. De acordo com dados do Ministério da Pesca e Aquicultura, a produção do jundiá passou de 667 toneladas em 2007 para 1089 toneladas em 2009, e a região sul do país participa com a maior parte desta produção (MPA, 2013). Entretanto, o cultivo do jundiá ainda é pequeno se comparado à produção de outras espécies nativas, como o tambaqui e o pacu, que em 2009 foram de 46.454 e 18.171 toneladas, respectivamente (MPA, 2012).

Souza et al. (2005) afirmaram que as técnicas reprodutivas do jundiá estão dominadas, porém, carecendo ainda de estudos relacionados à nutrição, aos sistemas de cultivo e ao melhoramento genético. Embora sua reprodução seja fácil, a ocorrência de grande mortalidade pós-desova e baixa sobrevivência na fase larval são problemas recorrentes no seu cultivo (Fracalossi et al., 2002; Tronco et al., 2007). Seu crescimento é rápido, em relação ao crescimento dos alevinos em viveiros, chegando a cinco centímetros de comprimento em aproximadamente 30 dias (Gomes et al., 2000).

Ainda, a alevinagem e o crescimento do jundiá podem ser realizados em viveiros escavados ou em tanques rede (Reidel et al., 2010; Santinón et al., 2010). Barcellos et al. (2004) afirmaram que 100 peixes por m³ é a densidade ideal para jundiás cultivados em tanques rede.

2.2 Alimentos proteicos na aquicultura

A área da nutrição é de extrema importância para a aquicultura, pois contribui para o crescimento e saúde dos peixes e gera conhecimentos das exigências nutricionais, sobre a formulação de rações balanceadas e o manejo alimentar, sendo estes necessários para o desenvolvimento de dietas completas (NRC, 2011).

A farinha e o óleo de peixe são as principais fontes de proteína, energia e ácidos graxos essenciais de origem animal empregados na alimentação de organismos aquáticos, mas, no entanto, a sua produção se mantém estável (Naylor et al., 2009). Portanto, a redução ou substituição da farinha e óleo de peixe na alimentação de organismos aquáticos por alimentos alternativos é de fundamental importância para o crescimento sustentável da aquicultura (Naylor et al., 2009).

Os ingredientes de origem vegetal apresentam elevado potencial de uso em dietas para peixes (Naylor et al., 2009). Contudo, tais insumos contêm teores variados de fatores antinutricionais, amido e fibras que são aproveitadas de formas distintas entre as diversas espécies de peixes (Gatlin III et al., 2007; Krogdahl et al., 2005, 2010). Neste sentido, diversas pesquisas vêm sendo realizadas nos últimos anos para identificar fontes proteicas alternativas, que possam substituir, total ou parcialmente, a farinha de peixe e possibilitando assim a redução nos custos com alimentação (Ai e Xie, 2005; Antolović et al., 2012; Deng et al., 2006; El-Saidy e Gaber, 2003; Fabregat et al., 2011; Freitas et al., 2011; Hernández et al., 2007; Hosseini e Khajepour, 2013; Kitagima e Fracalossi, 2011; Lima et al., 2012, 2011; Phumee et al., 2011; Tomas et al., 2005; Zhou et al., 2005).

Jahan et al. (2003) afirmaram que a combinação equilibrada de diversos alimentos proteicos alternativos traz maior probabilidade de sucesso desta substituição, além de diminuir o impacto ambiental ocasionado pela excreção de nitrogênio e fósforo.

No Brasil, são produzidos em larga escala e estão disponíveis diversos farelos de oleaginosas, os quais são subprodutos da indústria de extração de óleos. Entre eles, destacam-se os farelos de soja, canola e girassol, ricos em proteína e amplamente utilizados na nutrição animal.

2.2.1 Farelo de Soja

A produção anual de soja é superior a 220×10^6 milhões de toneladas, sendo a oleaginosa mais produzida no mundo (Masuda e Goldsmith, 2009). Aproximadamente $\frac{1}{4}$ desta produção é transformada em farelos e tortas para o uso na indústria de alimentação animal. Os derivados comumente utilizados na produção de organismos aquáticos incluem o farelo de soja, concentrado proteico de soja, óleo de soja e lecitina de soja (Pastore et al., 2013).

Ainda, o farelo de soja é usado como principal fonte de proteína de origem vegetal em rações para peixes tropicais (Pastore et al., 2013). No entanto, apresenta deficiência em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), baixa disponibilidade de fósforo e fatores antinutricionais (Gatlin III et al., 2007). Este alimento é fonte barata de proteína digestível e de aminoácidos essenciais para peixes cativos, pois apresenta melhor perfil de aminoácidos essenciais entre todas as fontes de proteína vegetais, contendo os dez aminoácidos essenciais em quantidades próximas das fontes proteicas de origem animal (Pastore et al., 2013).

Cerca de 70% do fósforo presente no farelo de soja estão ligados ao ácido fítico (fitato), limitando sua disponibilidade para peixes (NRC, 2011). Gatlin III et al. (2007) ressaltaram desvantagens na composição do farelo de soja, tais como a presença de inibidores de proteases, os quais podem ser desativados aplicando ação térmica no momento do processamento do farelo.

Até 15% de oligossacarídeos estão presentes no farelo de soja, porém a rafinose e a estaquiose não são digestíveis para peixes. As lectinas e aglutininas, que se unem a hemácias, podendo ser tóxicas, podem, porém, ser destruídas durante o processo de extrusão, aplicando-se temperatura de 100 °C por cinco minutos. Hertrampf e Piedad-Pascual (2000) apontaram fatores antinutricionais como taninos, alcalóides, isoflavona, saponina, glicosídeos, urease e baixa palatabilidade.

Entretanto, o farelo de soja está sendo usado com êxito na substituição total ou parcial da farinha de peixe (Antolović et al., 2012; Fabregat et al., 2011; Faria et al., 2001; Freitas et al., 2011; Hosseini e Khajepour, 2013; Kitagima e Fracalossi, 2011; Phumee et al., 2011). Sua inclusão pode variar de 10 a 45%, pois níveis superiores podem prejudicar o processo de peletização ou extrusão levando a péletes menos resistentes (Pastore et al., 2013).

2.2.2 Farelo de Canola

A canola é oleaginosa pertencente à família das crucíferas e ao gênero *Brassica* (Tomm et al., 2009). A semente da canola apresenta teores de aproximadamente 40% de óleo de boa qualidade, sendo cerca de 60% composto de ácidos graxos monoinsaturados e menos de 7% de saturados, além de resíduo proteico de excelente qualidade (Gaiotto et al., 2004). A canola foi desenvolvida a partir do melhoramento genético da colza, e contém menos de 2% de ácido erúico em seu óleo e menos de 3,0 mg g⁻¹ de glucosinolatos no farelo (Bell, 1993). Produtores australianos na década de 70 melhoraram o rendimento, a adaptação, a resistência a doenças e a qualidade da semente, no que se refere a baixos teores dos principais fatores antinutricionais (Cowling, 2007).

O farelo de canola apresenta aproximadamente 37% de proteína bruta, tem bom perfil de aminoácidos essenciais, teores estes semelhantes ao do farelo de soja, mas com teores mais baixos de lisina e mais altos de metionina+cistina, no entanto, é subproduto muito rico em minerais e vitaminas (Downey e Bell, 1995). Alguns fatores restringem a inclusão do farelo de canola em dietas para monogástricos, como, alto nível de fibra, teores de ácidos erúicos,

compostos fenólicos, metabólitos oriundos da hidrólise dos glicosinolatos, inibidores de tripsina, taninos e fitatos (Bell, 1993; Teskeredžić et al., 1995). Todavia, os avanços no melhoramento genético da planta e o uso de novas técnicas de processamento melhoraram a disponibilidade de seus nutrientes, eliminando substâncias nocivas e contribuíram na melhoria do valor nutritivo do produto (Schöne et al., 1996).

No farelo de canola cerca de 0,85% do fósforo estão ligados ao ácido fítico (Enami, 2011). Em geral, os peixes respondem bem à inclusão do farelo de canola na dieta, com algumas limitações quanto ao nível de inclusão (Abbas et al., 2008; Bergamin et al., 2011; Burr et al., 2013; Davies et al., 1990; Glencross et al., 2004; Luo et al., 2012; Viegas et al., 2008; Yigit e Olmez, 2009; Yiğit et al., 2012). Níveis elevados de farelo de canola em dietas para peixes influenciam o crescimento, a conversão alimentar e outros parâmetros de desempenho produtivo (Davies et al., 1990; Hardy e Sullivan, 1983; Takii et al., 1999; Yigit e Olmez, 2009; Yiğit et al., 2012).

2.2.3 Farelo de Girassol

O girassol é oleaginosa com elevada potencialidade para produção de biocombustíveis, sendo adaptado ao cultivo na região Sul do Brasil (Silva e Freitas, 2008). O farelo do girassol apresenta de 35 a 40% de proteína bruta tornando-se boa fonte proteica, além de apresenta 0,69% de fósforo fítico e 0,34% de fósforo disponível (Rostagno et al., 2011). Apresenta deficiência em lisina, porém, contém níveis elevados de metionina e arginina em relação ao farelo de soja, e apresenta-se como boa fonte de ácido nicotínico e colina, além de altos níveis de vitaminas. Assim, como a maioria das fontes vegetais de proteína, o farelo de girassol contém taninos, inibidores de protease e arginina, apresentando ainda risco de contaminação da matéria prima com aflatoxinas (Pastore et al., 2013).

Em geral, o farelo de girassol é substituto promissor ao farelo de soja, entretanto, seus altos níveis de fibra podem proporcionar redução da digestibilidade da dieta quando usadas em altas taxas de inclusões (Pastore et al., 2013). Quando utilizado em rações para peixes, sua eficácia varia de espécie para espécie. Geralmente, em baixos níveis de inclusão apresenta bons resultados de desempenho, no entanto, pode causar crescimento reduzido quando usado em altas quantidades nas dietas.

A utilização do farelo de girassol como fonte proteica para peixes ainda é restringida pela presença de compostos fenólicos, que provocam redução da digestibilidade protéica e

desconformidade das propriedades organolépticas e funcionais do seu farelo (Salgado et al., 2012). Ademais, estudos demonstraram que os peixes respondem bem à inclusão do farelo de girassol na dieta (Adesina et al., 2013; Bilgüven e Barış, 2011; Gill et al., 2006; Martinez, 1986; Olvera-Novoa et al., 2002; Rehman et al., 2013) apresentando apenas limitações em relação ao nível de inclusão.

2.3 Digestibilidade

As rações formuladas e utilizadas no cultivo de organismos aquáticos são compostas por mistura de alimentos em quantidades que possam ter proporções de nutrientes que atendam às necessidades nutricionais diárias dos animais. Um alimento nutricionalmente adequado deve conter elementos nutritivos exigidos para o pleno desenvolvimento das funções vitais do organismo animal. O conhecimento do valor nutritivo do alimento é fundamental para escolha deste para compor a formulação de rações para animais.

A determinação da composição química dos alimentos se constitui numa ferramenta de suma importância na avaliação do seu valor nutritivo (Pimenta et al., 2011), entretanto, a absorção dos nutrientes presentes nos ingredientes ocorre de forma distinta de acordo com a espécie animal, sendo esta variação possível de quantificar por meio da determinação dos coeficientes de digestibilidade. Portanto, é de fundamental importância determinar qual o valor nutricional dos alimentos por intermédio da determinação dos coeficientes de digestibilidade.

O coeficiente de digestibilidade *in vivo* em peixes pode ser determinado por dois métodos, sendo eles direto e indireto. Ambos os métodos não consideram a presença de materiais de origem endógena ou metabólica nas fezes, logo, os dados obtidos são de digestibilidade aparente e não verdadeira (NRC, 2011). O método direto ou técnica de coleta total consiste na determinação da digestibilidade do alimento por meio da diferença entre o total ingerido e fezes produzidas (Belal, 2005). O método indireto ou método do indicador, por sua vez, possibilita a coleta parcial das fezes e alimentação voluntária do animal (Belal, 2005). A maior parte dos estudos de digestibilidade com peixes é realizada pelo método indireto, no qual um marcador, que pode estar presente naturalmente na dieta (interno) ou introduzido em pequenas frações na dieta (externo), é usado para determinar a digestibilidade aparente (Kitagima e Fracalossi, 2010; Storebakken et al., 1998).

O indicador ideal não deve influenciar na digestão ou na palatabilidade da dieta teste, ter a mesma velocidade de passagem pelo trato digestório que os demais constituintes da dieta, não deve ser tóxico e deve ser de fácil determinação (Belal, 2005). Entre os marcadores externos, o mais utilizado em estudos de digestibilidade é o óxido de cromo III (Cr_2O_3), no entanto, outros marcadores como cinza insolúvel em ácido (Tacon and Rodrigues, 1984), celite (Atkinson et al., 1984; Bureau et al., 1999; Morales et al., 1999), polietileno (Tacon e Rodrigues, 1984), óxido de ítrio (Refstie et al., 1997; Storebakken et al., 1998), óxido de itérbio (Refstie et al., 1998), óxido de lantânio (Hillestad et al., 1999), dióxido de titânio (Lied et al., 1982; Weatherup e McCracken, 1998), carbonato de bário (Riche et al., 1995), entre outros, têm sido avaliados.

Independente do método utilizado, o ingrediente teste deve ser empregado junto com uma dieta referência que atenda às exigências nutricionais da espécie em questão e que deve proporcionar apropriada aceitação do ingrediente pelo animal, gerando níveis normais de ingestão e aproveitamento dos nutrientes (NRC, 2011). Cho e Slinger (1979) recomendam o uso de 70% da dieta referência mais 30% do ingrediente a ser testado, com o intuito de simular condições práticas de alimentação. Deste modo, as diferenças entre as dietas referência e a dieta teste são inteiramente relacionadas à presença do ingrediente teste e são consideradas no cálculo do coeficiente de digestibilidade (Cho e Slinger, 1979).

A medição quantitativa do material excretado é difícil no meio aquático sem que haja nível considerável de erro. Mesmo assim, o método indireto de coleta, empregando marcador indigestível, é um dos mais usados para avaliar a digestibilidade em organismos aquáticos. A porcentagem do marcador é medida na ração e nas fezes para determinar o coeficiente de digestibilidade aparente, sendo os cálculos realizados por meio da equação preconizada por Belal (2005):

$$CDA_{\%} = 100 - \left[\frac{100 \times \% \text{ Indicador na ração}}{\% \text{ Indicador nas fezes}} \right]$$

Para o nutriente, com base no teor de óxido de cromo do nutriente da ração e das fezes, o coeficiente de digestibilidade aparente é calculado conforme equação recomendada por Nose (1960).

$$CDA = 100 - \left(100 \left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_{3r}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_{3f}} \right) \times \left(\frac{N_f}{N_r} \right) \right)$$

Onde:

$Da_{(n)}$ = Digestibilidade aparente;

% Cr_2O_{3r} = % óxido de crômio na ração;

% Cr_2O_{3f} = % óxido de crômio nas fezes;

N_f = Nutrientes nas fezes;

N_r = Nutrientes na ração.

Para o ingrediente com base na digestibilidade aparente do nutriente da ração e das fezes, é calculado conforme equação recomendada por Cho e Slinger (1979).

$$CDA_{ing} = \frac{(CD_{rt} - b.CD_{rb})}{a}$$

Em que:

$CDA_{(ing)}$ = Coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente;

$CD_{(rt)}$ = Coeficiente de digestibilidade aparente da ração com o ingrediente teste;

$CD_{(rb)}$ = Coeficiente de digestibilidade aparente da ração basal;

b = Porcentagem da ração basal;

a = Porcentagem do ingrediente teste.

Em suma, o coeficiente de digestibilidade aparente expressa a porcentagem absorvida do nutriente existente dentro da quantidade total ofertada. Valores elevados de digestibilidade podem sugerir alta qualidade do alimento, ou seja, que é digerido com maior facilidade pelo trato digestório de determinada espécie de peixe e, portanto, com maior disponibilidade dos nutrientes.

Existem diferentes metodologias para coleta de fezes para a determinação dos coeficientes de digestibilidade de ingredientes e rações para peixes. Dentre os métodos usados, têm-se: aquário inclinado com coletor cônico munido de válvula para sedimentação de fezes (Cho e Slinger, 1979; Windell et al., 1978), extrusão do conteúdo final do intestino por pressão abdominal (Hajen et al., 1993; Nose, 1960), dissecação da porção distal do intestino (Austreng, 1978; Hajen et al., 1993), sucção mecânica anal (Hajen et al., 1993; Windell et al., 1978) e coleta de fezes liberadas no aquário (Watanabe e Ohta, 1995). Dentre os fatores que podem ter influência na digestibilidade destacam-se: o tamanho das partículas dos ingredientes que compõem a ração (Pezzato et al., 2002), a quantidade de fibra e gordura

(NRC, 2011), o método empregado na coleta de fezes e a presença de fatores antinutricionais (Wilson e Poe, 1985).

2.4 Fitatos e fatores antinutricionais

Os alimentos apresentam substâncias nutritivas essenciais para o desenvolvimento do organismo e, além disso, podem apresentar grande variedade de fatores antinutricionais, como os inibidores de proteínas, oxalatos, taninos, nitritos, entre outros, assim designados devido ao fato de intervirem na absorção de nutrientes, podendo ocasionar danos à saúde quando consumidos em elevadas quantidades. Nos últimos anos tem-se intensificado a utilização de alimentos de origem vegetal em dietas para peixes e em determinadas fases de desenvolvimento e para algumas espécies são os únicos constituintes da dieta. Os fatores antinutricionais que compõem esses alimentos estão entre os maiores problemas para seu aproveitamento em dietas para peixes (Cao et al., 2007).

O termo fator antinutricional tem sido empregado para descrever compostos ou classe de compostos existentes numa gama de alimentos de origem vegetal que, quando ingeridos, diminuem o valor nutritivo dos alimentos (Benevides et al., 2011). Esses compostos influenciam na digestibilidade, absorção e, se consumidos em elevadas quantidades, podem ocasionar danos à saúde (Santos, 2006), tais como diminuição da disponibilidade biológica dos aminoácidos essenciais e minerais.

Diversos nomes e símbolos têm sido atribuídos à molécula de fitato, como: ácido fítico, hexafosfato de mio-inositol, IP6, InsP6 ou Ins (1,2,3,4,5,6) P6 (Almeida et al., 2003). O termo fitato remete quimicamente ao sal do ácido fítico com apenas um tipo de mineral como, por exemplo, fitato de sódio ou fitato de potássio (Selle e Ravindran, 2007). O fitato é a forma básica de armazenamento de fósforo durante o desenvolvimento de grãos, legumes e sementes (Lei e Porres, 2003). A sua sintetização se dá por meio da fosforilação completa do *mio*-inositol, o qual apresenta a glicose como precursora (Figura 1).

Os fitatos são provenientes do ácido fítico ou ácido hexafosfórico mio-inositol, com capacidade de formar quelantes com íons divalentes, tais como cálcio e magnésio, desenvolvendo complexos solúveis resistentes à ação do trato intestinal, que restringem a disponibilidade destes minerais e, ainda, interagem com os resíduos básicos das proteínas, ocasionando a inibição de enzimas digestivas como a pepsina, pancreatina e α -amilase (Torrezan et al., 2010).

