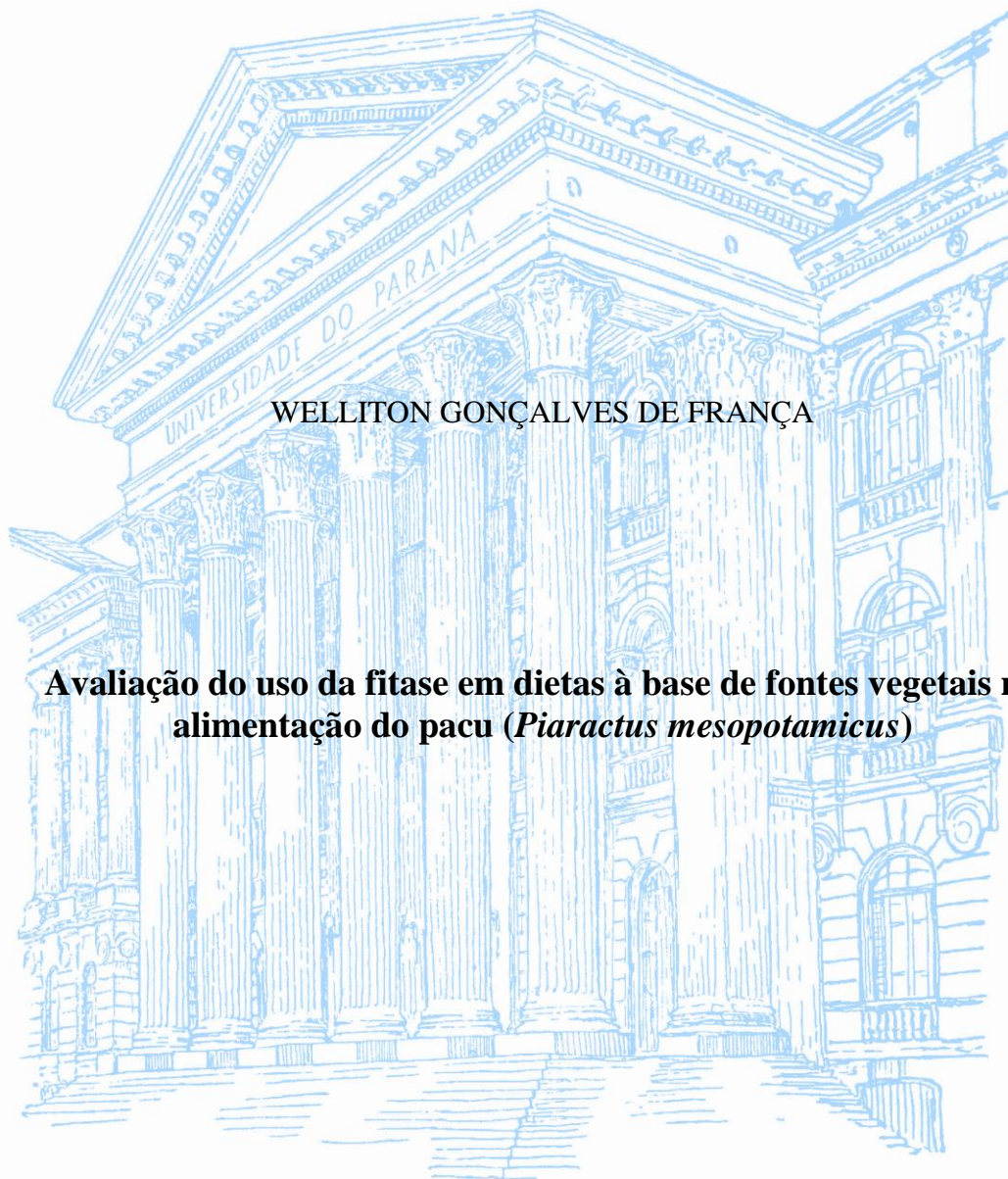


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA
E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL



WELLITON GONÇALVES DE FRANÇA

**Avaliação do uso da fitase em dietas à base de fontes vegetais na
alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**

Palotina

2015

WELLITON GONÇALVES DE FRANÇA

**Avaliação do uso da fitase em dietas à base de fontes vegetais na
alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável do Setor Palotina, Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável. Área de concentração: Produção de organismos aquáticos e impactos ambientais da atividade de Aquicultura

Orientador: Prof. Dr. Leandro Portz

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester

Palotina

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F814 França, Welliton Gonçalves de
Avaliação do uso da fitase em dietas à base de fontes vegetais na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) / Welliton Gonçalves de França. - Palotina, 2015
44p.

Orientador: Leandro Portz
Coorientador: Eduardo Luis Cupertino Ballester
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

1.Aquicultura. 2.Hematologia. 3.Nutrição. I. Leandro Portz. II.Eduardo Luis Cupertino Ballester.III Universidade Federal do Paraná. IV. Título

CDU 639.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Código CAPES: 40001016078P2

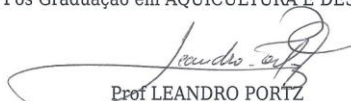
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor PALOTINA
Programa de Pós Graduação em AQUICULTURA E
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