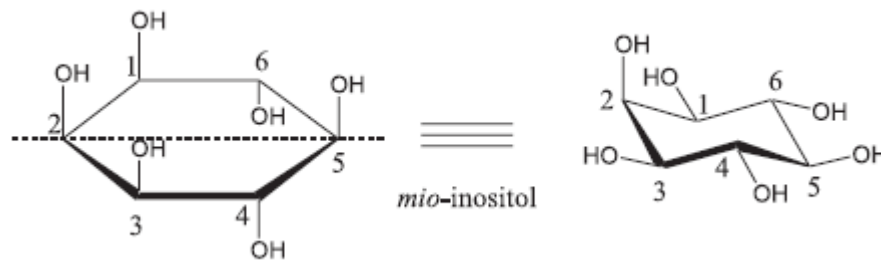


Figura 1. Estrutura do mio-inositol
Fonte: Almeida et al. (2003).

O fitato é um composto complexo avaliado como um dos mais importantes fatores antinutricionais. Ocasionalmente ocasiona perdas significativas de nutrientes, aminoácidos e energia por diminuir a disponibilidade ao animal, além de elevar a produção de mucinas e aumentar o “turnover” celular no trato digestório (Cowieson et al., 2009). O fósforo fítico é a denominação dada ao fósforo que está ligado à molécula de hexafosfato de inositol (IP6), sendo encontrado apenas em vegetais (Cúneo et al., 2000).

O fósforo nos alimentos de origem vegetal está presente em maior parte na forma de fitato, que é de baixa disponibilidade e quelante de diversos cátions bivalentes como Ca, Fe, Mg, Zn (Surek et al., 2008). O fósforo é um elemento mineral necessário em rações para peixes, devendo sua suplementação na dieta atender às exigências essenciais para o bom crescimento dos animais. A suplementação de fósforo inorgânico em dieta se faz necessária, porém onera o custo da ração e, se em excesso, eleva o risco de poluição ambiental. Logo, a diminuição da quantidade de nutrientes lançados no meio aquático é de grande importância para a aquicultura intensiva (Cheng e Hardy, 2002).

O fósforo fítico existente nos cereais e nas sementes oleaginosas varia tanto em quantidade, quanto na sua localização (Selle et al., 2003). No caso do milho, o fitato está localizado especialmente no gérmen e, nas leguminosas apresenta-se nos cotilédones, na soja, em particular, encontra-se associado a corpos proteicos espalhados por toda a semente (Baker, 1991). Nos vegetais o ácido fítico tem como função principal a reserva de grupos fosfatos reativos, ou seja, uma fonte de fósforo para as sementes, estoque energético, fonte de cátions (Cheryan, 1980) sendo responsável pelo início da dormência (Reddy et al., 1982). O ácido fítico nas sementes é complexado com potássio (K^+) e magnésio (Mg^{2+}) e, em menor dimensão, com cálcio (Ca^{2+}) para constituir a fitina.

O ácido fítico em células animais tem como função a sinalização da transmembrana e mobilização do cálcio para as reservas intracelulares (Xu et al., 2005). Quirrenbach et al.

(2009) salientaram que o ácido fítico pode desempenhar papel antioxidante natural, por impedir a peroxidação lipídica decorrente da aceleração do processo de auto-oxidação de íons ferrosos para íons férricos cataliticamente. O ácido fítico em pH baixo precipita Fe^{3+} e em pH mais elevado, forma complexos insolúveis com outros cátions polivalentes, diminuindo a biodisponibilidade de vários minerais. Em pH intestinal próximo de 6,5 (alcalino), o fitato forma complexos com metais, geralmente na seguinte ordem: Cobre > Zinco > Cobalto > Manganês > Ferro > Cálcio (Oberleas, 1973), tornado-os indisponíveis para a absorção.

Spinelli et al. (1983) expõem a ação negativa do fitato sobre o desempenho produtivo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) considerando que tais efeitos estavam diretamente relacionados à baixa disponibilidade dos macronutrientes (10%) e menor digestibilidade da proteína. Gatlin e Phillips (1989) demonstraram a interação do cálcio e da fitase sobre o metabolismo de minerais em estudo conduzido com o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*). Pelo fato do fitato se complexar com minerais e nutrientes que compõem as dietas, os torna indisponíveis para a absorção reduzindo sua disponibilidade (Papatryphon et al., 1999).

Estudos evidenciam o efeito do cálcio na biodisponibilidade do zinco em dietas contendo fitato (Forbes et al., 1984; Fredlund et al., 2006; Mitchikpe et al., 2008), além do aumento de cálcio, fitato ou ambos influenciarem de forma negativa a biodisponibilidade do zinco e do ferro (Abebe et al., 2007; Rama Rao et al., 2007).

Entre os minerais usados em dietas para animais o fósforo se sobressai por ser o elemento mineral mais importante na alimentação destes animais, sendo o segundo mineral de maior importância na estrutura óssea, além de apresentar grande influência nos processos de eutrofização ambiental. O fósforo é de grande importância nutricional, pois 16% da estrutura óssea é composta por este mineral (Rocha et al., 2008; Steffens, 1987), têm participação nos ácidos nucleicos, na camada de fosfolípidios celulares e em diversas enzimas, influenciando em processos metabólicos importantes (Kumar et al., 2010; Sugiura et al., 1998).

Ainda, a inter-relação dos minerais pode impedir uma série de mecanismos na absorção e disponibilidade, principalmente nos minerais que competem pelo mesmo sítio de ligação química.

Sabendo-se também que o nível nutricional inadequado de vitaminas compromete a integridade da mucosa intestinal e pode, dessa forma, afetar a absorção de diversos nutrientes, assim como a carência de elementos traços pode influenciar na capacidade absorptiva geral, mecanismos específicos indispensáveis para a ingestão de outros nutrientes (Glover e Hogstrand, 2003; Lall e Tibbetts, 2009; Sá et al., 2005; Sandström, 2001).

2.5 Fitase na alimentação de peixes

A fitase (hexafosfato de *mio*-inositol fosfohidrolases) é uma enzima encontrada nos microrganismos, plantas e certos tecidos animais, todavia as fontes microbianas são as mais apropriadas para sua produção em larga escala (Vats e Banerjee, 2004). Esta enzima tem como função catalisar a reação de desfosforilação do ácido fítico em ésteres de fosfato de *mio*-inositol menores e fósforo inorgânico (Lei e Porres, 2003), aumentando sua disponibilidade. Geralmente a atividade dessa enzima é expressa em unidades de atividade de fitase (FTU), sendo 1 FTU a quantidade de fósforo inorgânico liberado (μmol) durante um minuto de reação numa solução de fitato de sódio na concentração de $5,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em pH 5,5 e temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$ (Engelen et al., 1994).

As enzimas produzidas a partir de bactérias ou fungos e tecidos vegetais podem ser empregadas nas dietas de animais proporcionando maior disponibilidade nutricional. Possuem a capacidade de diminuir a energia de ativação de reação catalítica e aumentam a reação na ordem de 10^{10} vezes. A enzima fitase catalisa a hidrólise do ácido fítico a inositol e ácido ortofosfórico (Liu et al., 1998), aumentando a disponibilidade de minerais, proteínas e lipídeos presentes nos alimentos de origem vegetal (Baruah et al., 2007; Debnath et al., 2005).

Esta enzima é estável em pH entre 3,0 e 9,0 em temperatura inferior a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ (Pizzolante, 2000). Quando é exposta a variações extremas de pH e a temperaturas altas ocorre redução de sua atividade, podendo ocorrer a sua destruição (Jermutus et al., 2001). Caso seja armazenada em produtos com características inócuas, esta enzima pode continuar estável por até seis meses, mesmo ocorrendo condições ambientais instáveis (Classen, 1996). Pode ser armazenada na forma pura e a baixas temperaturas e, ao ser empregada em dietas animais, pode ser adicionada diretamente aos macroingredientes ou aos suplementos minerais (Pizzolante, 2000).

Com exceção do grupo de moléculas de RNA que possuem propriedades catalíticas, todas as demais enzimas são proteínas. As fitases são constituídas por um aglomerado de aminoácidos que se diferem em quantidades inteiramente pautadas às suas características e origens (Liu et al., 1998; Yi et al., 1996). Por serem proteínas, as enzimas fitases estão sujeitas à ação de proteases, condição que levaria à digestão das fitases antes de realizarem a hidrólise do fósforo fítico. A maior parte da digestão proteica ocorre no intestino delgado e grosso, porém, a hidrólise das proteínas começa no estômago ocorrendo, posteriormente, a ingestão e a liberação de HCl com a redução no pH. A queda do pH após a ingestão de alimentos permite ação mais eficiente da fitase, pois estas atuam em meio ácido (Liu et al.,

1998; Yi et al., 1996). Por exemplo, como o pH no estômago da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e tilápia Mossambicus (*O. mossambicus*) é próximo de 1,5 e 2,5, respectivamente (Biswas et al., 2007; Liebert e Portz, 2005), esse meio é favorável à ação da enzima, para essas espécies.

A primeira enzima a agir na digestão de proteínas é a pepsina e tem relação ao substrato de cerca de 150 vezes mais elevado em peixes, embora apresente baixa relação proteolítica procedente do pepsinogênio em estômagos de tilápia. As tilápias são conhecidas por terem um dos menores pH no sistema digestório (Moriarty, 1973). A adição de fitase na dieta, além de melhorar a disponibilidade da proteína (Teskeredžić et al., 1995), melhora o aproveitamento do fósforo fítico, uma vez que disponibiliza quantidades maiores de fósforo e outros minerais complexados, pois a molécula de ácido fítico compromete a ativação do tripsinogênio e a estabilidade da tripsina (Caldwell, 1992).

Estudos demonstram que a suplementação da enzima fitase é opção viável para melhorar a disponibilidade de minerais (Fortes-Silva et al., 2011; Gonçalves et al., 2005; Sajjadi e Carter, 2004). Os minerais são demandados para bom crescimento, formação óssea e desenvolvimento normal de tecidos, bem estar e saúde dos animais. Em geral, as espécies de peixes dependem do fornecimento equilibrado de minerais como cálcio, zinco, magnésio, ferro, fósforo, cobre, cobalto, manganês e potássio na dieta, além de sua característica e disponibilidade no meio aquático, formas de concentração e inter-relação para apropriada atividade metabólica celular e tecidual (Liebert e Portz, 2005; Sugiura et al., 1999; Watanabe et al., 1997).

Inúmeros estudos executados demonstram relação direta com o melhor desempenho produtivo, disponibilidade e retenção de minerais no tecido, proteínas e ácidos graxos com a adição da enzima fitase em dietas para animais (Atakora et al., 2011; Cao et al., 2007; Jongbloed et al., 2004; Juanpere et al., 2004). A utilização de dietas à base de ingredientes de origem vegetal para peixes com adição de fitase tem influenciado positivamente na disponibilidade de nutrientes, essencialmente o fósforo (Fontagné et al., 2009; Gonçalves et al., 2007; Riche e Brown, 1996; Sajjadi e Carter, 2004).

Riche and Brown (1996) obtiveram valores para a disponibilidade do fósforo para farelo de algodão de 56,30%, farelo de soja de 46,60%, farelo de canola 46,20% e glúten de milho de 76,80% em dietas para truta arco-íris (*O. mykiss*). A digestibilidade aparente de fósforo em dietas pela tilápia do Nilo é melhorada com suplementação de 1.000 unidades de fitase kg^{-1} de dieta, quando a dieta for à base de ingredientes de origem vegetal (Gonçalves et al., 2007).

A suplementação de cálcio e fósforo em dietas para larvas de truta arco-íris (*O. mykiss*) não melhora a deposição desses minerais no tecido e não têm influência no desempenho produtivo, tendo como resultado aumento na excreção fecal dos minerais (Fontagné et al., 2009). No entanto, os autores salientaram que houve maior ossificação nas larvas arraçadas com as dietas suplementadas com cálcio e fósforo em relação à dieta com ausência de suplementação.

Alimentos vegetais, a exemplo do farelo de soja, apresentam cerca de 60% do fósforo na forma de fitato (Sajjadi e Carter, 2004), portanto, nestas condições o peixe não o absorve, pois não possuem a enzima fitase no sistema digestório (Jackson et al., 1996; Ketola e Harland, 1993; NRC, 2011). Jackson et al. (1996) observaram máximo crescimento e deposição de fósforo nos ossos do bagre do canal com 500 UFA kg⁻¹ de dieta, para tanto, os autores usaram uma dieta contendo 0,19% de fósforo disponível (0,60% de fósforo total) com suplementação de níveis crescentes de fitase (0, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 UFA kg⁻¹ de dieta), além de relatarem redução de 33,0% na excreção de fósforo com a suplementação de fitase em relação à dieta controle. Assim, a suplementação de fitase nas dietas promove a desfosforilação do fósforo fítico aumentando sua disponibilidade.

Bock et al. (2007) avaliaram a adição de níveis de fitase (1.000, 1.500 e 2.000 UF kg⁻¹ de dieta) em dietas à base de alimentos de origem vegetal e relataram que a adição da enzima na dieta pode diminuir a necessidade de inclusão de fósforo inorgânico em dietas para peixes. Gonçalves et al. (2005) avaliaram a suplementação de níveis de 0, 1.000 e 2.000 UFA kg⁻¹ de dieta sobre a disponibilidade de minerais (magnésio, cálcio, zinco, cobre, manganês e ferro) em alimentos de origem vegetal, tanto energéticos quanto proteicos, utilizados em dietas para a tilápia do Nilo. Os autores supracitados relatam que a suplementação de fitase nas dietas aumentou a disponibilidade de magnésio, cobre, zinco e manganês dos alimentos avaliados para a tilápia do Nilo.

Maior ganho de peso e retenção de nitrogênio e fósforo na carcaça de truta arco-íris com suplementação de fitase foram relatados por Cain e Garling (1995). Vielma et al. (1998) avaliaram dietas a base de soja contendo 1.500 UFA kg⁻¹, para juvenis de truta arco-íris. Os autores observaram maior ganho de peso e disponibilidade de fósforo, assim como aumento na retenção de magnésio e zinco na carcaça dos animais. Lanari et al. (1998) afirmam que a suplementação de fitase em dietas para truta arco-íris resulta na melhora da disponibilidade de fósforo e redução em sua excreção. A suplementação de fitase em dietas para o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) promove melhora na digestibilidade da proteína, disponibilidade do fósforo e diminuição na excreção de fósforo para o meio ambiente (Storebakken et al., 1998).

Dietas à base de farelo de soja para truta arco-íris (*O. mykiss*) com suplementação de 1.000 UF kg⁻¹ de dieta promove maior eficiência alimentar, disponibilidade e utilização do fósforo (Rodehutschord e Pfeffer, 1995).

Schäfer et al. (1995), em estudo com a carpa comum (*Cyprinus carpio*), não observaram influência no desempenho produtivo, na digestibilidade da proteína, do extrato etéreo e da energia com a adição de fitase na dieta, no entanto, houve redução na excreção de fósforo no ambiente. Striped bass (*Morone saxatilis*) arraçoados com dietas com suplementação de fitase e tendo como base o farelo de trigo, farelo de soja e trigo apresentou melhora na disponibilidade de fósforo (Hughes, 1998). Mesmo com a suplementação de fitase nas dietas não ocorre a hidrólise do ácido fítico por completo e, portanto, parte considerável do fósforo na forma de fósforo fítico permanecerá indisponível, mesmo com altas doses de suplementação de fitase nas dietas (Maenz et al., 1999).

3 REFERÊNCIAS

- Abbas, S., Ahmed, I., Hafeez-ur-Rehman, M., Mateen, A., 2008. Replacement of fish meal by canola meal in diets for major carps in. Pak. Vet. J. 28, 111–114.
- Abebe, Y., Bogale, A., Hambidge, K.M., Stoecker, B.J., Bailey, K., Gibson, R.S., 2007. Phytate, zinc, iron and calcium content of selected raw and prepared feeds consumed in rural Sidama, Southern Ethiopia, and implications for bioavailability. J. Feed Compos. Anal. 20, 161–168. doi:10.1016/j.jfca.2006.09.003
- Adesina, S.A., Falaye, A.E., Olusola, S.E., Ajani, E.K., 2013. Growth performance and nutrient utilisation of *Clarias gariepinus* juveniles fed graded levels of boiled sunflower (*Helianthus annuus* L) seed meal-based diets. Wudpecker J. Agric. Res. 2, 342–351.
- Agostinho, A.A., Gomes, L.C., 1997. Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo. Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Ai, Q., Xie, X., 2005. Effects of Replacement of Fish Meal by Soybean Meal and Supplementation of Methionine in Fish Meal/Soybean Meal-based Diets on Growth Performance of the Southern Catfish *Silurus meridionalis*. J. World Aquac. Soc. 36, 498–507. doi:10.1111/j.1749-7345.2005.tb00397.x
- Almeida, M.V. De, Silva, A.D. da, Souza, M.V.N. de, Benício, A.A.A., 2003. A cascata dos fosfoinositídeos. Quim. Nova 26, 105–111. doi:10.1590/S0100-40422003000100018
- Antolović, N., Kožul, V., Antolović, M., Bolotin, J., 2012. Effects of Partial Replacement of Fish Meal by Soybean Meal on Growth of Juvenile *Saddled Bream* (Sparidae). Turkish J. Fish. Aquat. Sci. 12, 247–252. doi:10.4194/1303-2712-v12_2_08
- Atakora, J.K. a., Moehn, S., Sands, J.S., Ball, R.O., 2011. Effects of dietary crude protein and phytase–xylanase supplementation of wheat grain based diets on energy metabolism and enteric methane in growing finishing pigs. Anim. Feed Sci. Technol. 166-167, 422–429. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.04.030
- Atkinson, J.L., Hilton, J.W., Slinger, S.J., 1984. Evaluation of Acid-Insoluble Ash as an Indicator of Feed Digestibility in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41, 1384–1386. doi:10.1139/f84-170
- Austreng, E., 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. Aquaculture 13, 265–272. doi:10.1016/0044-8486(78)90008-X
- Baker, D.H., 1991. Bioavalilability of minerals and vitamins, in: Miller, E.R., Ullrey, D.E., A.J., L. (Eds.), Swine Nutrition. Butterworth-Heinemann, Stoneham, pp. 341–359.
- Baldisserotto, B., 2009. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, 2.ed. Editora da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

- Baldisserotto, B., Radünz-Neto, J., 2005. Jundiá (*Rhamdia quelen*), in: Baldisserotto, B., Gomes, L.C. (Eds.), *Espécies Nativas Para Piscicultura No Brasil*. Editora da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 303–325.
- Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., Quevedo, R.M., Fioreze, I., Cericato, L., Soso, A.B., Fagundes, M., Conrad, J., Baldissera, R.K., Bruschi, A., Ritter, F., 2004. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture* 232, 383–394. doi:10.1016/S0044-8486(03)00545-3
- Baruah, K., Sahu, N.P., Pal, A.K., Jain, K.K., Debnath, D., Mukherjee, S.C., 2007. Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. *Aquac. Res.* 38, 070116074017002. doi:10.1111/j.1365-2109.2006.01624.x
- Belal, I.E.H., 2005. A review of some fish nutrition methodologies. *Bioresour. Technol.* 96, 395–402. doi:10.1016/j.biortech.2003.11.030
- Bell, J.M., 1993. Factors affecting the nutritional value of canola meal: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 73, 689–697. doi:10.4141/cjas93-075
- Bell, J.M., Keith, M.O., 1991. A survey of variation in the chemical composition of commercial canola meal produced in Western Canadian crushing plants. *Can. J. Anim. Sci.* 71, 469–480. doi:10.4141/cjas91-056
- Benevides, C.M. de J., Souza, M.V., Souza, R.D.B., Lopes, M.V., 2011. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. *Segurança Aliment. E Nutr.* 18, 67–79.
- Bergamin, G.T., Martinelli, S.G., Della Flora, M.A.L., Pedron, F. de A., Silva, L.P. da, Radünz Neto, J., 2011. Fontes protéicas vegetais na alimentação da carpa húngara. *Ciência Rural* 41, 1660–1666. doi:10.1590/S0103-84782011000900028
- Bergamin, G.T., Veiverberg, C.A., Siqueira, L.V., Eggers, D.P., Radünz Neto, J., 2013. Digestibilidade aparente de farelos vegetais tratados para remoção de antinutrientes em dietas para jundiá. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 928–934. doi:10.1590/S0100-204X2013000800017
- Bilgüven, M., Barış, M., 2011. Effects of the Feeds Containing Different Plant Protein Sources on Growth Performance and Body Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 350, 345–350. doi:10.4194/1303-2712-v11
- Biswas, A.K., Kaku, H., Ji, S.C., Seoka, M., Takii, K., 2007. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 267, 284–291. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.01.014
- Bock, C.L., Pezzato, L.E., Cantelmo, O.A., Barros, M.M., 2007. Fitase em rações para tilápia-do-nilo na fase de crescimento. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 1455–1461. doi:10.1590/S1516-35982007000700001