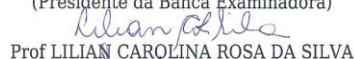
No dia vinte de Agosto de dois mil e quinze às 14:00 horas, na sala de aula nº 03 - BLOCO LACOMA, Rua Pioneiro 2153, do Setor de PALOTINA da Universidade Federal do Paraná, foram instalados os trabalhos de arguição do mestrando **WELLITON GONÇALVES DE FRANÇA** para a Defesa Pública de sua Dissertação intitulada: "**AValiação DO USO DA FITASE EM DIETAS À BASE DE FONTES VEGETAIS NA ALIMENTAÇÃO DO PACU (*Piaractus mesopotamicus*)**". A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Professores Doutores: LEANDRO PORTZ, LILIAN CAROLINA ROSA DA SILVA, WILSON ROGERIO BOSCOLO. Dando início à sessão, a presidência passou a palavra o aluno, para que o mesmo expusesse seu trabalho aos presentes. Em seguida, a presidência passou a palavra a cada um dos Examinadores, para suas respectivas arguições. O aluno respondeu a cada um dos arguidores. A presidência retomou a palavra para suas considerações finais e, depois, solicitou que os presentes e o mestrando deixassem a sala. A Banca Examinadora, então, reuniu-se sigilosamente e, após a discussão de suas avaliações, decidiu-se pela *aprovação* do aluno. O mestrando foi convidado a ingressar novamente na sala, bem como os demais assistentes, após o que a presidência fez a leitura do Parecer da Banca Examinadora, outorgando-lhe o Grau de **Mestre em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL**. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, , lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora.

Palotina, 20 de Agosto de 2015.

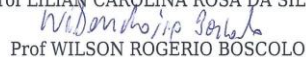
Secretaria do Programa de Pós Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL



Prof LEANDRO PORTZ
(Presidente da Banca Examinadora)



Prof LILIAN CAROLINA ROSA DA SILVA



Prof WILSON ROGERIO BOSCOLO

Programa de Pós Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL | UFPR

Rua Pioneiro 2153

Palotina - Paraná - Brasil"

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8529 - Fax: - E-mail: ppgaqui@ufpr.br

*Dedico este
trabalho a meus
pais.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Mauri Lacerda de França e Terezinha de Fátima Gonçalves de França por acreditarem no meu potencial.

À minha namorada por todo apoio e compreensão dada a mim, além do seu grande companheirismo.

Ao Professor Dr. Leandro Portz, pela oportunidade, orientação desde a minha primeira bolsa de iniciação científica, e amizade construída nesses 5 anos e meio de orientação.

Aos professores Dr. Wilson Rogério Boscolo e Dr^a. Lilian Rosa da Silva pela participação como banca avaliadora.

À Universidade Federal do Paraná Setor Palotina pelo apoio técnico-científico.

À BASF e a Bruno Wernick pela ajuda na disponibilização das enzimas utilizadas, bem como no auxílio em algumas análises.

À CAPES e a Fundação Araucária pelo auxílio financeiro concedido.

À UNIOESTE pela realização de análises.

Aos amigos Rafael Kracizy, Pedro Gusmão, Fabricio Dutra, Vinicius Ribeiro, Luana Cagol, Ademir Heldt e Tânia Pontes, por toda a ajuda à mim fornecida.

À todos outros colegas que colaboraram de alguma forma para elaboração desta dissertação.

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT, disponível em: <<http://www.campuspalotina.ufpr.br/sites/default/files/RefABNT.pdf>>

Avaliação do uso da fitase em dietas à base de fontes vegetais na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Resumo geral

Recentemente a utilização de ingredientes de origem vegetal na formulação de rações para peixes tem recebido grande atenção. Porém estas dietas são ricas em fósforo fitico, uma forma não absorvida pelos peixes que se complexa com nutrientes essenciais impedindo a absorção destes. Desta forma o objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de absorção e deposição corporal de fósforo pelos peixes utilizando a enzima fitase em duas formas de inclusão para pacu, bem como avaliar a influencia da extrusão na atividade da enzima. O experimento teve duração de 75 dias, utilizando um sistema com 30 unidades experimentais, com volume de útil de 300 litros, em recirculação fechada com filtragem biológica e mecânica. Foram testados 6 tratamentos com 5 repetições, tratamento 1 (sem adição de fosfato), 2 (com fosfato inorgânico), 3 (adição de fitase granulada 1500 UFA.kg⁻¹), 4 (Adição de fitase granulada 3000 UFA.kg⁻¹), 5 (adição de fitase líquida 1500 UFA.kg⁻¹) e 6 (adição de fitase líquida 3000 UFA.kg⁻¹). Foram analisados, ganho de peso, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica, taxa de crescimento específico, sobrevivência, retenção de fósforo (ração, ossos, sangue) e análise da atividade enzimática para avaliação da influência do processamento. Os resultados obtidos no experimento foram submetidos a análise de variância ANOVA e teste estatístico de Tukey ao nível de significância de 5%. Ao final do estudo foram observadas diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todos os parâmetros avaliados. O desempenho zootécnico melhorou nas dietas contendo fósforo inorgânico (T1) seguido da dieta contendo 1500 UFA.kg⁻¹ de fitase líquida (T5). O fósforo plasmático e fósforo nas vértebras apresentaram os melhores resultados nas dietas contendo 1500 UFA.kg⁻¹ de fitase líquida (T5) e na dieta contendo fósforo inorgânico (T1) respectivamente. O processamento afetou de forma negativa a atividade da enzima. A suplementação com fitase líquida em dietas para pacu melhoraram o desempenho zootécnico da espécie, além de apresentarem melhores resultados de fósforo no plasma sanguíneo. A fitase líquida apresentou os melhores resultados quando comparada com a enzima na forma granulada, utilizando a extrusão como forma de processamento.

Palavras-chave: aquicultura, nutrição, hematologia, fósforo.

Evaluation of the use of phytase in plant sources based diets on the feeding of pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Abstract

Recently the use of plant-based ingredients in the formulation of fish feed have a very importance. However those diets are rich in phytic phosphorus, a non absorbed form by the fish that chelates essential nutrients avoiding their absorption. Thus the aim of this study was to evaluate the absorption and body deposition of phosphorus by the fish using the enzyme phytase in two forms of inclusion for pacu fish. The experiment lasted 75 days, using a system with 30 experimental units, with useful volume of 300 liters, closed recirculation with biological and mechanical filtration. Six treatments were tested in 5 replications: treatment 1 (without addition of phosphate); 2 (with inorganic phosphate); 3 (addition of phytase granulate 1500 FTU); 4 (Adding phytase granulate 3000 FTU), 5 (addition of liquid phytase 1500 FTU) and 6 (addition of liquid phytase 3000 FTU). Weight gain, feed conversion, protein efficiency ratio, specific growth rate, survival and phosphorus (feed, bones, blood plasma) were analyzed. The results obtained in the experiment were analyzed by ANOVA variance analysis and Tukey statistical test at a significance level of 5%. At the end of this experiment, statistical differences were observed ($p < 0.05$) amongs treatments for all parameters. Growth performance fared better in the diets containing inorganic phosphorus (T1) followed the diet containing 1500 UFA/kg of liquid phytase (T5). Results showed better values for plasma phosphorus and phosphorus in the vertebrae in the diets containing 1500 UFA/kg of liquid phytase and inorganic phosphorus, T5 and T1 respectively. In conclusion, supplementation with liquid phytase in diets for pacu improved the growth performance of the species, in addition to presenting the highest values of phosphorus in the blood plasma. The liquid phytase showed the best results when compared with the enzyme in granulated form using extrusion as a method of processing.

Keywords: aquaculture, nutrition, hematology, and phosphorus.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em 2013, as previsões do consumo de pescados no mundo aproximam-se a 20 kg *per capita* ao ano, com produção estimada de mais de 160 milhões de toneladas. Essa tendência de crescimento vem sendo observada e, atualmente, quase metade da produção de pescado tem sua origem na aquicultura, já que existe um evidente declínio da pesca extrativista (FAO, 2013). Assim, o aumento do consumo *per capita* de pescado será cada vez mais dependente da disponibilidade dos produtos da aquicultura e sua capacidade de suprir às necessidades do mercado consumidor (ROCHA et al., 2013).

Intensificar uma criação para suprir um aumento na demanda do mercado, implica aumentar a quantidade de biomassa de animais por área, à custa do fornecimento constante de um alimento nutricionalmente adequado (ARRUDA, 2004). Uma vez que tal suprimento de alimento perfaz 30 a 70% do total dos custos operacionais da aquicultura intensiva (KAUSHIK, 1989), a alimentação torna-se o fator unitário mais importante para o gerenciamento das criações modernas.

Segundo Takahashi (2005) da produção total de peixes criados no mundo, 88% é composta por peixes de hábitos onívoros ou herbívoros, que consomem, anualmente, 73 mil toneladas de farinha de peixe na composição de suas rações.

As fontes proteicas de origem animal (farinha de peixe) normalmente são ingredientes caros, além de serem considerados mais ofensivos ao meio aquático, pois liberam uma quantidade maior de nutrientes (GABER, 2006), por isso vários nutricionistas têm realizado estudos com o propósito de utilizar fontes de origem vegetal (mais baratas, mais abundantes e com menor potencial poluidor) como substituto parcial ou total àquelas de origem animal (WEBSTER et al., 1997; EL-SAYED, 1999).

A substituição das fontes proteicas de origem animal por fontes proteicas de origem vegetal para espécies onívoras ou herbívoras pode diminuir consideravelmente o impacto ambiental causado pela excreção de nutrientes.

Com o incentivo à produção de biodiesel no Brasil, grande quantidade de subprodutos vegetais vem sendo gerado, principalmente farelos vegetais obtidos após a extração do óleo (PARENTE, 2003). O aumento da disponibilidade destes subprodutos (farelos), em geral, com alto valor proteico e com baixo custo, tem servindo de incentivo à busca de alternativas às farinhas de origem animal em dietas para peixes.

1.1 Utilização de fontes proteicas de origem vegetal

A nutrição é uma ferramenta de extrema importância para a aquicultura, devido ao fato de contribuir para o crescimento e manutenção da saúde dos peixes, além de gerar conhecimento sobre as exigências nutricionais, a formulação de dietas balanceadas, sendo estes os pilares para a o desenvolvimento de dietas completas (NRC, 2011). A importância de estudos visando à substituição da farinha de peixe por fontes alternativas de menor custo na aquicultura vem sendo destacada por diversos autores (FABREGAT et al., 2011; FREITAS et al., 2011; LIMA et al., 2012).

As proteínas vegetais se caracterizam por sua alta solubilidade na água e deficiência em alguns aminoácidos (metionina e cistina), baixo custo de proteína (relação volume de proteína por unidade de custo), boa fonte de proteína e energia. Neste caso a deficiência de um ingrediente pode ser complementada com outras fontes proteicas de origem animal ou vegetal com diferenças no perfil de aminoácidos (DAVIS e MILES, 2001).

O farelo de soja (*Glycine max*) é a principal fonte proteica de origem vegetal, pela sua disponibilidade e pelo elevado valor nutritivo (EL- SAYED, 1998; PARENTE, 2003). O Brasil ocupa hoje uma posição estratégica na produção de soja, visto que o País é o segundo maior produtor da oleaginosa do mundo (MAPA, 2014). Dentre as fontes proteicas de origem vegetal, a soja, é considerada a nível global como a opção com maior potencial para substituir a farinha de peixe na formulação das rações comerciais, mesmo que apresente deficiência de alguns aminoácidos sulfurados (POPMA e LOVSHIM, 1996).

Este alimento é uma fonte barata de proteína e aminoácidos essenciais para peixes de cativeiro, pois, dentre as demais fontes proteicas vegetais é o que apresenta melhor perfil aminoacídico, contendo os dez aminoácidos essenciais em quantidades próximas as fontes proteicas de origem animal (Pastore et al., 2013).