- Bureau, D., Harris, A., Cho, C., 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 180, 345–358. doi:10.1016/S0044-8486(99)00210-0
- Burr, G.S., Wolters, W.R., Barrows, F.T., Donkin, A.W., 2013. Evaluation of a canola protein concentrate as a replacement for fishmeal and poultry by-product meal in a commercial production diet for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Int. Aquat. Res.* 5, 1–8.
- Cain, K.D., Garling, D.L., 1995. Pretreatment of Soybean Meal with Phytase for Salmonid Diets to Reduce Phosphorus Concentrations in Hatchery Effluents. *Progress. Fish-Culturist* 57, 114–119. doi:10.1577/1548-8640(1995)0572.3.CO;2
- Caldwell, R.A., 1992. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. *J. Agric. Feed Chem.* 40, 43–46. doi:10.1021/jf00013a008
- Canton, R., Weingartner, M., Fracalossi, D.M., Zaniboni Filho, E., 2007. Influência da frequência alimentar no desempenho de juvenis de jundiá. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 749–753. doi:10.1590/S1516-35982007000400001
- Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z., Li, D., 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 497–507. doi:10.1016/j.enzmictec.2007.01.007
- Carneiro, P.C.F., Bendhack, F., Mikos, J., Schorer, M., Oliveira-Filho, P., Baldisserotto, B., Golombieski, J.I., Silva, L.V.F., Miron, D., Esquivel, B.M., Garcia, J.R.E., 2002. Jundiá: um grande peixe para a região Sul. *Panor. da Aquicultura* 12, 41–46.
- Casey, A., Walsh, G., 2004. Identification and characterization of a phytase of potential commercial interest. *J. Biotechnol.* 110, 313–322. doi:10.1016/j.jbiotec.2004.03.001
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W., 2002. Effect of microbial phytase on apparent nutrient digestibility of barley, canola meal, wheat and wheat middlings, measured in vivo using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* 8, 271–277. doi:10.1046/j.1365-2095.2002.00219.x
- Cheryan, M., 1980. Phytic acid interactions in feed systems. *Crit. Rev. Feed Sci. Nutr.* 13, 297–335. doi:10.1080/10408398009527293
- Cho, C.Y., Slinger, S.I., 1979. Apparent digestibility measurements in feedstuffs for rainbow trout, in: Halver, J.E., Tiews, K. (Eds.), *Finfish Nutrition and Fish Feed Technology*. Heenemann Verlagsgesellschaft, Berlin, pp. 234–247.
- Classen, H.L., 1996. Enzymes in action. *Feed Mix* 4, 22–28.
- Cowieson, A.J., Bedford, M.R., Selle, P.H., Ravindran, V., 2009. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *Worlds. Poult. Sci. J.* 65, 401. doi:10.1017/S0043933909000294

- Cowling, W.A., 2007. Genetic diversity in Australian canola and implications for crop breeding for changing future environments. *F. Crop. Res.* 104, 103–111. doi:10.1016/j.fcr.2006.12.014
- Cúneo, F., Amaya-Farfan, J., Carraro, F., 2000. Distribuição dos fitatos em farelo de arroz estabilizado e tratado com fitase exógena. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 20, 94–98. doi:10.1590/S0101-20612000000100018
- Cyrino, J.E.P., Bicudo, Á.J. de A., Sado, R.Y., Borghesi, R., Dairik, J.K., 2010. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 68–87. doi:10.1590/S1516-35982010001300009
- Davies, S.J., McConnell, S., Bateson, R.I., 1990. Potential of rapeseed meal as an alternative protein source in complete diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters). *Aquaculture* 87, 145–154. doi:10.1016/0044-8486(90)90271-N
- Debnath, D., Pal, A.K., Sahu, N.P., Jain, K.K., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. *Aquac. Res.* 36, 180–187. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01203.x
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W., Liufu, Z., 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 258, 503–513. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.04.004
- Downey, R.K., Bell, J.M., 1995. New Developments in Canola Research, in: Fereidoon Shahidi (Ed.), *Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*. Springer US, New York, pp. 37–46.
- El-Saidy, D.M.S.D., Gaber, M.M.A., 2003. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. *Aquac. Res.* 34, 1119–1127. doi:10.1046/j.1365-2109.2003.00914.x
- Enami, H.R., 2011. A Review of Using Canola/Rapeseed Meal in Aquaculture Feeding. *J. Fish. Aquat. Sci.* 6, 22–36. doi:10.3923/jfas.2011.22.36
- Engelen, A.J., van der Heeft, F.C., Randsdorp, P.H., Smit, E.L., 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. *J. AOAC Int.* 77, 760–764.
- Fabregat, T.E.H.P., Pereira, T.S., Boscolo, C.N., Alvarado, J.D., Fernandes, J.B.K., 2011. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. *Bol. do Inst. Pesca* 37, 289–294.
- FAO, 2014. *The State of the World Fisheries and Aquaculture 2014*. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Feed and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy (209 pp.).

- Faria, A.C.E.A. de, Hayashi, C., Soares, C.M., 2001. Substituição parcial e total da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para alevinos de piavuçu , *Leporinus macrocephalus*. *Acta Sci.* 23, 835–840.
- Fontagné, S., Silva, N., Bazin, D., Ramos, A., Aguirre, P., Surget, A., Abrantes, A., Kaushik, S.J., Power, D.M., 2009. Effects of dietary phosphorus and calcium level on growth and skeletal development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Aquaculture* 297, 141–150. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.09.022
- Forbes, R.M., Parker, H.M., Erdman, J.W., 1984. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. *J. Nutr.* 114, 1421–5.
- Fortes-Silva, R., Martínez, F.J., Sánchez-Vázquez, F.J., 2011. Macronutrient selection in Nile tilapia fed gelatin capsules and challenged with protein dilution/restriction. *Physiol. Behav.* 102, 356–60. doi:10.1016/j.physbeh.2010.11.036
- Fracalossi, D.M., Borba, M.R. de, Oliveira-Filho, P.R.C. de, Montes-Girao, P.J., Canton, R., 2007. O mito da onivoria do jundiá. *Pak. Vet. J.* 17, 36–40.
- Fracalossi, D.M., Meyer, G., Santamaria, F.M., Weingartner, M., Zaniboni Filho, E., 2004. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. *Acta Sci. Anim. Sci.* 26, 345–352. doi:10.4025/actascianimsci.v26i3.1806
- Fracalossi, D.M., Zaniboni-Filho, E., Meurer, S., 2002. No rastro das espécies nativas. *Panor. da Aquicultura* 12, 43–49.
- Fredlund, K., Isaksson, M., Rossander-Hulthén, L., Almgren, A., Sandberg, A.-S., 2006. Absorption of zinc and retention of calcium: dose-dependent inhibition by phytate. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 20, 49–57. doi:10.1016/j.jtemb.2006.01.003
- Freitas, J.M.A. de, Sary, C., Luchesi, J.D., Feiden, A., Boscolo, W.R., 2011. Proteína e energia na dieta de jundiás criados em tanques-rede. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 2628–2633. doi:10.1590/S1516-35982011001200002
- Freitas, L.E.L., Nunes, A.J.P., do Carmo Sá, M.V., 2011. Growth and feeding responses of the mutton snapper, *Lutjanus analis* (Cuvier 1828), fed on diets with soy protein concentrate in replacement of Anchovy fish meal. *Aquac. Res.* 42, 866–877. doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02793.x
- Gaiotto, J.R., Macedo-Viegas, E.M., Fernandes, T.R., 2004. Farelo de canola para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem Chitralada. *Acta Sci. Anim. Sci.* 26, 15–19. doi:10.4025/actascianimsci.v26i1.1896
- Garcia, L.D.O., Becker, A.G., Cunha, M. a., Baldisserotto, B., Copatti, C.E., Kochhann, D., 2011. Effects of Water pH and Hardness on Infection of Silver Catfish, *Rhamdia quelen*, Fingerlings by *Ichthyophthirius multifiliis*. *J. World Aquac. Soc.* 42, 399–405. doi:10.1111/j.1749-7345.2011.00479.x

- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., J Souza, E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.* 38, 551–579. doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x
- Gatlin, D.M., Phillips, H.F., 1989. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. *Aquaculture* 79, 259–266. doi:10.1016/0044-8486(89)90466-3
- Gill, N., Higgs, D.A., Skura, B.J., Rowshandeli, M., Dosanjh, B.S., Mann, J., Gannam, A.L., 2006. Nutritive value of partially dehulled and extruded sunflower meal for post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in sea water. *Aquac. Res.* 37, 1348–1359. doi:10.1111/j.1365-2109.2006.01567.x
- Glencross, B., Hawkins, W., Curnow, J., 2004. Nutritional assessment of Australian canola meals. I. Evaluation of canola oil extraction method and meal processing conditions on the digestible value of canola meals fed to the red seabream (*Pagrus auratus*, Paulin). *Aquac. Res.* 35, 15–24. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.00974.x
- Glover, C.N., Hogstrand, C., 2002. In vivo characterisation of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 205, 141–50.
- Glover, C.N., Hogstrand, C., 2003. Effects of dissolved metals and other hydrominerals on in vivo intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 62, 281–93.
- Gomes, L. de C., Golombieski, J.I., Gomes, A.R.C., Baldisserotto, B., 2000. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). *Ciência Rural* 30, 179–185. doi:10.1590/S0103-84782000000100029
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Kleeman, G.K., Rocha, D.F., 2005. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia-do-nylo. *Rev. Bras. Zootec.* 34, 2155–2163. doi:10.1590/S1516-35982005000700001
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Padilha, P.D.M., Barros, M.M., 2007. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nylo. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 1473–1480. doi:10.1590/S1516-35982007000700003
- Hajen, W.E., Beames, R.M., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., 1993. Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. 1. Validation of technique. *Aquaculture* 112, 321–332. doi:10.1016/0044-8486(93)90393-D
- Hardy, R.W., 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac. Res.* 41, 770–776. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x
- Hardy, R.W., Sullivan, C. V, 1983. Canola Meal in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Production Diets. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40, 281–286. doi:10.1139/f83-042

- Hernández, M.D., Martínez, F.J., Jover, M., García García, B., 2007. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture* 263, 159–167. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.07.040
- Hertrampf, J.W., Piedad-Pascual, F., 2000. Handbook on ingredients for aquaculture feeds. Springer Science & Business Media.
- Hillestad, M., Åsgård, T., Berge, G.M., 1999. Determination of digestibility of commercial salmon feeds. *Aquaculture* 179, 81–94. doi:10.1016/S0044-8486(99)00154-4
- Hosseini, S.A., Khajepour, F., 2013. Effect of partial replacement of dietary fish meal with soybean meal on some hematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga, *Huso huso*. *Iran. J. Fish. Sci.* 12, 348–356.
- Hughes, K.P., 1998. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. *Aquac. Nutr.* 4, 133–140. doi:10.1046/j.1365-2095.1998.00057.x
- Ingenito, L.F. da S., Duboc, L.F., Abilhoa, V., 2004. Contribuição ao conhecimento da ictiofauna do alto rio Iguaçu, Paraná, Brasil. *Arq. Ciências Veterinárias e Zool. da UNIPAR* 7, 23–36.
- Jackson, L.S., Li, M.H., Robinson, E.H., 1996. Use of Microbial Phytase in Channel Catfish *Ictalurus punctatus* Diets to Improve Utilization of Phytate Phosphorus. *J. World Aquac. Soc.* 27, 309–313. doi:10.1111/j.1749-7345.1996.tb00613.x
- Jahan, P., Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 2003. Improved carp diets based on plant protein sources reduce environmental phosphorus loading. *Fish. Sci.* 69, 219–225. doi:10.1046/j.1444-2906.2003.00611.x
- Jermutus, L., Tessier, M., Pasamontes, L., van Loon, a P., Lehmann, M., 2001. Structure-based chimeric enzymes as an alternative to directed enzyme evolution: phytase as a test case. *J. Biotechnol.* 85, 15–24.
- Jongbloed, a. W., van Diepen, J.T.M., Kemme, P. a., Broz, J., 2004. Efficacy of microbial phytase on mineral digestibility in diets for gestating and lactating sows. *Livest. Prod. Sci.* 91, 143–155. doi:10.1016/j.livprodsci.2004.07.017
- Juanpere, J., Pérez-Vendrell, a. ., Brufau, J., 2004. Effect of microbial phytase on broilers fed barley-based diets in the presence or not of endogenous phytase. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115, 265–279. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.02.002
- Kaushik, S.J., Seiliez, I., 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquac. Res.* 41, 322–332. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x
- Ketola, H.G., Harland, B.F., 1993. Influence of Phosphorus in Rainbow Trout Diets on Phosphorus Discharges in Effluent Water. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122, 1120–1126. doi:10.1577/1548-8659(1993)122<1120:IOPIRT>2.3.CO;2

- Kitagima, R.E., Fracalossi, D.M., 2010. Validation of a methodology for measuring nutrient digestibility and evaluation of commercial feeds for channel catfish. *Sci. Agric.* 67, 611–615. doi:10.1590/S0103-90162010000500016
- Kitagima, R.E., Fracalossi, D.M., 2011. Digestibility of Alternative Protein-Rich Feedstuffs for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquac. Soc.* 42, 306–312. doi:10.1111/j.1749-7345.2011.00468.x
- Kramer, D.L., Bryant, M.J., 1995. Intestine length in the fishes of a tropical stream: 2. Relationships to diet - the long and short of a convoluted issue Donald. *Environ. Biol. Fishes* 42, 129–141.
- Krogdahl, A., Hemre, G.-I., Mommsen, T.P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquac. Nutr.* 11, 103–122. doi:10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x
- Krogdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S., Bakke, A.M., 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquac. Res.* 41, 333–344. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02426.x
- Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Feed Chem.* 120, 945–959. doi:10.1016/j.feedchem.2009.11.052
- Lall, S.P., Tibbetts, S.M., 2009. Nutrition, feeding, and behavior of fish. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 12, 361–72, xi. doi:10.1016/j.cvex.2009.01.005
- Lanari, D., D'Agaro, E., Turri, C., 1998. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 161, 345–356. doi:10.1016/S0044-8486(97)00282-2
- Lei, X.G., Porres, J.M., 2003. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnol. Lett.* 25, 1787–94.
- Li, M.H., Oberle, D.F., Lucas, P.M., 2013. Apparent digestibility of alternative plant-protein feedstuffs for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquac. Res.* 44, 282–288. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.03035.x
- Liao, H.-J., Chen, Y.-H., Jeng, S.-S., 2006. Association of zinc with connective tissue in the digestive tract of common carp. *Fish. Sci.* 72, 893–902. doi:10.1111/j.1444-2906.2006.01233.x
- Liebert, F., Portz, L., 2005. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. *Aquaculture* 248, 111–119. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.04.009
- Lied, E., Julshamn, K., Braekkan, O.R., 1982. Determination of Protein Digestibility in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) with Internal and External Indicators. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39, 854–861. doi:10.1139/f82-116

- Lima, M.R. De, Ludke, M.D.C.M.M., Porto Neto, F.D.F., Pinto, B.W.C., Torres, T.R., Souza, E.J.O. de, 2011. Farelo de resíduo de manga para tilápia do Nilo. *Acta Sci. Anim. Sci.* 33, 65–71. doi:10.4025/actascianimsci.v33i1.10247
- Lima, M.R., Ludke, M. do C.M.M., Holanda, M.C.R., Pinto, B.W.C., Ludke, J.V., Santos, E.L., 2012. Performance and digestibility of Nile tilapia fed with pineapple residue bran. *Acta Sci. Anim. Sci.* 34, 41–47. doi:10.4025/actascianimsci.v34i1.12083
- Liu, B., Rafiq, A., Tzeng, Y., Rob, A., 1998. The Induction and Characterization of Phytase and Beyond. *Enzyme Microb. Technol.* 22, 415–424. doi:10.1016/S0141-0229(97)00210-X
- Luo, Z., Liu, C.-X., Wen, H., 2012. Effect of Dietary Fish Meal Replacement by Canola Meal on Growth Performance and Hepatic Intermediary Metabolism of Genetically Improved Farmed Tilapia Strain of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Reared in Fresh Water. *J. World Aquac. Soc.* 43, 670–678. doi:10.1111/j.1749-7345.2012.00601.x
- Maenz, D.D., Irish, G.G., Classen, H.L., 1999. Carbohydrate-binding and agglutinating lectins in raw and processed soybean meals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 335–343. doi:10.1016/S0377-8401(98)00215-6
- Maffezzoli, G., Nuñez, A.P. de O., 2006. Crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (*Pisces, Pimelodidae*), em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. *Acta Sci. Biol. Sci.* 28, 41–45. doi:10.4025/actascibiolsoci.v28i1.1057
- Martinez, C.A., 1986. Advances in the substitution of fish meal and soybean meal by sunflower meal in diets of rainbow trout (*salmo gairdneri* L.). *An. del Inst. ciencias del mar y Limnol.* 12, 345–352.
- Masuda, T., Goldsmith, P.D., 2009. World Soybean Production : Area Harvested , Yield , and Long-Term Projections. *Int. Feed Agribus. Manag. Rev.* 12, 143–162.
- Melo, J.F.B., Radünz Neto, J., Silva, J.H.S. da, Trombetta, C.G., 2002. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. *Ciência Rural* 32, 323–327. doi:10.1590/S0103-84782002000200023
- Meyer, G., Fracalossi, D.M., 2004. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. *Aquaculture* 240, 331–343. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.01.034
- Mitchikpe, E.C.S., Dossa, R.A.M., Ategbo, E.D., van Raaij, J.M.A., Hulshof, P.J.M., Kok, F.J., 2008. The supply of bioavailable iron and zinc may be affected by phytate in Beninese children. *J. Feed Compos. Anal.* 21, 17–25. doi:10.1016/j.jfca.2007.06.006
- Morales, A., Cardenete, G., Sanz, A., de la Higuera, M., 1999. Re-evaluation of crude fibre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 179, 71–79. doi:10.1016/S0044-8486(99)00153-2

- Moreira, J.A., Lopes, J.B., Vitti, D.M.S.S., Teixeira, A.O., 2009. Modelos matemáticos para o estudo do fluxo biológico do fósforo em suínos alimentados com dietas suplementadas com níveis crescentes de fitase. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 61, 420–428. doi:10.1590/S0102-09352009000200020
- Moriarty, D.J.W., 1973. The physiology of digestion of blue-green algae in the cichlid fish, *Tilapia nilotica*. *J. Zool.* 171, 25–39. doi:10.1111/j.1469-7998.1973.tb07514.x
- Moro, G.V., Camilo, R.Y., Moraes, G., Fracalossi, D.M., 2010. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutrient utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. *Aquac. Res.* 41, 394–400. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02352.x
- MPA, 2012. Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA).
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldburg, R.J., Hua, K., Nichols, P.D., 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 15103–15110. doi:10.1073/pnas.0910577106
- Nose, T., 1960. On the digestion of feed protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). *Bull. Freshw. Fish Res. Lab.* 10, 11–22.
- NRC, 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington, DC, USA.
- Oberleas, D., 1973. Phytates, Toxicants Occurring Naturally in Feeds. National Academy of Sciences, Washington.
- Oliveira Filho, P.R.C. de, Fracalossi, D.M., 2006. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 1581–1587. doi:10.1590/S1516-35982006000600002
- Olvera-Novoa, M.A., Olivera-Castillo, L., Martinez-Palacios, C.A., 2002. Sunflower seed meal as a protein source in diets for *Tilapia rendalli* (Boulanger, 1896) fingerlings. *Aquac. Res.* 33, 223–229. doi:10.1046/j.1365-2109.2002.00666.x
- Overturf, K., Raboy, V., Cheng, Z.J., Hardy, R.W., 2003. Mineral availability from barley low phytic acid grains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquac. Nutr.* 9, 239–246. doi:10.1046/j.1365-2095.2003.00249.x
- Papatryphon, E., Howell, R.A., Soares, J.H., 1999. Growth and Mineral Absorption by Striped Bass *Morone saxatilis* Fed a Plant Feedstuff Based Diet Supplemented with Phytase. *J. World Aquac. Soc.* 30, 161–173. doi:10.1111/j.1749-7345.1999.tb00863.x
- Pastore, S.C.G., Gaiotto, J.R., Ribeiro, F. de A.S., Nunes, A.J.P., 2013. Formulação de Rações e Boas Práticas de Fabricação, in: Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. (Eds.), *Nutriaqua: Nutrição E Alimentação de Espécies de Interesse Para a Aquicultura Brasileira*. Gráfica e Editora Copiart Ltda, Florianópolis, pp. 295–345.

- Pezzato, L. E. Alimentos convencionais e nãoconvencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: Simpósio Internacional Sobre Nutrição De Peixes E Crustáceos, 1995, Campos do Jordão. Anais... Campos do Jordão: SINPC, 1995.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C. De, Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M., Pezzato, A.C., 2002. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Rev. Bras. Zootec. 31, 1595–1604. doi:10.1590/S1516-35982002000700001
- Phumee, P., Wei, W.Y., Ramachandran, S., Hashim, R., 2011. Evaluation of soybean meal in the formulated diets for juvenile *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878). Aquac. Nutr. 17, 214–222. doi:10.1111/j.1365-2095.2009.00729.x
- Pimenta, C.J., Oliveira, M.M., Ferreira, L.O., Pimenta, M.E.S.G., Logato, P.V.R., Leal, R.S., Murgas, L.D.S., 2011. Aproveitamento do resíduo do café na alimentação de tilápia do Nilo. Arch. Zootec. 60, 583–593. doi:10.4321/S0004-05922011000300047
- Pizzolante, C.C., 2000. Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte. Universidade Federal de Lavras.
- Quirrenbach, H.R., Kanumfre, F., Rosso, N.D., Carvalho Filho, M.A., 2009. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III). Ciência e Tecnol. Aliment. 29, 24–32. doi:10.1590/S0101-20612009000100005
- Rama Rao, S.V., Raju, M.V.L.N., Reddy, M.R., 2007. Performance of broiler chicks fed high levels of cholecalciferol in diets containing sub-optimal levels of calcium and non-phytate phosphorus. Anim. Feed Sci. Technol. 134, 77–88. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.05.006
- Reddy, N.R., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K., 1982. Phytates in legumes and cereals. Adv. Feed Res. 28, 1–92.
- Refstie, S., Helland, S.J., Storebakken, T., 1997. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 153, 263–272. doi:10.1016/S0044-8486(97)00025-2
- Refstie, S., Storebakken, T., Roem, A.J., 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. Aquaculture 162, 301–312. doi:10.1016/S0044-8486(98)00222-1
- Rehman, T., Asad, F., Qureshi, N.A., Iqbal, S., 2013. Effect of plant feed ingredients (soybean and sunflower meal) on the growth and body composition of *Labeo rohita*. Am. J. Life Sci. 1, 125–129. doi:10.11648/j.ajls.20130103.18
- Reidel, A., Romagosa, E., Feiden, A., Boscolo, W.R., Coldebella, A., Signor, A.A., 2010. Rendimento corporal e composição química de jundiás alimentados com diferentes níveis de proteína e energia na dieta, criados em tanques-rede. Rev. Bras. Zootec. 39, 233–240. doi:10.1590/S1516-35982010000200001

- Riche, M., Brown, P.B., 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 142, 269–282. doi:10.1016/0044-8486(95)01218-4
- Riche, M., White, M.R., Brown, P.B., 1995. Barium carbonate as an alternative indicator to chromic oxide for use in digestibility experiments with rainbow trout. *Nutr. Res.* 15, 1323–1331. doi:10.1016/0271-5317(95)02007-I
- Rocha, C.B., Pouey, J.L.O.F., Enke, D.B.S., Xavier, E.G., Almeida, D.B., 2007. Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça. *Ciência Rural* 37, 1772–1778. doi:10.1590/S0103-84782007000600042
- Rocha, C.B., Pouey, J.L.O.F., Lopes, P.R.S., Enke, D.B.S., Xavier, E.G., 2008. Suplementação da enzima fitase e o desempenho e retenção mineral em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Bol. do Inst. Pesca* 34, 151–157.
- Rodehutsord, M., Pfeffer, E., 1995. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Sci. Technol.* 31, 143–147. doi:10.1016/0273-1223(95)00433-N
- Rodrigues, A.P.O., Gominho-Rosa, M.D.C., Cargnin-Ferreira, E., De Francisco, A., Fracalossi, D.M., 2012. Different utilization of plant sources by the omnivores jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* 18, 65–72. doi:10.1111/j.1365-2095.2011.00877.x
- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; de Oliveira, R.F.; Lopes, D.C.; Ferreira, A.S.; Barreto, S.L.T.; Euclides, R., 2011. Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais, 3rd ed. Universidade Federal de Viçosa.
- Sá, M.V., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Padilha, P.M., 2005. Relative bioavailability of zinc in supplemental inorganic and organic sources for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Aquac. Nutr.* 11, 273–281. doi:10.1111/j.1365-2095.2005.00352.x
- Sajjadi, M., Carter, C.G., 2004. Dietary phytase supplementation and the utilisation of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. *Aquaculture* 240, 417–431. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.07.003
- Sajjadi, M., Carter, C.G., 2004. Effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Aquac. Nutr.* 10, 135–142. doi:10.1111/j.1365-2095.2003.00290.x
- Sales, J., Britz, P.J., Viljoen, J., 2003. Dietary phosphorus leaching and apparent phosphorus digestibility from different inorganic phosphorus sources for South African abalone (*Haliotis midae* L.). *Aquac. Nutr.* 9, 169–174. doi:10.1046/j.1365-2095.2003.00238.x
- Salgado, P.R., Drago, S.R., Molina Ortiz, S.E., Petruccelli, S., Andrich, O., González, R.J., Mauri, A.N., 2012. Production and characterization of sunflower (*Helianthus annuus* L.)

- protein-enriched products obtained at pilot plant scale. *LWT - Feed Sci. Technol.* 45, 65–72. doi:10.1016/j.lwt.2011.07.021
- Sandström, B., 2001. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br. J. Nutr.* 85, S181. doi:10.1049/BJN2000312
- Santinón, J.J., Hernández, D.R., Sánchez, S., Domitrovic, H.A., 2010. Duração da larvicultura sobre o desempenho posterior de juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen*, recriados em tanques-rede. *Ciência Rural* 40, 1180–1185. doi:10.1590/S0103-84782010005000077
- Santos, M.A.T. dos, 2006. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócoli, couve-flor e couve. *Ciência e Agrotecnologia* 30, 294–301. doi:10.1590/S1413-70542006000200015
- Schäfer, A., Koppe, W.M., Meyer-Burgdorff, K.-H., Günther, K.D., 1995. Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. *Water Sci. Technol.* 31, 149–155. doi:10.1016/0273-1223(95)00434-O
- Schöne, F., Kirchheim, U., Schumann, W., Lüdke, H., 1996. Apparent digestibility of high-fat rapeseed press cake in growing pigs and effects on feed intake, growth and weight of thyroid and liver. *Anim. Feed Sci. Technol.* 62, 97–110. doi:10.1016/S0377-8401(96)00993-5
- Selle, P.H., Ravindran, V., 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135, 1–41. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010
- Selle, P.H., Walker, A.R., Bryden, W.L., 2003. Total and phytate-phosphorus contents and phytase activity of Australian-sourced feed ingredients for pigs and poultry. *Aust. J. Exp. Agric.* 43, 475. doi:10.1071/EA02155
- Signor, A., Feiden, A., Boscolo, W.R., Signor, A.A., Sary, C., Klein, S., 2013. Eventos reprodutivos do jundiá *Rhamdia voulezi* cultivados em tanques-rede. *Rev. Bras. Reprodução Anim.* 37, 272–277.
- Silva, P.R.F. da, Freitas, T.F.S. de, 2008. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. *Ciência Rural* 38, 843–851. doi:10.1590/S0103-84782008000300044
- Souza, L.S. de, Pouey, J.L.O.F., Camargo, S.O. de, Vaz, B. dos S., 2005. Crescimento e sobrevivência do catfish de canal (*Ictalurus punctatus* sp) e jundiá (*Rhamdia* sp) no outono-inverno do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural* 35, 891–896. doi:10.1590/S0103-84782005000400022
- Spinelli, J., Houle, C.R., Wekell, J.C., 1983. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. *Aquaculture* 30, 71–83. doi:10.1016/0044-8486(83)90153-9
- Steffens, W., 1987. Principios fundamentales de la alimentación de los peces. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza.

- Storebakken, T., Shearer, K., Roem, A., 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 161, 365–379. doi:10.1016/S0044-8486(97)00284-6
- Sugiura, S.H., Dong, F.M., Rathbone, C.K., Hardy, R.W., 1998. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture* 159, 177–202. doi:10.1016/S0044-8486(97)00177-4
- Sugiura, S.H., Raboy, V., Young, K.A., Dong, F.M., Hardy, R.W., 1999. Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 170, 285–296. doi:10.1016/S0044-8486(98)00414-1
- Surek, D., Maiorka, A., Dahlke, F., Opalinski, M., Franco, S.G., Krabbe, E.L., 2008. Uso de fitase em dietas de diferentes granulometrias para frangos de corte na fase inicial. *Ciência Rural* 38, 1725–1729. doi:10.1590/S0103-84782008000600036
- Tacon, A.G.J., Rodrigues, A.M.P., 1984. Comparison of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. *Aquaculture* 43, 391–399. doi:10.1016/0044-8486(84)90247-3
- Takii, K., Kita, E., Nakamura, M., Kumai, H., Yagi, T., 1999. Evaluation of Rapeseed Protein Concentration as Protein Source of Diet for Red Sea Bream. *Fish. Sci.* 65, 150–154. doi:10.2331/fishsci.65.150
- Teskeredžić, Z., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., McBride, J.R., Hardy, R.W., Beames, R.M., Jones, J.D., Simell, M., Vaara, T., Bridges, R.B., 1995. Assessment of undephytinized and dephytinized rapeseed protein concentrate as sources of dietary protein for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 131, 261–277. doi:10.1016/0044-8486(94)00334-K
- Tomas, A., De La Gandara, F., Garcia-Gomez, A., Perez, L., Jover, M., 2005. Utilization of soybean meal as an alternative protein source in the Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerili*. *Aquac. Nutr.* 11, 333–340. doi:10.1111/j.1365-2095.2005.00365.x
- Tomm, G.O., Wiethölter, S., Dalmago, G.A., Santos, H.P. dos, 2009. Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul, Embrapa trigo. Embrapa, Passo Fundo.
- Torrezan, R., Frazier, R.A., Cristianini, M., 2010. Efeito do tratamento sob alta pressão isostática sobre os teores de fitato e inibidor de tripsina de soja. *Bol. Cent. Pesqui. Process. Aliment.* 28, 179–186. doi:10.5380%2Fcep.v28i2.20400
- Tronco, A.P., Neto, J.R., Medeiros, T.D.S., Lima, R.L. De, 2007. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. *Bol. do Inst. Pesca* 33, 9–17.

- Vats, P., Banerjee, U.C., 2004. Production studies and catalytic properties of phytases (*myo*-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. *Enzyme Microb. Technol.* 35, 3–14. doi:10.1016/j.enzmictec.2004.03.010
- Viegas, E.M.M., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., Malheiros, E.B., 2008. Farelo de canola em dietas para o pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1987): efeitos sobre o crescimento e a composição corporal. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 60, 1502–1510. doi:10.1590/S0102-09352008000600029
- Vielma, J., Lall, S.P., Koskela, J., Schöner, F.-J., Mattila, P., 1998. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 163, 309–323. doi:10.1016/S0044-8486(98)00240-3
- Villamide, M.J., San Juan, L.D., 1998. Effect of chemical composition of sunflower seed meal on its true metabolizable energy and amino acid digestibility. *Poult. Sci.* 77, 1884–1892. doi:10.1093/ps/77.12.1884
- Wang, F., Yang, Y.-H., Han, Z.-Z., Dong, H.-W., Yang, C.-H., Zou, Z.-Y., 2009. Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquac. Int.* 17, 143–157. doi:10.1007/s10499-008-9187-5
- Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* 151, 185–207. doi:10.1016/S0044-8486(96)01503-7
- Watanabe, T., Ohta, M., 1995. Digestible and Metabolizable Energy of Various Diets for Carp and Rainbow Trout. *Fish. Sci.* 61, 215–222.
- Weatherup, R.N., McCracken, K.J., 1998. Comparison of estimates of digestibility of two diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), using two markers and two methods of faeces collection. *Aquac. Res.* 29, 527–533. doi:10.1046/j.1365-2109.1998.00240.x
- Wilson, R.P., Poe, W.E., 1985. Apparent Digestible Protein and Energy Coefficients of Common Feed Ingredients for Channel Catfish. *Progress. Fish-Culturist* 47, 154–158. doi:10.1577/1548-8640(1985)47<154:ADPAEC>2.0.CO;2
- Windell, J.T., Foltz, J.W., Sarokon, J.A., 1978. Methods of Fecal Collection and Nutrient Leaching in Digestibility Studies. *Progress. Fish-Culturist* 40, 51–55. doi:10.1577/1548-8659(1978)40[51:MOFCAN]2.0.CO;2
- Xu, Y., Liu, X., Prestwich, G.D., 2005. Synthesis of phosphatase-resistant analogues of phytic acid (InsP6). *Tetrahedron Lett.* 46, 8311–8314. doi:10.1016/j.tetlet.2005.09.175
- Yi, Z., Kornegay, E.T., Ravindran, V., Denbow, D.M., 1996. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. *Poult. Sci.* 75, 240–9.

- Yiğit, N.Ö., Koca, S.B., Bayrak, H., Dulluç, A., Diler, İ., 2012. Effects of canola meal on growth and digestion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Turkish J. Vet. Anim. Sci. 36, 533–538. doi:10.3906/vet-1101-705
- Yigit, N.O., Olmez, M., 2009. Canola Meal as an Alternative Protein Source in Diets for Fry of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Isr. J. Aquac. – Bamidgeh 61, 35–41.
- Zhou, Q.-C., Mai, K.-S., Tan, B.-P., Liu, Y.-J., 2005. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquac. Nutr. 11, 175–182. doi:10.1111/j.1365-2095.2005.00335.x

CAPÍTULO I

Fitase na digestibilidade de alimentos proteicos vegetais para o jundiá *Rhamdia voulezi*

RESUMO

Neste estudo determinou o efeito da enzima fitase suplementada (1.500 UI de fitase kg⁻¹ de dieta) em dietas para o jundiá (*Rhamdia voulezi*) sobre os parâmetros de digestibilidade aparente, disponibilidade e deposição mineral nos ossos, histologia do intestino e análise centesimal. Foram utilizados 360 jundiás com peso médio de 236,98±54,02 g distribuídos em 24 tanques cilindro-cônicos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e três repetições. Foram avaliados três alimentos proteicos (farelos de soja, canola e girassol) e os tratamentos consistiram na formulação de duas dietas referências e duas dietas testes para cada alimento. Após a mistura dos ingredientes, foi adicionada a fitase em uma repetição de cada dieta, obtendo-se quatro dietas sem e quatro dietas com a suplementação da enzima. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias *Tukey*. Os melhores valores de disponibilidade obtidos foram para o farelo de soja. A dieta referência resultou na maior altura das vilosidades intestinais e o farelo de canola na maior espessura da camada muscular. As composições centesimais apresentaram diferenças ($p < 0,05$). Observou-se que os alimentos proteicos vegetais respondem à ação da fitase de maneira distinta. O farelo de soja apresentou a maior digestibilidade dos nutrientes e a suplementação da fitase melhorou a disponibilidade do cálcio e magnésio das dietas.

Palavras chave: Aquicultura. Enzima. Espécies Nativas. Nutrição.

Phytase on digestibility of plant protein feed for catfish *Rhamdia voulezi*

ABSTRACT

In this study was determined the effect of supplemented phytase enzyme (1500 IU kg⁻¹ diet phytase) in diets for the catfish (*Rhamdia voulezi*) on the apparent digestibility parameters, availability and mineral deposition in bones, intestinal histology and proximate analysis. Were utilized 360 catfishes with weight of 236.98±54.02 g distributed in 24 conical-cylinder tanks. The experimental design was completely randomized with eight treatments and three replications. Were evaluated three protein foods (soybean meal, canola and sunflower) and the treatments consisted in the formulation of two references diets and two diets test for each feed. After mixing the ingredients, the enzyme was added to a repetition of each diet, having four diets with enzyme supplementation and four without. The data were subjected to analysis of variance and Tukey mean comparison test. The best values were available for soybean meal. The reference diet resulted in increased the height on the intestinal villus and canola meal on a major thickness muscular layer. The proximate compositions showed differences (p<0.05). Was observed that the plant protein foods respond to the action of phytase in different way. Soybean meal showed the highest nutrient digestibility and supplementation phytase of improved the availability of dietary calcium and magnesium.

Keywords: Aquaculture. Enzyme. Native Species. Nutrition.

1. Introdução

A farinha de peixe é a fonte protéica mais empregada na formulação de rações para peixes, em função do seu adequado conteúdo de aminoácidos essenciais, por não apresentar fatores antinutricionais e apresentar elevada digestibilidade e palatabilidade (Gatlin III et al., 2007; Kaushik e Seiliez, 2010). No entanto, em razão de seu custo elevado e da reduzida disponibilidade do ingrediente para a aquicultura, busca-se a substituição desse alimento proteico por outros de menor valor, mas que garantam um desempenho produtivo satisfatório (FAO, 2012).