O farelo de soja vem sendo utilizado com êxito na substituição total ou parcial da farinha de peixe para a curimatá (*Prochilodus lineatus*), (FABREGAT et al., 2011), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (LIEBERT e PORTZ, 2005; LIMA et al., 2012;) sua inclusão pode variar de 1 à 45%, pois níveis superiores podem prejudicar o processo de extrusão, por conta da baixa quantidade de amido presente no farelo de soja (PASTORE et al., 2013), por conta disso, o farelo de milho (*Zea mays*), rico em amido, está sendo aproveitado em uso combinado com o farelo de soja para facilitar o processo de extrusão.

O farelo de milho apresenta baixo nível proteico, e pouca fibra, é rico em vitaminas B e E, é conhecido por não apresentar ou apresentar poucos fatores anti-nutricionais (pode variar de acordo com a produção do mesmo), entretanto é deficiente em Lisina (NRC, 2011).

A utilização de fontes vegetais em dietas para peixes podem resultar em efeitos diversos em função do conteúdo de fatores anti-nutricionais, principalmente pelo tipo de processamento utilizado em sua obtenção, bem como, no seu armazenamento e processamento final.

1.1.1 Fatores antinutricionais

A avaliação do valor nutricional de um alimento depende principalmente de seus nutrientes e da sua disponibilidade biológica. Depende, também, da presença e de níveis de substâncias tóxicas e/ou anti-nutricionais, as quais podem alterar essa composição ou tornar indisponíveis esses nutrientes (PEZZATO, 1995). Estes podem provocar efeitos fisiológicos danosos ou diminuir a absorção de nutrientes (SILVA e SILVA, 2000).

O termo antinutricional implica em substância com capacidade de alterar as possibilidades de aproveitamento dos nutrientes contidos nos alimentos (CHUBB, 1982). Os fatores antinutricionais tornam indisponíveis os nutrientes de um alimento ou parte desses, diminuem a sua digestibilidade ou metabolismo e/ou reagem de forma antagônica, afetando, portanto, sua eficiência nutritiva. Além desses prejuízos, podem ainda alterar a fisiologia do animal, diminuir o apetite e o desempenho produtivo e, em alguns casos, ser fatal quando utilizado por longo período (FERNANDES, 2010).

Os fatores antinutricionais podem ser amplamente divididos em quatro grupos: a) Fatores que agem na utilização e digestão da proteína, como os inibidores de proteases, taninos e lectinas; b) Fatores que agem na utilização dos minerais dos quais inclui os fitatos, os pigmentos do gossipol, oxalatos e glicosilatos; c) Antivitaminas; d) Substâncias mistas, como as micotoxinas, mimosina, cianogênicos, nitrato, alcalóides, agentes fotossensibilizantes, fitoestrogênios e saponina (FRANCIS et al., 2001; MIURA et al., 2001).

São vários os fatores anti-nutricionais presentes nos produtos e subprodutos de origem vegetal e estes podem diferir significativamente na sua forma de ação, sendo que o potencial desses efeitos depende da espécie animal. Destaca-se também, a habilidade desses anti-nutricionais em resistir parcialmente ao processo térmico, empregado normalmente no processamento de rações (MAKKAR, 1997).

Fósforo fítico ou fitato é a designação dada ao fósforo que faz parte da molécula do ácido fítico, conhecido cientificamente como hexafosfato de inositol ou mio-inositol, podendo compor até 81,0% do conteúdo de fósforo presente nos vegetais (RICHE e BROWN, 1996). Segundo Kornegay (1999) o fitato está presente em todos os vegetais e, de modo geral, contem alta quantidade de fósforo (28,2%), com grande capacidade de quelação com outros minerais e proteínas, o que lhe confere denominação de antinutriente (LIU et al., 1998).

Os monogástricos em geral não conseguem aproveitar ou aproveitam pouco o fosforo fítico devido à falta de enzimas intestinais para hidrólise do fitato durante a digestão (JACKSON e LI, 1996). Portanto, a maior parte do fitato-P acaba sendo excretado na água podendo causar poluição na forma de eutrofização (LIEBERT e PORTZ, 2005). Além disso, a absorção e a biodisponibilidade de minerais indispensáveis, como cálcio, zinco, magnésio e de ferro, também podem ser afetados negativamente por formação de quelatos insolúveis com fitato (PAPATRYPHON et al., 1999) . O fitato também pode se combinar com proteína e vitaminas, formando complexos insolúveis reduzindo sua eficiência de utilização, atividade, e digestibilidade (LIU et al., 1998; SUGIURA et al., 2001).

Segundo Riche & Brown (1996) a porcentagem de fosforo na forma de fitato em alguns ingredientes seriam de 59,3% para o farelo de amendoim; 63,1% para o farelo de algodão; 81,7% para o farelo de soja; 51,9% para o glúten de milho e 56,3% para a canola. O fitato presente nesses alimentos, além de se apresentar na forma de fosfato não disponível para os animais monogástricos, forma em pH neutro, grande variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes (KORNEGAY, 1999).

Fósforo e nitrogênio são os principais nutrientes responsáveis pela eutrofização da água. Por isso, na formulação de dietas de baixa poluição, os níveis de proteína, fósforo e minerais, a relação entre proteína e energia da dieta e a digestibilidade dos alimentos devem ser cuidadosamente avaliados. Consequentemente, qualquer melhora na qualidade da dieta e no manejo alimentar, deve ser considerado importante para redução do nível de poluição proveniente da atividade da piscicultura intensiva (KAUSHIK, 1992, CHO et al., 1994).

Uma alternativa que vem sendo estudada é a utilização da enzima fitase em dietas para peixes. Alternativa esta que já se mostrou eficiente para os demais monogástricos (aves e suínos), tanto na melhora do desempenho zootécnico quanto na diminuição da excreção de nutrientes pelos mesmos, consequentemente melhorando a absorção de nutrientes nestes animais e diminuindo a excreção de nutrientes.

1.2 A enzima fitase e sua utilização em dietas para peixes

A fitase é um aditivo que hidrolisa as moléculas de fitatos para promover a liberação do fósforo inorgânico, ligado aos ingredientes de origem vegetal, utilizados na alimentação animal. Utilizando-se a fitase como aditivo na alimentação animal, diminui-se a exigência de suplementação de fósforo inorgânico e, conseqüentemente, diminui a excreção de fósforo nas fezes. Desta forma, o animal e o ambiente são beneficiados.

A primeira fitase comercial derivada de *Aspergillus niger* com a capacidade de hidrolisar fitato e reduzir a excreção de fósforo, foi introduzido no mercado em 1991 (SELLE, 2006). *Natuphos*[®] foi a primeira fitase disponível comercialmente em 1991, a partir de uma estirpe de *A. niger* geneticamente modificado. Desde então, atividade de fitase é definida como unidades de fitase ativa (UFA), onde uma UFA é definida como a quantidade de enzima que libera 1 micromol de P-inorgânico por minuto a partir de fitato de sódio $0,0015 \text{ mol}^{-1}$ em pH 5,5, e 37° C (SIMONS et al., 1990).

Depois de meados dos anos 1990, mais e mais estudos sobre os efeitos da fitase suplementar sobre a utilização de nutrientes ou o crescimento de peixes foram iniciados em espécies aquícolas comuns, tais como truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), carpa comum (*Cyprinus carpio L.*), bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (FORSTERS et al., 1999; SCHÄFER e KOPPE, 1995; LI et al., 1997; ROBINSON et al., 2002; LIEBERT e PORTZ, 2005).

Vários produtos de fitase microbiana são comercialmente disponíveis, sendo que a fitase pode ser incluída em alimentos para peixes nas formas de pó, granulado em rações peletizadas ou na forma líquida através de sua inclusão pós-extrusão, evitando assim problemas de termo-estabilidade por exposição a altas temperaturas durante o processamento.

O excesso de calor deve ser evitado durante a fabricação das rações (VIELMA, RUOHONEN e PEISKER 2002). A temperatura durante o processamento dos alimentos frequentemente é superior a 65° C, podendo desativar a atividade da fitase dentro de uma variação de pH 2,5-5,5, a fitase microbiana pode ganhar ótima atividade. A enzima mostra diferente eficiência em peixes de diferentes espécies em virtude da variação morfo-fisiológica de seus tratamentos digestivos (CAO et al., 2007).

Estudos demonstram que a adição de fitase nas rações tem o potencial de melhorar: o valor nutritivo dos alimentos, como por exemplo, a digestibilidade de nutrientes e energia, conversão alimentar e também o crescimento, além de reduzir a descarga de fósforo e outros

minerais no ambiente (SCHÄFER e KOPPE, 1995; FURUYA et al., 2001; ZHU et al., 2015; DERSJANT- LI et al., 2015).

Schäfer e Koppe (1995) em estudo com a carpa comum (*Cyprinus carpio*), utilizando dois níveis de fitase 500 e 1000 UFA.kg⁻¹, em dieta a base de farelo de soja, concluíram que ambos os níveis reduziram a excreção de fósforo fecal. Entretanto, não constatarem diferenças em relação ao ganho de peso, digestibilidade da proteína, extrato etéreo e energia. Furuya et al. (2001) determinaram que a recomendação de utilização de fitase esteja entre 500 e 1500 UFA.kg⁻¹ de ração, melhorando a disponibilidade de cálcio e fósforo, crescimento, mineralização óssea e digestibilidade proteica para a tilápia-do-Nilo. Resultados semelhantes foram demonstrados para a mesma espécie por Portz et al. (2003), Portz e Liebert (2004; 2005) utilizando-se 1000 UFA.kg⁻¹ de ração, que obtiveram resultados de desempenho e utilização mineral semelhante a da dieta baseada em fontes vegetais e suplementada com fósforo inorgânico.

Gonçalves et al. (2007) avaliaram o efeito da enzima fitase (0, 1000 e 2000 UFA.kg⁻¹) na disponibilidade aparente do P do milho, milho extrusado, glúten de milho, farelos de trigo, de arroz e sorgo, soja extrusada, soja, girassol, e algodão utilizando uma ração à base de albumina e gelatina, empregando juvenis de tilápia do Nilo com peso médio de 100,0 g. Estes autores concluíram que a fitase aumenta a disponibilidade do P dos alimentos e que a suplementação de até 2000 UFA.kg⁻¹ não aumentou a disponibilidade aparente do fósforo do farelo de algodão e do farelo de trigo.

Bock et al. (2007) avaliaram a ação da fitase no desempenho, incorporação e excreção de fósforo para tilápia do Nilo. Para tanto, por 82 dias foram comparadas rações em que o controle foi suplementado com fósforo e os demais tratamentos com fitase (1000, 1500 e 2000 UFA.kg⁻¹). Os resultados demonstraram que o uso da enzima nas rações pode reduzir o nível de inclusão de fósforo inorgânico na dieta, diminuindo assim o impacto ambiental provocado por área de produção.

O fitato pode complexar com outros minerais reduzindo assim suas biodisponibilidades. Com a ação da fitase o fitato é hidrolisado aumentando assim a concentração de sais minerais como o magnésio, cálcio, manganês e zinco nos tecidos (VIELMA et al. 2002). Bagres do canal alimentados com suplemento de fitase tiveram concentrações mais elevadas de cinzas, cálcio, fósforo e manganês no tecido ósseo das vertebrae do que em peixes alimentados com uma dieta controle (YAN; REIGH e XU, 2002).

Suplemento de fitase em dietas com truta arco-íris melhorou o coeficiente de digestibilidade aparente dos minerais, exceto para cobre e ferro (CHENG, 2004). Outros

resultados semelhantes foram relatados aumentando a disponibilidade de minerais e melhorando sua retenção em carpa comum (SCHÄFER et al., 1995), salmonídeos (STOREBAKKEN et al., 2000), e tilápia do Nilo (LIEBERT e PORTZ, 2005).