As fontes de proteína de origem vegetal são, em suma, mais baratas e estão disponíveis em altas quantidades em comparação à farinha de peixe (Bergamin et al., 2013). No Brasil, a soja, a canola e o girassol têm sido produzidos em larga escala em virtude de sua

potencialidade para a produção de óleo comestível e combustível (Silva e Freitas, 2008), o que tem elevado a disponibilidade de farelos desses cultivares. No entanto, a utilização de alimentos vegetais é restringida pela presença de substâncias antinutricionais, que podem atuar de forma direta, ou através de seus produtos metabólicos, no aproveitamento dos nutrientes do alimento pelos animais. Dentre os fatores antinutricionais estão os fitatos que é de baixa disponibilidade e estão presentes em concentrações de 0,34; 0,54 e 0,69% no farelo de soja, no farelo de canola e no farelo de girassol, respectivamente (Rostagno et al., 2011; Surek et al., 2008)

Como visto, alimentos vegetais apresentam parte dos fosfatos na forma de fósforo fítico (Riche e Brown, 1996), com capacidade de complexar com cátions, proteínas, lipídeos e amido (Cheryan, 1980), não disponibilizando assim grande parte destes nutrientes para os peixes, uma vez que, segundo Vielma et al. (1998), o intestino dos peixes não apresenta a enzima fitase, uma fosfatase que faz a quebra da molécula do fosfato do fósforo fítico.

A enzima fitase atua no catabolismo das moléculas de fitato, disponibilizando fósforo e outros minerais para absorção, metabolismo e retenção nos ossos (Moreira et al., 2009) e junto com a determinação dos coeficientes de digestibilidade de alimentos usados na elaboração de dietas para peixes, permite a formulação de dietas balanceadas com baixos excedentes de nutrientes ao meio, principalmente nitrogênio e fósforo.

Dentre as espécies nativas brasileiras com potencial para a piscicultura estão as que pertencem ao gênero *Rhamdia*. Entre elas, está o *R. voulezi*, que é uma espécie endêmica da bacia do rio Iguaçu (Freitas et al., 2011). Em ambiente natural, tem preferência por locais mais profundos, como lagos e poços, preferencialmente com águas calmas, abrigando-se entre a vegetação local e possui o hábito de sair à noite a procura de alimento. É considerada por muitos autores como uma espécie onívora com tendência carnívora (Moro et al., 2010) e por esse fato é capaz de aproveitar dietas que apresentam fontes de origem vegetal como seus principais constituintes (Rodrigues et al., 2012). Seu crescimento é rápido em sistema intensivo de cultivo, além de apresentar carne de excelente qualidade com baixo teor de gordura, poucos espinhos, bom rendimento de carcaça e aceitação pelos consumidores (Signor et al., 2013).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a digestibilidade de nutrientes e energia do farelo de soja, farelo de canola e farelo de girassol, com e sem suplementação de fitase em dietas para o jundiá *R. voulezi*.

2. Material e Métodos

2.1. Delineamento experimental

Para a digestibilidade foram utilizados 360 jundiás *R. voulezi* com peso médio de $236,98 \pm 54,02$ g e comprimento médio de $27,39 \pm 2,02$ cm, que foram distribuídos em 24 tanques cônicos com capacidade de 500 litros, providos de um copo coletor na sua parte inferior, para depósito de material fecal, em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (quatro sem e quatro com a suplementação de 1.500 UI kg^{-1} de fitase) e três repetições. A unidade experimental foi considerada um tanque cônico com 15 peixes. A distribuição dos animais foi realizada de forma a minimizar o estresse de manejo.

Dentro de cada tanque cônico foi instalado um tanque rede de formato circular, confeccionado em tela de polietileno, com malha de 2,5 cm entre nós e dimensões de 75,0 cm de altura por 78,0 cm de diâmetro, nos quais foram mantidos os peixes. Estes receberam três refeições até próximo à saciedade, às 11, 14 e 18 horas por um período de 65 dias. À noite, foi acoplado o copo coletor de fezes por gravidade e mantidos até a manhã do dia subsequente, quando foram realizadas as coletas das fezes.

Os tanques cônicos permaneceram interligados em um mesmo sistema de recirculação com filtragem biológica da água, durante todo o período experimental. O sistema de recirculação de água é constituído por uma caixa de fibra de vidro com capacidade para 1.000L, onde foi instalado um termostato de 300 watts, regulado para manter a temperatura da água em $24,0 \text{ }^\circ\text{C}$. O bombeamento da água para o sistema foi realizado por meio de bomba d'água de alta pressão.

2.2. Avaliação do pH intestinal

Foram coletados aleatoriamente cinco jundiás para a avaliação do pH do intestino médio. Os peixes encontravam-se alojados em um tanque de 1 m^3 confeccionado em polietileno e estava instalado no interior de um tanque de 200 m^3 , localizado no Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental - InPAA da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste. Para tanto, os peixes foram submetidos à eutanásia em água e gelo ($+ 4 \text{ }^\circ\text{C}$) e em seguida, foi realizada a retirada do intestino. O intestino médio foi pesado e, na sequência a porção do intestino médio foi macerada em Gral de Porcelana com Pistilo e posteriormente transferido para tubos Falcon e adicionou-se água Milli-Q, na proporção 1:10, peso (g) e

volume (mL), respectivamente. O sobrenadante foi centrifugado a 3000 RPM para análise subsequente de pH por meio de pHmetro de bancada, obtendo-se para o jundiá um pH intestinal de $6,90 \pm 0,02$.

2.3. Dietas experimentais

Foram avaliados três ingredientes proteicos: farelo de soja, canola e farelo de girassol (Tabela 1). Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente, foi elaborada duas rações referência (Tabela 2). Desta ração derivaram-se mais seis rações contendo os ingredientes a serem testados, com e sem fitase. Foi preparado um total de quatro rações sem a enzima fitase e quatro com a suplementação de 1.500 UI kg^{-1} de fitase (Rocha et al., 2007). As seis dietas experimentais foram compostas de 30% do ingrediente teste e de 70% da dieta referência e o óxido de cromo III foi utilizado como indicador inerte na proporção de 0,2% (Tabela 2). Adotou-se a dieta referência para determinação da digestibilidade dos nutrientes.

Tabela 1. Composição química dos alimentos utilizados nas rações experimentais (matéria seca)¹.

Item	Farelo soja	Farelo canola	Farelo girassol
Matéria seca (g kg^{-1}) ²	893,60	917,10	916,40
Proteína bruta (g kg^{-1}) ²	439,50	377,80	342,30
Energia bruta (Kcal kg^{-1}) ²	4147,00	4947,50	4483,50
Extrato etéreo (g kg^{-1}) ²	41,40	168,10	68,80
Matéria mineral (g kg^{-1}) ²	73,40	63,20	55,60
Fósforo total (g kg^{-1}) ²	7,10	7,60	7,60
Cálcio (g kg^{-1}) ³	8,80	6,00	9,80
Magnésio (g kg^{-1}) ³	3,60	4,90	6,50
Manganês (g kg^{-1}) ³	0,05	0,05	0,04
Cobre (g kg^{-1}) ³	0,04	0,02	0,05
Zinco (g kg^{-1}) ³	0,70	0,90	1,20
Ferro (g kg^{-1}) ³	0,60	1,00	1,50

¹Valores determinados no Laboratório de Qualidade de Alimento do Grupo de Estudos e Manejo na Aquicultura – GEMAq-Unioeste, Toledo, Paraná

²Valores médios de análises realizadas em duplicata

³Valores determinados no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu, São Paulo.

A fitase (BASF - Natuphos[®]) obtida pela fermentação por meio de fungos do grupo *Aspergillus niger* e utilizada apresentava concentração de $10.000 \text{ UFA g}^{-1}$, sendo está granulada e acrescida na forma seca nas dietas. Uma unidade de fitase ativa (UFA) é considerada como a quantidade de fitase que libera fósforo inorgânico do fitato de sódio

Tabela 2. Composição percentual e valores nutricionais das dietas experimentais suplementados ou não com a enzima fitase, para o jundiá (g kg⁻¹ de matéria seca)¹.

Ingredientes	Dietas sem suplementação de fitase				Dietas com suplementação fitase			
	Referência	Farelo de soja	Farelo de canola	Farelo de girassol	Referência	Farelo de soja	Farelo de canola	Farelo de girassol
Farelo de soja (45%)	526,53	368,57	368,57	368,57	526,53	368,57	368,57	368,57
Milho	221,92	155,34	155,34	155,34	221,92	155,34	155,34	155,34
Quirera de arroz	150,10	105,07	105,07	105,07	150,10	105,07	105,07	105,07
Farinha de vísceras de aves	30,00	21,00	21,00	21,00	30,00	21,00	21,00	21,00
Óleo de Soja	29,15	20,40	20,40	20,40	29,15	20,40	20,40	20,40
Farinha de peixe (55%PB)	20,00	14,00	14,00	14,00	20,00	14,00	14,00	14,00
Suplemento (min. e vit.) ^a	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Calcário	8,10	5,67	5,67	5,67	8,10	5,67	5,67	5,67
Sal comum	3,00	2,10	2,10	2,10	3,00	2,10	2,10	2,10
Antifúngico	1,00	0,70	0,70	0,70	1,00	0,70	0,70	0,70
Antioxidante	0,20	0,14	0,14	0,14	0,20	0,14	0,14	0,14
Farelo soja	-	296,10	-	-	-	296,10	-	-
Farelo canola	-	-	296,10	-	-	-	296,10	-
Farelo girassol	-	-	-	296,10	-	-	-	296,10
Composição química analisada								
Matéria seca ²	929,10	924,30	935,20	946,90	933,50	934,00	940,50	944,40
Proteína bruta ²	306,50	299,40	322,60	312,60	287,70	296,40	317,00	314,60
Extrato etéreo ²	40,70	52,00	92,60	64,60	44,40	54,70	90,80	60,50
Energia _(Kcal kg⁻¹) ²	4239,0	4391,0	4633,50	4532,50	4137,0	4382,50	4671,50	4518,00
Matéria mineral ²	110,40	67,70	66,70	64,90	109,00	66,20	68,20	65,80
Fósforo ³	5,90	6,80	7,60	6,60	6,20	6,00	7,60	7,60
Cálcio ³	12,20	9,00	6,70	6,80	14,10	9,20	7,10	7,20
Magnésio ³	2,90	2,80	3,90	3,80	3,60	3,30	4,10	4,30
Manganês ³	0,45	0,09	0,13	0,08	0,45	0,10	0,12	0,10
Cobre ³	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04
Zinco ³	2,20	0,60	0,40	0,50	2,50	0,60	0,40	0,50
Ferro ³	0,70	0,20	0,30	0,20	0,70	0,20	0,20	0,20

^aNíveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.750.000UI; Vit. D3, 375.000UI; Vit. E, 20.000UI; Vit. K3, 500mg; Vit. B1, 2.000mg; Vit. B2, 2.500mg; Vit. B6, 2.500mg; Vit. B12, 5.000mg; Ác. Fólico, 625mg; Pantotenato Ca, 7.500mg; Vit. C, 37.500mg; Biotina, 50mg; Inositol, 12.500mg; Niacina, 8.750mg; Colina, 100.000mg; Co, 50mg; Cu, 1.250mg; Fe, 15.000mg; I, 100mg; Mn, 3.750mg; Se, 75mg; Zn, 17.500mg.

¹Valores determinados no Laboratório de Qualidade de Alimento do Grupo de Estudos e Manejo na Aquicultura – GEMAQ-Unioeste, Toledo, Paraná

²Valores médios de análises realizadas em duplicata

³Valores determinados no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu, São Paulo.

durante um minuto de reação numa solução na concentração de 5,1 mmol L⁻¹ em pH 5,5 e temperatura de 37 °C (Kornegay,1999).

Os ingredientes selecionados para a elaboração das rações foram moídos individualmente em moedor tipo martelo com peneira de malha 0,5 mm, pesados e homogeneizados a seco em um misturador automático em “Y”, acrescentando-se o suplemento mineral e vitamínico ausente de fósforo. Para a mistura do óxido de crômio e da fitase, foi realizada uma pré-mistura desses componentes com os demais ingredientes e, posteriormente, homogeneizada com o restante da dieta. A dieta farelada foi umedecida com 22% de água, extrusada com matriz de 3,0 mm mantendo-se a temperatura de extrusão em 80 °C e, em seguida, os péletes foram desidratados em estufa com ventilação forçada a 55,0 °C por 24 horas. A extrusão da ração foi realizada em uma extrusora marca EXTRUTEK com capacidade de 10 kg h⁻¹ no laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Gemaq/Unioeste.

2.4. Parâmetros de qualidade de água

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, da água das incubadoras durante o período experimental, foram de 23,30 ± 0,06 °C; 7,88 ± 0,5; 5,23 ± 0,50 mg L⁻¹ e 13,68 ± 0,12 µS cm⁻¹, respectivamente, foram monitorados com aparelho YSI Professional *Plus Multiparameter Water Quality Meter*, os quais permaneceram dentro dos valores recomendados para o jundiá (Garcia et al., 2011; Maffezzolli e Nuñez, 2006; Piedras et al., 2004).

2.5. Análise de digestibilidade aparente

A concentração de óxido de crômio nas rações e nas fezes para determinar o coeficiente de digestibilidade aparente foi realizada por espectrofotometria de absorção molecular conforme metodologia descrita por Bremer Neto et al. (2005). O coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente foi calculado com base no teor de óxido de crômio do nutriente da ração e das fezes, conforme equações preconizadas por Nose (1960):

$$CDA = 100 - \left(100 \left(\frac{\%Cr_2O_{3r}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \times \left(\frac{N_f}{N_r} \right) \right)$$

Em que: CDA = Coeficiente de digestibilidade aparente; % Cr₂O_{3r} = % óxido de crômio na ração; % Cr₂O_{3f} = % óxido de crômio nas fezes; N_f = Nutrientes nas fezes; N_r = Nutrientes na ração.

A determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos ingredientes avaliados foi realizada utilizando-se da equação descrita por Cho e Slinger (1979).

$$CDA_{ing} = \frac{(CD_{rt} - b \cdot CD_{rb})}{a}$$

Em que: CDA_{ing} = Coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente; CD_{rt} = Coeficiente de digestibilidade aparente da ração com o ingrediente teste; CD_{rb} = Coeficiente de digestibilidade aparente da ração basal; b = Porcentagem da ração basal; a = Porcentagem do ingrediente teste.

Os valores digestíveis foram obtidos por meio da equação:

$$CDA = \frac{(CDA_{ing} \times N_{Ali})}{100}$$

Em que: CDA = Coeficiente de disponibilidade aparente; CDA_{ing} = Coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente; N_{Ali} = Nutriente no alimento teste.

2.6. Análise de intestino

Para a morfometria da mucosa intestinal foram coletadas porções de aproximadamente 5 cm de comprimento do intestino médio, de seis peixes no início do estudo que constituíram a amostra inicial e dois peixes por unidade experimental ao término da fase experimental, totalizando seis peixes por tratamento. Em seguida, as amostras foram colocadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas com solução salina, fixadas em solução de formol 10% por 12 horas, desidratadas em série ascendente de álcool, diafanizadas em xilol para posterior inclusão em parafina, para a obtenção de cortes histológicos semi-seriados de 7 µm. Os cortes foram corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE). A captura de imagens foi realizada no Laboratório de Captura de Imagens da Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE em fotomicroscópio Olympus CX31 em objetiva de 20X, utilizando-se sistema de imagens computadorizado (Image Pro Plus – Versão 5.2- Media Cibernética). A

morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 100 vilos por animal e foram medidas as alturas dos vilos, a partir da extremidade superior do vilos até o início da camada muscular, e a espessura da camada muscular.

2.7. *Análise centesimal e mineral*

No início da pesquisa, foram coletados aleatoriamente seis peixes, que constituíram a amostra inicial. Ao término do experimento, foram coletados dois indivíduos por réplica, totalizando seis espécimes por tratamento. Para tanto, os peixes foram eutanasiados em benzocaína na dose de 250 mg L⁻¹ para retirada dos filés e vertebras.

As avaliações físicas e químicas e de energia dos alimentos, rações experimentais, fezes e filés foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos - LQA, da UNIOESTE, Toledo-PR, de acordo com os protocolos aprovados pela AOAC (1999). O teor de matéria seca foi calculado usando-se estufa a 105 °C até peso constante (Tecnal, modelo TE-394/2), a matéria mineral por meio da calcinação das amostras a 550 °C (TRADELAB, modelo TLA 200D), enquanto que o teor de lipídeos foi obtido pela extração por meio de solvente (éter de petróleo) em aparelho específico para determinação de lipídeos (Tecnal, modelo TE-044-5/50). O teor de proteína foi apurado por meio do método Kjeldahl, usando-se aparelho digestor (Tecnal, modelo TE-018) e destilador (Tecnal, modelo TE-0363). A Energia bruta foi determinada usando bomba calorimétrica (IKA, C 2000 Básic).

Todas as determinações de minerais foram realizadas no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu-SP. Para determinação da concentração dos minerais contidos nos alimentos, rações e fezes, realizou-se a digestão nitroperclórica para posterior quantificação. Cálcio, magnésio, manganês, cobre, zinco e ferro foram determinados por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS) segundo os procedimentos recomendados no manual do equipamento (Cookbook Shimadzu, 2002).

2.8. *Análise estatística*

Ao final do período experimental os dados dos coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, energia bruta, fósforo total, cálcio, magnésio, manganês, cobre, zinco e ferro obtidos nas diferentes unidades experimentais foram tabulados e submetidos à análise fatorial ao nível de significância de 5%, com a checagem dos pressupostos de normalidade dos resíduos pelo teste de *Shapiro-Wilk* e homocedasticidade de

variância pelo teste de *Levene*. Para identificar as fontes de variação detectadas pela análise de fatorial foi utilizado o teste de comparação múltipla de médias de *Tukey*. Os dados obtidos para deposição mineral nos ossos, histologia do intestino e análise centesimal de filés obtidos com a suplementação ou não da enzima fitase, foram comparados à amostra inicial, aplicando-se o teste de *Dunnnett*. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa computacional *Statistica*[®] versão 7.1.

3. Resultados

3.1. Coeficiente de digestibilidade aparente

A análise fatorial (alimento \times suplementado ou não com fitase) para a proteína bruta, matéria seca e extrato etéreo dos coeficientes de digestibilidade aparente entre os diferentes tratamentos apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) para o efeito de interação entre os alimentos e a suplementação ou não da fitase, com os melhores resultados observados para os peixes alimentados com o farelo de soja suplementado com fitase (Tabela 3).

O desdobramento dos dados com relação aos alimentos e a suplementação ou não de fitase evidenciou que a digestibilidade aparente foi influenciada pelo alimento e não pela suplementação da enzima fitase. Neste sentido, o farelo de soja apresentou os maiores valores de digestibilidade aparente para a matéria seca, proteína e extrato etéreo e o farelo de girassol os piores valores de digestibilidade para esses nutrientes (Tabela 3).

3.2. Digestibilidade aparente de minerais

Os coeficientes de digestibilidade do cálcio, fósforo total, magnésio, manganês, cobre, zinco e ferro dos alimentos suplementados ou não com a enzima fitase, encontram-se na Tabela 4. Com exceção do cobre, todos os demais coeficientes de digestibilidade de nutrientes dos alimentos apresentaram efeito ($p < 0,05$) para o efeito do alimento e da suplementação da enzima fitase.

No entanto, o desdobramento dos dados com relação à suplementação ou não da enzima fitase, evidenciou que a suplementação da enzima melhora a digestibilidade do cálcio e do magnésio (Tabela 4). A digestibilidade do fósforo, manganês, zinco e ferro são influenciados pelo alimento e os melhores valores de digestibilidade são encontrados para o

farelo de soja (Tabela 4). Destaca-se ainda, que, entre os alimentos, o magnésio, o zinco e o ferro não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) entre os farelos de canola e girassol.

Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, energia bruta e extrato etéreo de alimentados suplementados ou não com a enzima fitase, para o jundiá. Valores expressos em % da matéria seca.

Efeito	Tratamento	Coeficiente de digestibilidade aparente			
		MS(%)	PB(%)	EB(kcal kg ⁻¹)	EE(%)
Alimento	Farelo de soja	94,14 ^a	94,33 ^a		86,87 ^a
	Farelo de canola	77,71 ^b	78,13 ^b		74,93 ^b
	Farelo de girassol	69,14 ^c	68,70 ^c		69,59 ^c
Alimento x Com e sem fitase	Farelo de soja com fitase			97,58 ^a	
	Farelo de soja sem fitase			93,27 ^b	
	Farelo de canola com fitase			85,00 ^c	
	Farelo de canola sem fitase			77,51 ^d	
	Farelo de girassol com fitase			74,96 ^d	
	Farelo de girassol sem fitase			68,01 ^e	
Fonte	Valor de F da análise fatorial				
Alimento	141,53	158,06	65,10	54,30	
Com e sem fitase	0,77	0,68	1,60	1,31	
Alimento x Com e sem fitase	10,70*	4,40*	3,36	13,44*	

*Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

PB – Proteína bruta; MS - Matéria seca; EE - Extrato etéreo; EB - Energia bruta.

3.3. Histologia intestinal

A altura das vilosidades e a espessura da camada muscular intestinal variaram ($p < 0,05$) entre os alimentos suplementados ou não com a enzima fitase (Tabela 5). A maior altura das vilosidades intestinais de 6,24 μm foi observada na dieta referência com fitase e menor para a amostra inicial (4,30 μm), que não diferiu da dieta referência sem fitase (4,41 μm). Por outro lado, a espessura da camada muscular não apresentou diferenças ($p > 0,05$) entre a amostra inicial e a dieta soja com fitase, no entanto, a dieta canola sem fitase apresentou a maior espessura da camada muscular (3,16 μm).

Não foi possível realizar as medições de altura das vilosidades intestinais dos peixes alimentados com a dieta de girassol com ou sem a suplementação da enzima fitase, pois nestas as vilosidades aumentaram exponencialmente de tamanho (Figura 2). Esse aumento na altura das vilosidades intestinais possivelmente esteja relacionado com o conteúdo de fibra neste alimento. A altura das vilosidades intestinais está atrelada ao processo de absorção de nutrientes e um aumento em seu tamanho pode ser atribuído à estratégia de melhorar a absorção dos nutrientes deste alimento.

Tabela 4. Digestibilidade aparente do cálcio, fósforo total, magnésio, zinco e ferro de alimentos suplementados ou não com a enzima fitase, para o jundiá. Valores expressos em % da matéria seca.

Efeito	Tratamento	Coeficiente de digestibilidade aparente						
		Ca(%)	P(%)	Mg(%)	Mn(%)	Cu(%)	Zn(%)	Fe(%)
Alimento	Farelo de soja		70,46 ^a		95,36 ^a		63,66 ^a	78,94 ^a
	Farelo de canola		54,06 ^b		89,18 ^b		46,29 ^b	57,50 ^b
	Farelo de girassol		17,46 ^c		88,98 ^b		50,06 ^b	64,30 ^b
Enzima fitase	Com fitase	78,90 ^a		82,89 ^a				
	Sem fitase	70,08 ^b		73,49 ^b				
Alimento x Com e sem fitase	Farelo de soja com fitase					91,65 ^a		
	Farelo de soja sem fitase					89,27 ^b		
	Farelo de canola com fitase					86,40 ^{cd}		
	Farelo de canola sem fitase					85,66 ^{de}		
	Farelo de girassol com fitase					84,47 ^e		
	Farelo de girassol sem fitase					83,06 ^f		
Fonte		Valor de F da análise fatorial						
Alimento		1,01	64,46	0,63	2,00	72,90	22,79	27,70
Com e sem fitase		46,40	1,26	73,58	25,78	25,50	4,90	3,19
Alimento x Com e sem fitase		22,11*	62,96*	13,85*	129,00*	2,50	5,27*	34,98*

*Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Ca – cálcio; P – fósforo total; Mg - magnésio; Mn – manganês; Cu – cobre; Zn – zinco; Fe - ferro.

Tabela 5. Altura dos vilos e espessura da camada muscular do intestino médio de jundiá, alimentados com dietas suplementadas ou não com a enzima fitase. Valores expressos em % da matéria seca.

Tratamento	Intestino médio (μm)	
	Altura dos vilos	Espessura camada muscular
Amostra inicial	4,30	2,35
Referência sem fitase	4,41	1,91*
Referência com fitase	6,24*	1,98*
Soja sem fitase	4,90*	2,05*
Soja com fitase	6,10*	2,27
Canola sem fitase	6,13*	3,16*
Canola com fitase	4,76*	1,65*
P valor	<0,01	<0,01
F valor	116,97	81,25

*Médias na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) da amostra inicial pelo teste *Dunnett*.

3.4. Análise centesimal dos filés

Em relação à composição centesimal e níveis de fósforo, ao final do período experimental, diferenças ($p < 0,05$) foram observadas para a amostra inicial e os tratamentos com os diferentes alimentos com ou sem suplementação da enzima fitase (Tabela 6). Destaca-se que não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre a amostra inicial e os demais tratamentos para o fósforo total. Em geral a umidade dos peixes alimentados com as dietas sem a suplementação de fitase foram superiores as da amostra inicial, com exceção ao farelo de soja com a suplementação de fitase, para a qual observaram-se diferenças ($p < 0,05$) em relação a amostra inicial.

3.5. Minerais nos ossos

Na tabela 7 são mostrados os valores de cálcio, fósforo total, magnésio, cobre e zinco nas vertebrae dos jundiás, alimentados com dietas suplementadas ou não com a enzima fitase. Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) da utilização ou não de fitase sobre a retenção de fósforo em relação à amostra inicial. Por outro lado, todos os alimentos com ou sem a suplementação da enzima fitase apresentaram diferenças ($p < 0,05$) sobre a deposição de magnésio nas vertebrae, para o cálcio houve diferenças ($p < 0,05$) apenas para a dieta referência com e sem suplementação da enzima fitase e para o farelo de canola com a suplementação de fitase em relação à amostra inicial. Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) para a dieta referência suplementada com fitase e para o farelo de girassol sem a suplementação de fitase

sobre a retenção de cobre em relação à amostra inicial. No entanto, diferenças ($p < 0,05$) foram observadas para os farelos de canola e de girassol suplementados com fitase para a retenção de zinco nas vertebras em relação à amostra inicial.

Tabela 6. Valores médios da análise centesimal dos filés de jundia alimentados com dietas suplementadas ou não com a enzima fitase.

Tratamento	Composição centesimal				
	PB(%)	EE(%)	MM(%)	UM(%)	P(%)
Amostra inicial	17,36	6,52	1,47	74,66	1,04
Referência sem fitase	14,41*	6,98	1,05*	78,03*	1,02
Referência com fitase	17,15	8,43*	1,51	73,56	1,06
Soja sem fitase	15,55*	3,20*	1,41	79,49*	1,05
Soja com fitase	16,08	5,08*	1,64	77,02*	1,08
Canola sem fitase	16,62	9,69*	1,14	72,35*	1,01
Canola com fitase	15,72	8,65*	1,49	74,09	1,03
Girassol sem fitase	16,67	6,75	1,50	74,76	1,09
Girassol com fitase	15,78	8,04*	1,30	75,17	1,12
F valor	4,30*	31,04*	4,28*	13,90*	0,55 ^{NS}

*Média na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) da amostra inicial pelo teste *Dunnnett*.

PB – Proteína bruta; EE - Extrato etéreo; MM - Matéria mineral; UM - Umidade; P – Fósforo total.

Tabela 7. Valores médios de cálcio, fósforo total, magnésio, cobre e zinco nas vertebras do jundiá alimentados com dietas sem e com a suplementação da enzima fitase.

Tratamento	Composição mineral vertebras				
	Ca(%)	P(%)	Mg(%)	Cu(mg/kg)	Zn(mg/kg)
Amostra inicial	27,80	19,61	0,36	18,60	113,90
Referência sem fitase	23,86*	18,98	0,33*	21,86*	116,37
Referência com fitase	25,60*	19,90	0,31*	20,60	117,82
Soja sem fitase	27,59	19,64	0,29*	21,64*	92,88
Soja com fitase	29,28	19,79	0,33*	21,99*	102,18
Canola sem fitase	26,51	19,10	0,32*	21,43*	105,88
Canola com fitase	24,98*	19,93	0,32*	22,97*	141,93*
Girassol sem fitase	27,38	19,41	0,28*	17,57	99,69
Girassol com fitase	28,62	19,78	0,31*	22,67*	136,39*
P valor	<0,01	0,71	<0,01	<0,01	<0,01
F valor	11,90*	0,67	14,05	7,32*	9,30*

*Média na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) da amostra inicial pelo teste *Dunnnett*.

Ca – cálcio; P – fósforo total; Mg - magnésio; Cu – cobre; Zn - zinco.

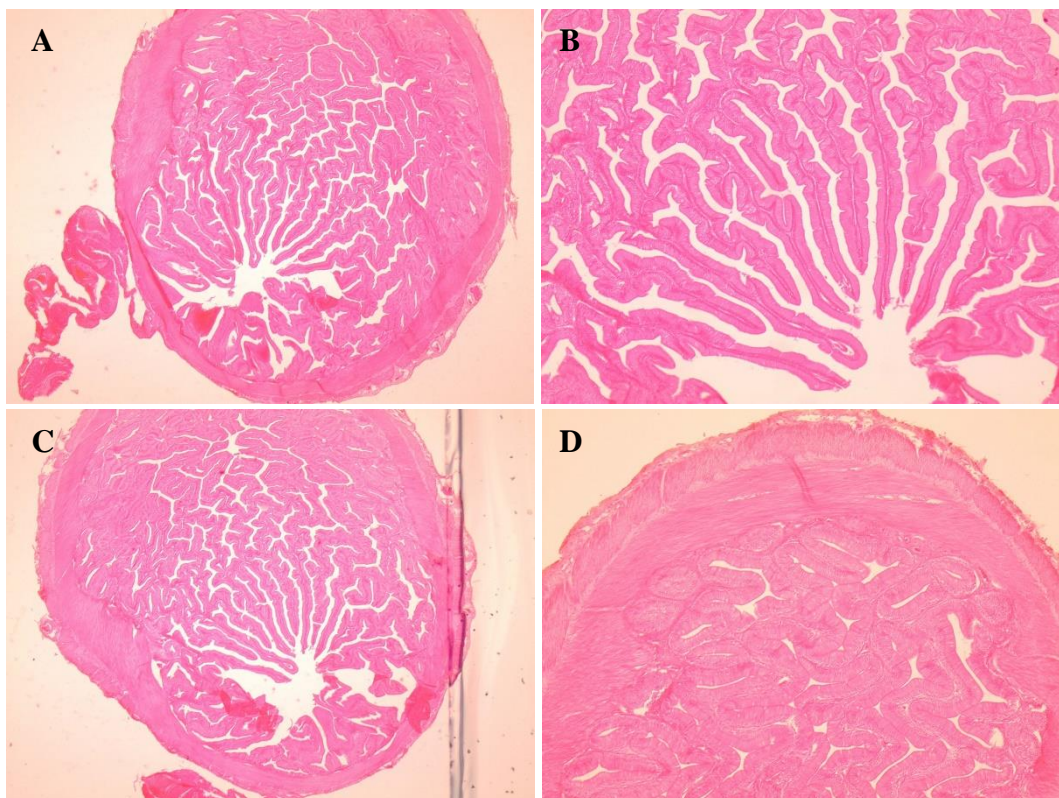


Figura 2. Fotomicrografias representativas das alterações morfométricas no intestino médio de jundiás submetidos à dieta de girassol suplementada ou não com a enzima fitase. (A) girassol com suplementação de fitase em aumento de 80X, e (B) girassol com suplementação de fitase em aumento de 200x, (C) girassol sem suplementação de fitase em aumento de 80X e (D) girassol sem suplementação de fitase em aumento de 200x. Coloração HE.

4. Discussão

4.1. Coeficiente de digestibilidade aparente para jundiá

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca fornecem uma estimativa para a digestibilidade total do alimento teste e, geralmente, um baixo valor indica que uma grande quantidade de material não digestível está presente no alimento (Li et al., 2013). Neste sentido, os coeficientes de digestibilidade da matéria seca estimam a quantidade de resíduos sólidos lançados no ambiente e pode ser utilizado para avaliar o impacto ambiental causado pela produção aquícola. O impacto principal dos resíduos sólidos no meio ambiente é a deterioração da qualidade do solo por meio da fermentação anaeróbica, que causa alterações na fauna nativa de ecossistemas bentônicos do local (Sugiura et al., 2000).

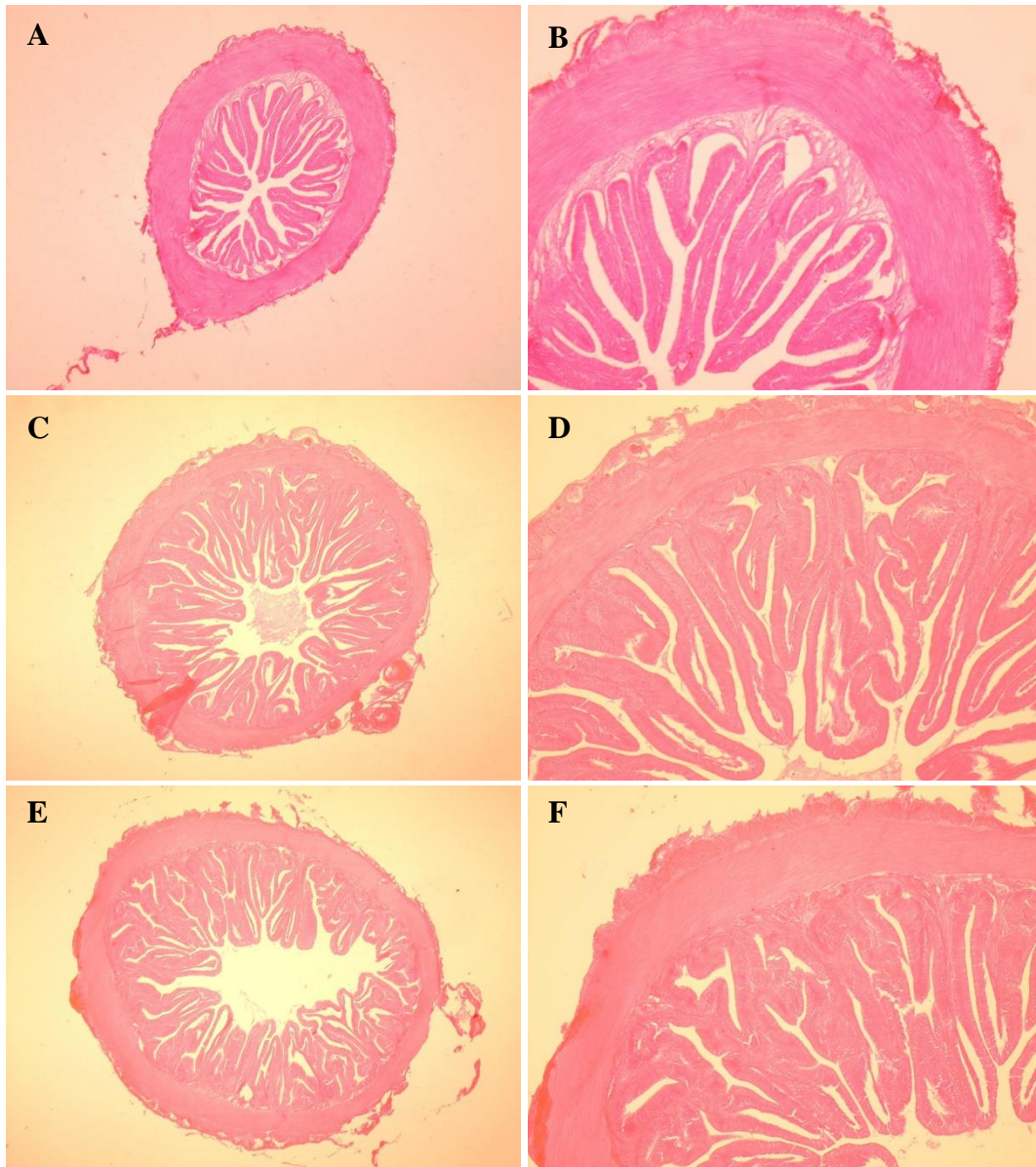


Figura 3. Fotomicrografias representativas das alterações morfométricas no intestino médio de jundiás submetidos à dieta suplementada ou não com a enzima fitase. (A) amostra inicial em aumento de 80X, e (B) amostra inicial em aumento de 200x, (C) referência com suplementação de fitase em aumento de 80X, (D) referência com suplementação de fitase em aumento de 200x, (E) referência sem suplementação de fitase em aumento de 80X e (D) referência sem suplementação de fitase em aumento de 200x. Coloração HE.

Os valores de digestibilidade da matéria seca dos alimentos vegetais obtidos neste estudo são superiores aos obtidos por Oliveira Filho e Fracalossi (2006) que, em pesquisa com o jundiá (*R. quelen*), objetivando avaliar a digestibilidade do farelo de soja, obtiveram 73,3% de digestibilidade deste alimento. Dong et al. (2010) e Zhou e Yue (2012) observaram para a tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) digestibilidade da matéria seca de 69,8 e 74,4% para o farelo de soja, respectivamente.