Porém em alguns casos, somente a suplementação de fitase não é suficiente para suprir as necessidades dos peixes, assim a formulação de uma dieta com um bom balanço de minerais é de grande importância para a que haja melhoria no desempenho. De acordo com Satoh et al. (1987), o aumento na disponibilidade do fósforo da dieta proporcionado pela adição de fitase, não é acompanhado pela disponibilidade do zinco, o que diminui a disponibilidade deste último mineral, causando prejuízos ao desempenho.

Segundo Porn-Ngam et al. (1993), à medida que a relação cálcio:fósforo da dieta aumenta de 1:1 (base em valores de cálcio e fósforo total), houve melhora nos efeitos inibitórios do cálcio e fósforo sobre a absorção do zinco. Ainda, quando há excesso de cálcio (alta relação cálcio:fósforo), esse mineral pode se ligar ao fósforo fítico que, por sua vez, liga-se ao zinco. Por outro lado, quando a relação cálcio:fósforo é baixa, ou seja, quando há excesso de fósforo, ocorre queda na absorção de cálcio e do zinco.

Muitas questões relacionadas ao fitato e modo de ação da fitase em dietas para peixes permanecem sem respostas. A atividade da fitase é largamente dependente de muitos fatores, a exemplo do pH e temperatura adequada durante o processamento. Dado que os peixes são monogástricos ou agástricos, os efeitos da fitase sobre o crescimento e utilização de nutrientes varia de espécie a espécie (LIEBERT e PORTZ, 2005).

Atualmente, as pesquisas são focadas principalmente sobre os efeitos de fitase em diferentes fases de crescimento dos peixes, o estudo de dose-resposta, os tipos específicos de fitase para cada espécie, e as formas mais eficientes de suplementação (DEBNATH et al., 2005). Ademais, está bem documentado que o uso de fitase na ração pode aumentar a biodisponibilidade de P e nitrogênio e, portanto, menos P é descarregado no ambiente aquático (RODEHUTSCORD e PFEFFER, 1995). Por isso, o uso da fitase é considerada pelos nutricionistas uma importante alternativa para se alcançar o patamar sustentável para as produções aquícolas.

1.3 Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Dentre as espécies nativas migradoras com potencial zootécnico, podemos destacar o pacu, pertencente à superordem *Ostariophysi*, que inclui os peixes de maior valor comercial na pesca e na piscicultura brasileira. Integra a ordem *Characiformes*, um grupo dominante

entre os principais grupos de peixes de água doce da América do Sul, a qual está amplamente distribuída na região neotropical e apresenta o maior número de famílias. A subfamília *Myleinae* inclui esta espécie e é representada por peixes herbívoros, preferencialmente frugívoros. Dentre os gêneros, destaca-se o *Piaractus* e a espécie *Piaractus mesopotamcius* foco deste estudo (URBINATI et al., 2010).

A espécie é originária da bacia do Prata (GODOY, 1975) e está distribuída da Argentina até a região centro-oeste do Brasil. Segundo dados do Ministério da Pesca e Aquicultura (2010), esta é a quarta espécie de peixe mais produzida e consumida no Brasil atingindo em 2009 a produção anual de 18,171 toneladas, ficando atrás somente da tilápia, da carpa e do tambaqui (*Colossoma macropomum*). A importância da produção de pacu no país deve-se as suas características zootécnicas, tais como rusticidade sob condição de criação, aceite de ração tanto extrusada quanto peletizada, altas taxas de crescimento, desova anual, carne de boa qualidade e grande aceitação no mercado nacional (JOMORI et al., 2005). A espécie apresenta hábito alimentar onívoro, ocorrendo alterações alimentares de acordo com as variações do ambiente e períodos de migrações reprodutivas (URBINATI et al., 2010).

Entre as espécies nativas, o pacu (*P. mesopotamicus*) destaca-se para o cultivo em tanques-rede pela fácil adaptação ao cultivo e pela baixa exigência de proteína (FERNANDES et al., 2000; SIGNOR et al., 2010) e caracteriza-se por hábito alimentar onívoro, rápido crescimento, carne de excelente qualidade e boa aceitação pelos consumidores (JOMORI et al. 2003). A espécie apresenta facilidade na aceitação de dietas artificiais, bem como na substituição de fontes proteicas de origem animal, por fontes de origem vegetal por conta de seu hábito alimentar, sendo que o farelo de soja é a fonte mais utilizada. Para suprir a exigência de fósforo da espécie, existe a necessidade de uma suplementação com fosfato inorgânico em rações totalmente com ingredientes de origem vegetal.

Segundo Signor et al. (2011) 0,40% de fósforo total em dietas baseadas em farelo de soja, para juvenis de pacu se fazem necessárias para suprir a exigência da espécie. Entretanto a utilização da enzima fitase melhora a absorção do fósforo, já presente nos farelos e não disponíveis para os peixes, aumentando a biodisponibilidade do nutriente e diminuindo as excreções do mesmo para o meio aquático. Embora existam pesquisas que descrevem o uso da enzima fitase para espécies tropicais, a utilização de dietas à base de subprodutos vegetais suplementada com esta enzima ainda não foi bem elucidada à respeito da absorção e utilização dos nutrientes para espécies nativas com importância comercial para a aquicultura nacional.