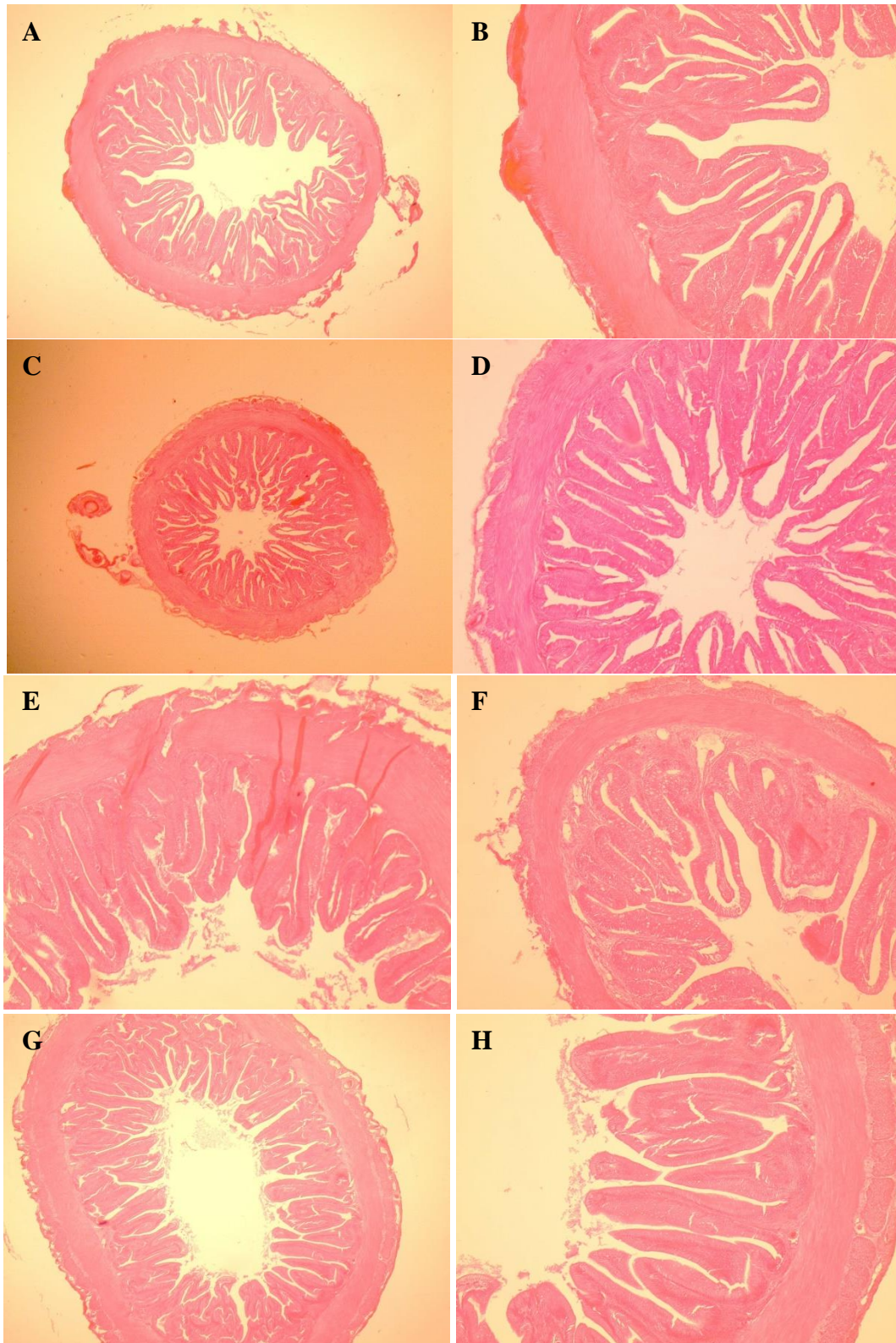


Figura 4. Fotomicrografias representativas das alterações morfológicas no intestino médio de jundiás submetidos à dieta suplementada ou não com a enzima fitase. (A) soja com suplementação de fitase em aumento de 80X, e (B) soja com suplementação de fitase em aumento de 200x, (C) soja sem suplementação de fitase em aumento de 80X, (D) soja sem suplementação de fitase em aumento de 200x, (E) canola com suplementação de fitase em aumento de 80X e (F) canola com

suplementação de fitase em aumento de 80x, (G) canola sem suplementação de fitase em aumento de 80X, (H) canola sem suplementação de fitase em aumento de 200x Coloração HE.

Em geral, a suplementação de fitase melhora a biodisponibilidade da proteína e esse fato pode levar ao aumento na deposição da energia, ocasionando maior crescimento dos peixes (Liebert e Portz, 2005). Nesse sentido, Thompson e Yoon (1984) afirmaram que, no estado nativo, o fitato pode formar complexos com o amido e salientaram a ação da enzima fitase no metabolismo energético a partir de estudo realizado com frango de corte. A ação do fitato na digestibilidade do amido de alimentos foi esclarecida por Ravindran (1999), o qual menciona que a digestão do amido pode ser influenciada negativamente pelo ácido fítico, podendo ser ocasionada por meio da ligação da α -amilase ou quelação do Ca^{+2} necessária para a ativação da amilase, ou através da ligação do amido com a proteína, formando um complexo pouco digestível.

Embora vários estudos tenham sido realizados com a enzima fitase, eles apresentam grande variação nos valores da energia em alimentos vegetais. No entanto, a diferença observada em distintos estudos sobre a digestibilidade da energia, geralmente, está ligada com a variação na composição química, forma de processamento e procedência dos alimentos. Entretanto destaca-se o de Gonçalves et al. (2004), os quais em estudo cujo objetivo foi avaliar o efeito da enzima fitase (0, 1.000 e 2.000 UF kg^{-1}) na digestibilidade aparente do farelo de girassol das rações para juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), observaram que a melhor digestibilidade ocorre com 2.000 UF kg^{-1} de dieta, alcançando valores de energia de 4.201 kcal kg^{-1} .

Os valores de digestibilidade da energia encontrados nesse estudo para o farelo de soja foram superiores aos obtidos por Oliveira Filho e Fracalossi (2006) de 76,5% para juvenis de jundiá (*R. quelen*), Zhou e Yue (2012) de 73,7% para a tilapia híbrida, Kitagima e Fracalossi (2011) e Li et al. (2013) de 72,03 e 52,2%, para o bagre do canal, respectivamente. Contudo, a digestibilidade da energia do farelo de canola (77,2%) para a tilápia híbrida, relatados por Dong et al. (2010), foram semelhantes aos deste estudo. As diferenças observadas em relação à eficiência da enzima fitase em melhorar a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos e ainda sua ação como efeito dos níveis utilizados estão ligadas ao valor biológico desses alimentos, à natureza e à quantidade de ácido fítico que estes possam apresentar (Gonçalves et al., 2004), além dos teores de fibra bruta presente nos alimentos. A fibra, por sua vez, influencia na digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas, em função de afetar a sua taxa de utilização, por interferir no tempo de esvaziamento gástrico, por atuar na motilidade e

trânsito intestinal, por agir na atividade das enzimas digestivas, além de sua capacidade de capturar micelas de lipídeos, e pela sua interação com a superfície da parede intestinal, influenciando na absorção dos nutrientes (Madar e Thorne, 1987, Lanna et al., 2004).

Em relação à digestibilidade lipídica pode ser observado efeito de interação entre a suplementação da fitase e alimentos, sendo esses resultados contrários aos observados por Dalsgaard et al. (2009) ao avaliarem dietas à base de ingredientes vegetais com suplementação de fitase, que não observaram influência sobre a digestibilidade do lipídio em pesquisa com a truta arco íris (*O. mykiss*). O mesmo efeito negativo da suplementação da fitase foi reportado por Wang et al. (2009), sendo observada redução da digestibilidade lipídica pela suplementação da fitase. O efeito negativo da suplementação de fitase está relacionado com a capacidade da enzima de inibir a atividade da lipase, diminuindo a eficiência desta na hidrólise dos lipídeos, causando redução na absorção deste nutriente (Wang et al., 2009).

As diferenças observadas nos valores de digestibilidade dos nutrientes estão associadas à variação de inúmeros fatores, como a qualidade da proteína do alimento usado na ração, pH do estômago do peixe, forma de processamento do alimento e procedimentos empregados na secagem da ração (Wang et al., 2009). Contudo, a influência da suplementação de fitase sobre a digestibilidade de nutrientes também depende de diversos fatores, como a concentração e fonte de fitato na dieta, quantidade e fonte de proteína na dieta, a digestibilidade da fonte proteica e os níveis de cálcio e fósforo (Sugiura et al., 2001).

A incorporação de fitase em dietas com grandes quantidades de proteína de origem vegetal aumenta significativamente a digestibilidade dos nutrientes, além de diminuir a lixiviação de nutrientes das fezes (Sajjadi e Carter, 2004). Assim, o uso de fitase na dieta de peixes pode ser um grande aliado na redução da descarga de nutrientes no meio aquático através das fezes, que ocasiona menor poluição aquática (Wang et al., 2009). As diferenças nos resultados observados na literatura podem ser devido às concentrações no conteúdo de fitato no ingrediente utilizado na ração, espécie de peixes estudada e uma série de outras características inerentes aos ingredientes que compõem a ração (Debnath et al., 2005).

4.2. Digestibilidade aparente de minerais

Aproximadamente 70% do fósforo total das sementes de oleaginosas, grãos de cereais e seus subprodutos apresentam-se na forma de fitato, de baixa disponibilidade para os peixes (NRC, 2011). A baixa disponibilidade do fósforo encontrada nos alimentos de origem vegetal

se deve à forma como esse mineral está disposto nesses alimentos (Gonçalves et al., 2007). Nos vegetais, o fósforo faz parte da molécula designada hexafosfato de inositol ou fitato e pode conter até 81,0% do teor de fosfato presente nos vegetais (Riche & Brown, 1996), além do fitato apresentar alta capacidade de quelação com outros minerais (Liu, 1998).

Os resultados deste estudo indicam que a suplementação de 1500 UI kg⁻¹ de fitase melhora a digestibilidade do fósforo para o jundiá, além de apresentar efeito significativo na digestibilidade da proteína e da energia. Neste sentido, inúmeros trabalhos reportam melhora na digestibilidade do fósforo com a suplementação de fitase em dietas a base de proteína vegetal. Baruah et al. (2007) observaram maior digestibilidade do fósforo em juvenis de *L. rohita* alimentados com suplementação de 750 FTU kg⁻¹ de ração, e essa digestibilidade foi de 65,39%. Sardar et al. (2007) apontam que a suplementação de 500 FTU kg⁻¹ é suficiente para aumentar a digestibilidade do fósforo em dietas para alevinos de *Cyprinus carpio* (L). Já Gonçalves et al. (2007), em estudo com juvenis de tilápia do Nilo, observaram melhora na digestibilidade do fósforo em rações com a suplementação de fitase em níveis 1.000 e 2.000 UF kg⁻¹ de ração, e observaram valores de digestibilidade de 33,93 e 33,41%, respectivamente.

Lanari et al. (1998) e Vielma et al. (2000) atribuíram a melhor utilização do fósforo fítico aos efeitos positivos da adição de fitase em rações para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Para esta mesma espécie, a melhora na disponibilidade do fósforo do farelo de canola suplementado com fitase foi relatada por Richie e Brown (1996) e Forster (1999). O fósforo é considerado um dos nutrientes mais poluentes no meio aquático e, em grandes quantidades, estimula o crescimento de algas, o que pode comprometer a qualidade da água e também as características organolépticas da carne dos peixes.

Quanto aos minerais, Baker e Ammerman (1995) afirmam que os agentes quelantes e a interação entre os próprios minerais são os fatores que mais afetam a disponibilidade do zinco, sendo os agentes quelantes representados pelos fitatos, mais especificamente o hexafosfato de inositol, normalmente encontrado em sementes de plantas, óleos e cereais, e a interação entre minerais, pela inter-relação de minerais como zinco e cobre em que, um pode reduzir a disponibilidade do outro, dependendo de seu balanço.

A baixa disponibilidade do mineral zinco em alimentos vegetais e que compõe as rações de peixes provém da complexação desse mineral com o fitato, ocasionando complexos menos solúveis (Gatlin e Phillips, 1989), os quais estão indisponíveis em função da inexistência da enzima fitase nos peixes (Vielma et al., 1998), que é necessária para a hidrólise da molécula de fitato.

O baixo coeficiente de disponibilidade de cálcio em ingredientes de origem vegetal deve-se ao fato desse mineral se encontrar em baixa quantidade e, dependendo das perdas endógenas ou da presença de fitato, fibras nesses ingredientes, a quantidade de cálcio analisada nas fezes pode ser maior que a absorção (Champagne, 1989). Sugiura et al. (1998) ressaltaram ainda que valores baixos de disponibilidade do cálcio, distinto de outros minerais, pode ser em função da regulação da absorção, ou mesmo pelo fato do cálcio precipitar no lúmen intestinal na forma de fosfato de cálcio, inibindo sua absorção.

Também a suplementação da enzima fitase melhorou a disponibilidade do magnésio em todos os alimentos avaliados. Destaca-se ainda que, entre os alimentos com a suplementação da enzima fitase, o farelo de girassol e de soja apresentaram os maiores valores de disponibilidade para este mineral. Maiores valores de disponibilidade para o magnésio com a suplementação da enzima fitase também foram relatadas por Gonçalves et al. (2005) que, em estudo com juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), objetivando avaliar a suplementação da enzima fitase (0; 1.000 e 2.000 UFA kg⁻¹) para a digestibilidade do farelo de soja e girassol, obtiveram aumento no coeficiente de disponibilidade do magnésio de 75,71; 84,29 e 88,44% para o farelo de soja e de 73,08; 67,11 e 93,93% para o farelo de girassol, respectivamente.

A absorção aparente de manganês e cobre foram maiores com a suplementação da enzima fitase na dieta. A fitase pode ter quebrado as ligações do complexo mineral-ácido fítico, e, assim, proporcionou melhor absorção destes minerais. Sugiura et al. (2001) observaram aumento na absorção do cobre com a suplementação da enzima fitase na dieta de truta arco-íris. Em estudo com alevinos de *P. pangasius* Debnath et al. (2005), verificaram que a suplementação de 500 FTU kg⁻¹ de ração é suficiente para aumentar a absorção de manganês.

Os coeficientes de disponibilidade do ferro da canola e do farelo de girassol sem a suplementação da fitase foram baixos, os valores médios de disponibilidade deste mineral variaram de 50,55 a 61,29%, respectivamente. Tais resultados indicam a influência de efeitos dietéticos, sendo a presença de fitato e grande quantidade de fibra nesses alimentos, os quais diminuem a disponibilidade dos minerais (Champagne, 1989). Esse fato pode ser reforçado com base nas informações de Graf (1983), que destaca a baixa disponibilidade de ferro na presença do fitato que, em pH ácido, ocasiona precipitação quantitativa das moléculas desse mineral.

4.3. Vilosidades intestinais e espessura da camada muscular

Pode-se observar que o aumento das vilosidades intestinais dos peixes alimentados com o farelo de girassol suplementados ou não com a enzima fitase deve ser consequência dos níveis de fibra presente no alimento. Conforme Caballero et al. (2003), o intestino é um órgão envolvido em importantes funções fisiológicas, por ser o principal local de digestão dos alimentos e de absorção de nutrientes. Portanto, o maior aproveitamento dos nutrientes presentes na dieta é dependente da eficácia dessas funções.

Com relação aos demais alimentos avaliados suplementados ou não com a enzima fitase, observa-se que a fitase induziu a diminuição do tamanho das vilosidades intestinais na presença do farelo de canola, bem como a espessura da camada muscular, no entanto, não foi observado o mesmo padrão para o farelo de soja, pois a suplementação da fitase provocou aumento das mesmas. Junqueira e Carneiro (2005) citaram que, quanto maior a altura da vilosidade intestinal, maior será a capacidade de aproveitamento de alimento pelo animal.

A proliferação e diferenciação (renovação celular), que resulta das divisões mitóticas geradas por células totipotentes (*stem cells*) localizadas na cripta e ao longo dos vilos (Applegate et al., 1999; Uni et al., 2000, 1998) e a extrusão (perda de células), que ocorre geralmente no ápice dos vilos, determinam a síntese-migração-extrusão (turnover celular) constante, ou seja, a conservação da altura das vilosidades e, por conseguinte, a conservação da capacidade digestiva e de absorção intestinal (Caballero et al., 2003).

No entanto, quando o intestino responde a algum agente com desequilíbrio no turnover (favorecendo um dos processos citados anteriormente), ocasiona uma modificação na altura e no perímetro das vilosidades. Ademais, se ocorrer maior taxa de mitose com ausência, decréscimo ou manutenção da taxa de extrusão, originará um acréscimo no número de células e conseqüente aumento no tamanho e no perímetro das vilosidades, podendo ocorrer ainda pregueamento da parede do intestino. Se o estímulo induzir a um acréscimo na taxa de extrusão, existindo manutenção ou diminuição na taxa de proliferação, o intestino irá responder com diminuição na altura dos vilos e, portanto, decréscimo em sua capacidade de digestão e absorção (Pluske et al., 1997).

A observação de que as vilosidades intestinais e a espessura da camada muscular diminuíram com a suplementação da enzima fitase, podem estar relacionadas com a melhor disponibilidade de nutrientes ocasionada pela ação da enzima fitase na descomplexação do fósforo fítico, além da redução dos complexos fitato-proteína, a qual pode ser uma explicação para esta observação. No entanto, novos estudos são necessários para avaliar os efeitos da

suplementação da enzima fitase na degradação do fitato nos alimentos de origem vegetal em diferentes espécies de peixes, dependendo das características específicas do aparelho digestivo do peixe. Nesse sentido, análises específicas para avaliar a influência da enzima fitase nas vilosidades intestinais e espessura da camada muscular são necessárias.

4.4. Composição centesimal dos filés

Para teores de extrato etéreo na carcaça, o apropriado nível de fósforo é imprescindível, uma vez que atua no metabolismo, diminuindo a deposição de lipídeos na carcaça. A insuficiência de fósforo na dieta inibe a β -oxidação dos ácidos graxos e, portanto, o uso de lipídios como fonte de energia e, dessa forma, os peixes aproveitam, a proteína como fonte alternativa de energia (Lall, 2002). Esta afirmação foi constatada por Zhang et al. (2006) em estudo com a perca prata (*Lateolabrax japonicus*) e reportaram redução nos teores de lipídios na carcaça com o acréscimo no conteúdo de fósforo disponível na dieta (0,3 a 1,3%), resultado também observado por Yang et al. (2006) com o “seabass” japonês.

De acordo com Porn-Ngam et al. (1993), quando a relação cálcio:fósforo da dieta se distânciava de 1:1 (teores de cálcio e fósforo total), ocorre incremento nos efeitos inibitórios do cálcio e fósforo sobre a absorção do zinco. Além disso, quando existe excesso de cálcio (elevada relação cálcio:fósforo), esse mineral pode se ligar ao fósforo fítico que, por sua vez, liga-se ao zinco. Porém, se a relação cálcio:fósforo for baixa, ou seja, quando ocorre excesso de fósforo, diminui a absorção de cálcio e de zinco.

Nas condições em que foi realizado este estudo, pode-se concluir que os alimentos proteicos de origem vegetal com a suplementação de 1.500 UI de fitase kg^{-1} de dieta respondem de forma diferente à suplementação desta enzima. Assim, os coeficientes de digestibilidade são melhorados com a suplementação da fitase e demonstrando que a suplementação da enzima fitase melhora a digestibilidade dos nutrientes e da energia, bem como a disponibilidade dos minerais, e é recomendada a sua utilização em dietas com elevados níveis de alimentos de origem vegetal.

4.5. Minerais nos ossos

Neste estudo, os dados obtidos para a retenção de fósforo nas vertebrae discordam dos registrados por Debnath et al. (2005), em trabalho realizado com juvenis *Pangasius pangasius*, recebendo dieta com 350 FTU kg^{-1} de fitase e, para o cálcio a melhor deposição

ocorre com 500 FTU kg⁻¹ de dieta, entretanto para o magnésio a suplementação da enzima fitase aumenta a deposição desse mineral em comparação ao grupo controle. As diferenças entre os resultados provavelmente estão relacionadas com os ingredientes usados, que disponibilizam diferentes quantidades desses nutrientes na dieta. Neste sentido, a mineralização óssea é muito importante no status do fósforo em peixes. Dada a sua importância na formação da estrutura óssea, um acréscimo no conteúdo de fósforo em dietas para peixes acarreta em acréscimo no teor de fósforo nos ossos, ocasionando aumento nos teores de diversos minerais nos ossos (Borlongan and Satoh, 2001; Zhang et al., 2006).

Os minerais cálcio e fósforo estão inteiramente relacionados ao desenvolvimento, manutenção do sistema esquelético e a estabilidade das vértebras (McDowell 1992). Peixes submetidos a dietas com deficiência em fósforo retiram ou adiam a deposição do mineral do osso na forma de fosfato de cálcio (Fontagné et al., 2009), sendo o fósforo empregado no crescimento dos tecidos moles e o cálcio descartado (Sugiura et al., 2004).

Ponderando que os ossos representam importante fonte de reserva de cálcio e fósforo, bem como outros íons, que estão em constante estado de mudança com os eletrólitos presentes no sangue e fluídos extracelular, Zhang et al. (2006) evidenciaram dois platôs em relação ao ganho de peso em dietas com 0,31 e 1,17% de fósforo disponível, tendo o primeiro platô de fósforo sanguíneo aparecido quando o nível de fósforo disponível da dieta passou de 0,56 para 0,70%, sugerindo que esse platô apareceu quando o nível mínimo de fósforo foi atendido para maximizar o crescimento. Assim sendo, o primeiro platô foi resultante do efeito tamponante originado do esqueleto e de outros tecidos. O segundo platô surgiu quando o conteúdo de fósforo disponível da dieta passaram de 0,7 para 0,93%, aumentando significativamente os teores de fósforo no plasma e nas vértebras e após, diminuiu, indicando que a concentração de fósforo plasmático surgiu da capacidade tamponante originaria do esqueleto e outros tecidos.

Em relação ao magnésio, Yang et al. (2006) trabalhando com juvenis de “silver perch” observaram que um aumento no teor de fósforo da dieta resultou em maior concentração de magnésio nas vertebrae, sendo verificado maior valor desta variável em 0,72% de fósforo disponível. No entanto, Helland et al. (2005) não relataram diferenças nas concentrações de magnésio em vértebras de salmão do Atlântico submetidos a dietas com baixas ou altas quantidades de fósforo. Porém, Roy e Lall (2003) observaram significativa redução na concentração de magnésio nas vértebras de “haddock” quando o teor de fósforo nas dietas passou de 0,42 para 0,82% na matéria seca, contudo, em nível superior não foi verificado redução na concentração de magnésio nas vertebrae.

Os resultados deste estudo em relação à concentração de zinco nas vertebrae discordam dos obtidos por Debnath et al. (2005) com alevinos de *P. pangasius*, onde não foram encontradas diferenças na concentração de zinco nas vertebrae em relação ao grupo controle, quando promoveu um aumento nos níveis de fitase nas dietas. Resultados semelhantes também foram reportados por Yang et al. (2006) com juvenis de “silver perch” e Helland et al. (2005) com salmão do Atlântico, onde um aumento nos teores de fósforo nas dietas não promoveu acréscimo de zinco nas vertebrae. Segundo Lall (2002), quando o fósforo está em excesso na dieta, este pode formar quelato com o zinco e outros elementos traço e causando redução na sua disponibilidade.

Debnath et al. (2005) observaram melhora na deposição de cobre em vertebrae de *P. pangasius* com a suplementação da enzima fitase. Sugiura et al. (2001) também observaram melhora na deposição de cobre em vertebrae de truta arco-íris submetidas a dietas suplementadas com fitase. De acordo com Debnath et al. (2005) a máxima absorção de diferentes minerais varia de acordo com a concentração de fitase na dieta e uma reduzida biodisponibilidade de minerais pode ser ocasionada pela formação de complexos fitato-minerais insolúveis, a presença de níveis elevados de um mineral (a exemplo, cálcio e magnésio) podem interferir na biodisponibilidade de minerais como cálcio, magnésio, zinco, ferro e cobre (Debnath et al., 2005; Hossain e Jauncey, 1991). Neste sentido, Debnath et al. (2005) afirmaram que as interações do fitato com minerais devem ser estudadas de forma cuidadosa para determinar os efeitos mineral-mineral e mineral-fitato, objetivando assim, otimizar a dosagem de fitase.

5. Conclusões

O farelo de soja apresentou a maior digestibilidade dos nutrientes e a suplementação da fitase melhorou a disponibilidade do cálcio e magnésio das dietas. A maior altura das vilosidades intestinais foi observada na dieta referência com fitase e a maior espessura da camada muscular para o farelo de canola sem fitase. A suplementação da enzima fitase influencia provavelmente na deposição de magnésio nos ossos. Destaca-se que a suplementação da fitase não influencia na deposição de fósforo nos filés e a umidade dos peixes alimentados com as dietas sem a suplementação de fitase foram superiores.

Referências

- Applegate, T.J., Dibner, J.J., Kitchell, M.L., Uni, Z., Lilburn, M.S., 1999. Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.* 124, 381–389. doi:10.1016/S0305-0491(99)00140-6
- Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 1999. *Official Methods of Analysis*, 16th edition. AOAC, Washington, DC, USA.
- Baker, D.H., Ammerman, C.B., 1995. Bioavailability of Nutrients for Animals, in: Ammerman, C.B., Baker, D.H., Lewis, A.J. (Eds.), *Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals, and Vitamins*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 367–398.
- Baruah, K., Pal, A.K., Sahu, N.P., Debnath, D., Nourozitallab, P., Sorgeloos, P., 2007. Microbial Phytase Supplementation in Rohu, *Labeo rohita*, Diets Enhances Growth Performance and Nutrient Digestibility. *J. World Aquac. Soc.* 38, 129–137. doi:10.1111/j.1749-7345.2006.00081.x
- Bergamin, G.T., Veiverberg, C.A., Siqueira, L.V., Eggers, D.P., Radünz Neto, J., 2013. Digestibilidade aparente de farelos vegetais tratados para remoção de antinutrientes em dietas para jundiá. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 928–934. doi:10.1590/S0100-204X2013000800017
- Borlongan, I.G., Satoh, S., 2001. Dietary phosphorus requirement of juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal). *Aquac. Res.* 32, 26–32. doi:10.1046/j.1355-557x.2001.00003.x
- Bremer Neto, H., Graner, C.A.F., Pezzato, L.E., Padovani, C.R., 2005. Determinação de rotina do cromo em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. *Ciência Rural* 35, 691–697. doi:10.1590/S0103-84782005000300033
- Caballero, M., Izquierdo, M., Kjørsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernández, a. ., Rosenlund, G., 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225, 325–340. doi:10.1016/S0044-8486(03)00299-0
- Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z., Li, D., 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 497–507. doi:10.1016/j.enzmictec.2007.01.007
- Champagne, E.T., 1989. Low gastric hydrochloric acid secretion and mineral bioavailability, in: Dintzis, F.R., Laszlo, J.A. (Eds.), *Mineral Absorption in the Monogastric GI Tract*. Springer US, Boston, MA, pp. 173–184. doi:10.1007/978-1-4684-9111-1
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W., 2002. Effect of microbial phytase on apparent nutrient digestibility of barley, canola meal, wheat and wheat middlings, measured in vivo using rainbow

- trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* 8, 271–277. doi:10.1046/j.1365-2095.2002.00219.x
- Cheryan, M., 1980. Phytic acid interactions in feed systems. *Crit. Rev. Feed Sci. Nutr.* 13, 297–335. doi:10.1080/10408398009527293
- Cho, C.Y., Slinger, S.I., 1979. Apparent digestibility measurements in feedstuffs for rainbow trout, in: Halver, J.E., Tiews, K. (Eds.), *Finfish Nutrition and Fish Feed Technology*. Heenemann Verlagsgesellschaft, Berlin, pp. 234–247.
- Cookbook Shimadzu. Operation manual: atomic absorption spectrophotometer AA 6800. Osaka: 2002. 157p.
- Dalsgaard, J., Schøn, K., Bovbjerg, P., Verlhac, V., 2009. Effect of supplemented fungal phytase on performance and phosphorus availability by phosphorus-depleted juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and on the magnitude and composition of phosphorus waste output. *Aquaculture* 286, 105–112. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.09.007
- Debnath, D., Pal, A.K., Sahu, N.P., Jain, K.K., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. *Aquac. Res.* 36, 180–187. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01203.x
- Debnath, D., Sahu, N.P., Pal, A.K., Jain, K.K., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C., 2005b. Mineral status of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings in relation to supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. *Aquac. Res.* 36, 326–335. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01204.x
- Dong, X.-H., Guo, Y.-X., Ye, J.-D., Song, W.-D., Huang, X.-H., Wang, H., 2010. Apparent digestibility of selected feed ingredients in diets for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. *Aquac. Res.* 41, 1356–1364. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02424.x
- Fabregat, T.E.H.P., Fernandes, J.B.K., Rodriguez, L.A., Borges, F. de F., Pereira, T.S., Nascimento, T.M.T. do, 2008. Digestibilidade aparente da energia e da juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Rev. Acadêmica Ciências Agrárias e Ambient.* 6, 459–464.
- FAO, 2012. *The State of the World Fisheries and Aquaculture 2012*. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Feed and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy (209 pp.).
- Fontagné, S., Silva, N., Bazin, D., Ramos, A., Aguirre, P., Surget, A., Abrantes, A., Kaushik, S.J., Power, D.M., 2009. Effects of dietary phosphorus and calcium level on growth and skeletal development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Aquaculture* 297, 141–150. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.09.022
- Forster, I., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Rowshandeli, M., Parr, J., 1999. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease

phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11 °C fresh water. *Aquaculture* 179, 109–125.

- Freitas, J.M.A. de, Sary, C., Luchesi, J.D., Feiden, A., Boscolo, W.R., 2011. Proteína e energia na dieta de jundiás criados em tanques-rede. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 2628–2633. doi:10.1590/S1516-35982011001200002
- Garcia, L.D.O., Becker, A.G., Cunha, M. a., Baldisserotto, B., Copatti, C.E., Kochhann, D., 2011. Effects of Water pH and Hardness on Infection of Silver Catfish, *Rhamdia quelen*, Fingerlings by *Ichthyophthirius multifiliis*. *J. World Aquac. Soc.* 42, 399–405. doi:10.1111/j.1749-7345.2011.00479.x
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., J Souza, E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.* 38, 551–579. doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x
- Gatlin, D.M., Phillips, H.F., 1989. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. *Aquaculture* 79, 259–266. doi:10.1016/0044-8486(89)90466-3
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Hisano, H., Freire, E.D.S., Ferrari, J.E.C., 2004. Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para tilápia do Nilo. *Acta Sci. Anim. Sci.* 26, 313–321. doi:10.4025/actascianimsci.v26i3.1795
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Kleeman, G.K., Rocha, D.F., 2005. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.* 34, 2155–2163. doi:10.1590/S1516-35982005000700001
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Padilha, P.D.M., Barros, M.M., 2007. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 1473–1480. doi:10.1590/S1516-35982007000700003
- Graf, E., 1983. Applications of phytic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60, 1861–1867.
- Helland, S., Refstie, S., Espmark, Å., Hjelde, K., Baevefjord, G., 2005. Mineral balance and bone formation in fast-growing Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) in response to dissolved metabolic carbon dioxide and restricted dietary phosphorus supply. *Aquaculture* 250, 364–376. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.03.032
- Hossain, M.A., Jauncey, K., 1991. The effects of varying dietary phytic acid, calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp, *Cyprinus carpio*, in: Kaushik, S.J., Luquet, P. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice: Proceedings of the 4th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding*. Biarritz, France, pp.705-715.
- Junqueira, L.C.; carneiro, J. 2005. *Biologia celular*. 8.th edition. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, RJ,. 302p.

- Kaushik, S.J., Seiliez, I., 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquac. Res.* 41, 322–332. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x
- Kitagima, R.E., Fracalossi, D.M., 2011. Digestibility of Alternative Protein-Rich Feedstuffs for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquac. Soc.* 42, 306–312. doi:10.1111/j.1749-7345.2011.00468.x
- Köprücü, K., Özdemir, Y., 2005. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 250, 308–316. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.12.003
- Kornegay, E. T. Feeding to reduce nutrient excretion: effects of phytase on phosphorus and other nutrients. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. (Ed.). *Biotechnology in the feed industry*, Nottingham: Nottingham University Press, 1999. p. 461-489.
- Lall, S.P., 2002. The Minerals, in: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 260–308.
- Lanari, D., D'Agaro, E., Turri, C., 1998. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 161, 345–356. doi:10.1016/S0044-8486(97)00282-2
- Lanna, E.A.T., Pezzato, L.E., Cecon, P.R., Furuya, W.M., Bomfim, M.A.D., 2004. Digestibilidade aparente e trânsito gastrintestinal em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em função da fibra bruta da dieta. *Rev. Bras. Zootec.* 33, 2186–2192. doi:10.1590/S1516-35982004000900002
- Li, M.H., Oberle, D.F., Lucas, P.M., 2013. Apparent digestibility of alternative plant-protein feedstuffs for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquac. Res.* 44, 282–288. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.03035.x
- Liebert, F., Portz, L., 2005. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. *Aquaculture* 248, 111–119. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.04.009
- Liu, B., Rafiq, A., Tzeng, Y., Rob, A., 1998. The Induction and Characterization of Phytase and Beyond. *Enzyme Microb. Technol.* 22, 415–424. doi:10.1016/S0141-0229(97)00210-X
- Madar, Z., Thorne, R., 1987. Dietary fiber. *Prog. feed Nutr. Sci.* 11, 153–174.
- Maffezzolli, G., Nuñez, A.P. de O., 2006. Crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (*Pisces, Pimelodidae*), em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. *Acta Sci. Biol. Sci.* 28, 41–45. doi:10.4025/actascibiols.v28i1.1057
- McDowell, L.R., 1992. Zinc, in: McDowell, L.R. (Ed.), *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academic Press, London, UK, pp. 265–293.

- Moreira, J.A., Lopes, J.B., Vitti, D.M.S.S., Teixeira, A.O., 2009. Modelos matemáticos para o estudo do fluxo biológico do fósforo em suínos alimentados com dietas suplementadas com níveis crescentes de fitase. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 61, 420–428. doi:10.1590/S0102-09352009000200020
- Moro, G.V., Camilo, R.Y., Moraes, G., Fracalossi, D.M., 2010. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutrient utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. *Aquac. Res.* 41, 394–400. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02352.x
- Nose, T., 1960. On the digestion of feed protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). *Bull. Freshw. Fish Res. Lab.* 10, 11–22.
- NRC, 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. National Academies Press, Washington, DC, USA.
- Oliveira Filho, P.R.C. de, Fracalossi, D.M., 2006. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 1581–1587. doi:10.1590/S1516-35982006000600002
- Piedras, S.R.N., Moraes, P.R.R., Pouey, J.L.O.F., 2004. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água. *Bol. do Inst. Pesca* 30, 177–182.
- Pluske, J.R., Hampson, D.J., Williams, I.H., 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51, 215–236. doi:10.1016/S0301-6226(97)00057-2
- Porn-Ngam, N., Satoh, S., Takeuchi, T., Watanabe, T., 1993. Effect of the ratio of phosphorus to calcium on zinc availability to rainbow trout in high phosphorus diet. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59, 2065–2070.
- Ravindran, V., Cabahug, S., Ravindran, G., Bryden, W., 1999. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poult. Sci.* 78, 699–706. doi:10.1093/ps/78.5.699
- Riche, M., Brown, P.B., 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 142, 269–282. doi:10.1016/0044-8486(95)01218-4
- Rocha, C.B., Pouey, J.L.O.F., Enke, D.B.S., Xavier, E.G., Almeida, D.B., 2007. Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça. *Ciência Rural* 37, 1772–1778. doi:10.1590/S0103-84782007000600042
- Rodrigues, A.P.O., Gominho-Rosa, M.D.C., Cargnin-Ferreira, E., De Francisco, A., Fracalossi, D.M., 2012. Different utilization of plant sources by the omnivores jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* 18, 65–72. doi:10.1111/j.1365-2095.2011.00877.x

- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; de Oliveira, R.F.; Lopes, D.C.; Ferreira, A.S.; Barreto, S.L.T.; Euclides, R., 2011. Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais, 3rd ed. Universidade Federal de Viçosa.
- Roy, P.K., Lall, S.P., 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture* 221, 451–468. doi:10.1016/S0044-8486(03)00065-6
- Sajjadi, M., Carter, C.G., 2004. Effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Aquac. Nutr.* 10, 135–142. doi:10.1111/j.1365-2095.2003.00290.x
- Sardar, P., Randhawa, H.S., Abid, M., Prabhakar, S.K., 2007. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, body compositions and haemato-biochemical profiles of *Cyprinus carpio* (L.) fingerlings fed soyprotein-based diet. *Aquac. Nutr.* 13, 444–456. doi:10.1111/j.1365-2095.2007.00497.x
- Signor, A., Feiden, A., Boscolo, W.R., Signor, A.A., Sary, C., Klein, S., 2013. Eventos reprodutivos do jundiá *Rhamdia voulezi* cultivados em tanques-rede. *Rev. Bras. Reprodução Anim.* 37, 272–277.
- Silva, P.R.F. da, Freitas, T.F.S. de, 2008. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. *Ciência Rural* 38, 843–851. doi:10.1590/S0103-84782008000300044
- Sugiura, S.H., Babbitt, J.K., Dong, F.M., Hardy, R.W., 2000. Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac. Res.* 31, 585–593. doi:10.1046/j.1365-2109.2000.00476.x
- Sugiura, S.H., Dong, F.M., Rathbone, C.K., Hardy, R.W., 1998. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture* 159, 177–202. doi:10.1016/S0044-8486(97)00177-4
- Sugiura, S.H., Gabaudan, J., Dong, F.M., Hardy, R.W., 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. *Aquac. Res.* 32, 583–592. doi:10.1046/j.1365-2109.2001.00581.x
- Sugiura, S.H., Hardy, R.W., Roberts, R.J., 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish: a review. *J. Fish Dis.* 27, 255–65. doi:10.1111/j.1365-2761.2004.00527.x
- Surek, D., Maiorka, A., Dahlke, F., Opalinski, M., Franco, S.G., Krabbe, E.L., 2008. Uso de fitase em dietas de diferentes granulometrias para frangos de corte na fase inicial. *Ciência Rural* 38, 1725–1729. doi:10.1590/S0103-84782008000600036
- Thompson, L.U., Yoon, J.H., 1984. Starch Digestibility as Affected by Polyphenols and Phytic Acid. *J. Feed Sci.* 49, 1228–1229. doi:10.1111/j.1365-2621.1984.tb10443.x
- Uni, Z., Ganot, S., Sklan, D., 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poult. Sci.* 77, 75–82. doi:10.1093/ps/77.1.75

- Uni, Z., Zaiger, G., Gal-Garber, O., Pines, M., Rozenboim, I., Reifen, R., 2000. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chicken small intestine. *Br. Poult. Sci.* 41, 410–5. doi:10.1080/713654958
- Vielma, J., Lall, S.P., Koskela, J., Schöner, F.-J., Mattila, P., 1998. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 163, 309–323. doi:10.1016/S0044-8486(98)00240-3
- Vielma, J., Mäkinen, T., Ekholm, P., Koskela, J., 2000. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture* 183, 349–362. doi:10.1016/S0044-8486(99)00299-9
- Wang, F., Yang, Y.-H., Han, Z.-Z., Dong, H.-W., Yang, C.-H., Zou, Z.-Y., 2009. Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquac. Int.* 17, 143–157. doi:10.1007/s10499-008-9187-5
- Yang, S.-D., Lin, T.-S., Liu, F.-G., Liou, C.-H., 2006. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* 253, 592–601. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.09.002
- Zhang, C., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Duan, Q., Tan, B., Ma, H., Xu, W., Liufu, Z., Wang, X., 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 255, 201–209. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.11.040
- Zhou, Q.-C., Yue, Y.-R., 2012. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*. *Aquac. Res.* 43, 806–814. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02892.x