2. REFERENCIAS

- ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo**, Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2004.
- BOCK, L.C. et al. Fitase em rações para tilápia-do-nilo na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36: 1455-1461. 2007.
- CAO, L. et al. Application of microbial phytase in fish feed. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40: 497-507, 2007.
- CHENG, Z.J. Apparent digestibility of dry matter and nutrients in rainbow trout fed phytase pretreated soybean meal diets. **Journal of Feed Corner**: v.16:32–4. 2004.
- CHO, C. Y. et al. Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. **Aquaculture**; v.124, p.293-305. 1994.
- CHUBB, L. G. **Anti-nutritive factors in animal feedstuffs**. In: HARESTING, W. Studies in agricultural and food science Butterworth's. Recent Advances in Animal Nutrition. p.21-37, 1982.
- DAVIS, D. A., & MILES, R. D., Maximize a eficiência da ração mediante o manejo adequado da proteína. **Revista da ABCC**, v.2: 60-63. 2001.
- DEBNATH, D.; PAL, A.K.; SAHU, N.P. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* fingerlings. **Aquaculture Research**; v. 36(2):180–7. 2005.
- DERSJANT -LI, Y. et al. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 878-896, 2015.
- EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**; v.179, n.1-4, p.149-168, Sept. 1999.
- FABREGAT, T.H.P.et al. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37: 289-294. 2011.
- FERNANDES, J.B.K.; CARNEIRO, D.J.; SAKAMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, 246-253, 2000.
- FERNANDES, R. N. **Valor nutritivo do farelo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) para alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)–Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura,, Jaboticabal, 2010.

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food outlook:** biannual report on global food markets. Rome: FAO, 2013. 134p.
- FORSTER, I. et al. 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**; v.179(1):109–25. 1999.
- FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish: review. **Aquaculture**, v.199, p.197-227, 2001.
- FREITAS, J.M.A. et al. Proteína e energia na dieta de jundiás criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2628-2633, 2011.
- FURUYA, W.M. et al. Fitase na Alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.): Desempenho e Digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30: 924-929. 2001.
- FURUYA, W. M. et al. Fitase em rações para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 489-496, 2008.
- GABER, M. M. The effects of plant-protein-based diets supplemented with Yucca on growth, digestibility, and chemical composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) fingerlings. **Journal of the World Aquaculture Society**, Oxford, v.37, p.74-81, Mar. 2006.
- GODOY, M. P. Peixes do Brasil: subordem Characoidei: Bacia do rio Mogi Guaçu. Piracicaba: Franciscana. 1-4:216.1975.
- GONÇALVES, G. S. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 2155-2163, 2005.
- JACKSON, L.; LI, M.H.; ROBINSON, E.H. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. **Journal of the World Aquaculture Society**; v.27(3):309–13. 1996.
- JOMORI, R.K. et al. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v.221, p.277-287, 2003.
- JOMORI, R.K. et al. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, v.243:175-183. 2005.
- KAUSHIK et al. Partial or total replacement of fish meal by soya protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout. **Aquaculture**, v.133, 257–274. 1995.

- KAUSHIK, S.J. **Use of alternative protein sources for intensive rearing of carnivorous fishes.** In: SHIAU, S.Y. (Ed). Progress in Fish Nutrition. Proceedings of the Fish Nutrition Symposium, September 6-7, Keelung, Taiwan ROC, p: 181-208. 1989.
- 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, p. 461-489. 1999.
- LI, M.H.; ROBINSON, E.H. Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets. **Journal of the World Aquaculture Society**; v.28:402–6. 1997.
- LIEBERT, F.; PORTZ, L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. **Aquaculture**; v.248:111–9. 2005
- LIMA, M. R. et al. Performance and digestibility of Nile tilapia fed with pineapple residue bran. **Acta Scientiarum, Animal Sciences.** v.34, n.1. 2012.
- LIU, B.L.; RAFING, A.; TZENG, Y.M. The induction and characterization of phytase and beyond. **Enzyme Microbiology Technology**; v.22:415–24. 1998.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the Moringa oleifera tree. **Journal Agriculture Science, Cambridge**, v. 128, p. 311–322, 1997.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Assessoria de Gestão Estratégica. **Produtividade total dos fatores.** Brasília, DF, Brasil.2011.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA, 2010, Produção pesqueira e aquícola - estatística 2008-2009. Disponível em www.mpa.gov.br/.
- MIURA, E. M. Y. et al. Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor Kunitz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrição**, v.51, n.2, p.195-198, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington: The National Academies, 2011.
- PAPATRYPHON E, HOWELL RA, SOARES JH. Growth and mineral absorption by striped bass *Morone saxatilis* fed a plant feedstuff based diet supplemented with phytase. **Journal of the World Aquaculture Society**; v.30:161–73. 1999.
- PARENTE, E. J. S. Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Tecbio, 2003.

- PASTORE, S.C.G. et al. **Formulação de rações e boas práticas de fabricação.** In: FRACALOSSO, D.M. e CYRINO, J.E.P. Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. NUTRIAQUA. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia aquática, Gráfica e Editora Copiart Ltda. p.293-346. 2012.
- PEZZATO, L. E. Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: Simpósio Internacional Sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos. Campos do Jordão. Proceedings... Campos do Jordão, Brasil: CBNA, p.33-52, 1995.
- POPMA, T. J.; LOVSHIN, L.L.; **Worldwide prospects for commercial production of tilapia.** International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, 1996.
- PORN-NGAM, N. et al. Effect of the ratio of phosphorus to calcium on zinc availability to rainbow trout in high phosphorus diet. **Nippon Suisan Gakk.**, Tokyo, v. 59, p. 2065-2070, 1993.
- PORTZ, L., BENKENDORFF, K., LIEBERT, F., **Growth and mineral absorption of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed a plant based diet supplemented with microbial phytase.** In: Cooksey, J. (Ed.), Proceedings of the World Aquaculture Society, Salvador, Brazil, v. 1, p. 592. 2003.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2006. Resolução nº357 de 17 de março de 2005, (<http://www.mma.gov.br/conama>). Acesso: 08/06/2015.
- LIEBERT, F.; PORTZ, L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. **Aquaculture**, v. 248, n. 1, p. 111-119, 2005.
- PORTZ, L.; LIEBERT, F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant-based diets with graded levels of microbial phytase. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 88, n. 9- 10, p. 311-320, 2004.
- RICHE, M.; BROWN, P. B. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 142, p. 269-282, 1996.
- ROBINSON, E.H.; LI, M.H.; MANNING, B.B.; Comparison of microbial phytase and dicalcium phosphate for growth and bone mineralization of pond-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of Applied Aquaculture**; v.12:81–8. 2002.
- ROCHA, C. M. C. D. et al. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 48(8), iv-vi. 2013.

- RODEHUTSCORD, M.; PFEFFER, E. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Water Science Technology**; v.31(10):143–7. 1995.
- SATOH, S. et al. Effect of dietary tri-calcium phosphate on availability of zinc to rainbow trout. **Nippon Suisan Gakk.**, Tokyo, v. 53, p. 1199-1205, 1987.
- SCHÄEFER, A.; KOPPE, W.M.; Effect of a microbial phytase on utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. **Water Science Technology**.; v.31(1):149–55. 1995.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science Technology** 2006.
- SIGNOR, A. A. et al. Fósforo na alimentação de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 2646-2650, 2011.
- SIGNOR, A.A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. et al. Proteína e energia na alimentação de pacus criados em tanques-rede. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, n.11, p.2336-2341, 2010.
- SILVA, M. R.; SILVA, M.A.A.P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição** (Impresso), v. 13, p. 3-9, 2000.
- SIMONS, P. C. M. et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 64, n. 02, p. 525-540, 1990.
- STOREBAKKEN, T.; REFSTIE, S.; RUYTER, B. Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: Drackley JK, editor. Soy in animal nutrition. IL, USA: **Federation of Animal Science Societies**; p.127–70. 2000.
- SUGIURA, S.H. et al. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) fed soybean meal-based diets. **Aquaculture Research**; v.32:583–92. 2001.
- TAKAHASHI, N. S. **Nutrição de peixes. Textos técnicos**. Instituto de Pesca. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo.2005.
- URBINATI, E.C.; GONCALVES, F.D.; TAKAHASHI, L.S. Pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: Bernardo Baldisseroto; Levy de Carvalho Gomes. (Org.). Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. 2 ed. Santa Maria: Editora UFSM, 1-606p. 2010.
- VIELMA J, RUOHONEN K, PEISKER M. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**; v.204(1):145–56. 2002.

WEBSTER, C. D et al. Growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal. **Aquaculture**, v.50, n.1-2, p.103-112, Nov. 1997.

YAN, W.; REIGH, R.C.; XU, Z. Effects of Fungal Phytase on Utilization of Dietary Protein and Minerals, and Dephosphorylation of Phytic Acid in the Alimentary Tract of Channel Catfish *Ictalurus punctatus* Fed an All Plant Protein Diet. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 1, p. 10-22, 2002.

ZHU, W. X. et al. The optimum active site of acidic phytase in the gastrointestinal tract of channel catfish (*Ictalurus punctatus*): in vitro and in vivo studies. **Aquaculture Nutrition**, 2015.

CAPÍTULO I - Avaliação do uso da fitase em dietas à base de fontes vegetais na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

1. INTRODUÇÃO

Na última década a aquicultura foi considerada o segmento da produção animal que mais cresceu no mundo cerca de 390% (CARVALHO e CHAMMAS, 2010). No Brasil essa situação não é diferente, com a enorme disponibilidade de água de boa qualidade, grande diversidade de espécies com potencial produtivo e de alto valor comercial, o país é apontado como grande promessa do setor produtivo mundial.

Considerando a diversidade das espécies de peixes e consequente diferenciação morfofisiológica e comportamental, a nutrição de peixes apresenta-se como uma grande área de estudos, onde não cabem generalizações, sendo cada caso merecedor de atenção específica (OLIVEIRA, 2005).

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Holmberg, 1887) é um peixe da família *Characidae*, largamente distribuído em território brasileiro, sendo originalmente encontrado na Bacia do Prata e no Pantanal (BORGHETTI e CANZI, 1993; PAI et al., 2000). É considerado um peixe onívoro, com forte tendência a herbívoro, alimentando-se de frutos, detritos orgânicos, crustáceos, moluscos e pequenos peixes. As condições ideais para seu desenvolvimento são água de pH ligeiramente ácido e temperatura em torno de 26°C. Seu corpo apresenta forma de disco, com escamas pequenas e numerosas e possui dentes molariformes que podem quebrar pequenos frutos fibrosos e duros.

O pacu se tornou uma espécie estratégica e sua criação comercial vem crescendo devido ao sabor de sua carne, o baixo custo de manutenção, a resistência a patógenos, a baixa exigência quanto à qualidade da água, pela alta adaptabilidade ao cultivo em tanques e viveiros além de ser uma das espécies mais apreciadas na pesca esportiva (ABIMORAD e CARNEIRO, 2004; JOMORI et al., 2008). Bem como a maioria das espécies de peixes nativas apresentam pesquisas escassas ou recentes, sendo que um dos principais enfoques que a espécie tem recebido ultimamente são as pesquisas com relação a sua exigência nutricional.

Atualmente, um dos principais desafios para a nutrição de peixes é identificar alternativas economicamente viáveis e ecologicamente menos agressivas para substituir a farinha de peixe, principal ingrediente utilizado como fonte proteica nas dietas utilizadas na piscicultura (GATLIN III et al., 2007). As fontes proteicas de origem animal ainda são à base da formulação de muitas dietas para peixes, por apresentarem alto nível protéico, composição de aminoácidos equilibrada e pouco ou nenhum fator antinutricional (EL-SAYED, 1999).

Como forma de substituir os ingredientes de origem animal, várias fontes de farinhas e farelos de origem vegetal têm sido avaliados para inclusão em dietas para organismos

aquáticos. A composição destes ingredientes é constante, seu preço é reduzido e a disponibilidade é maior quando comparados às farinhas de origem animal, comumente utilizadas na formulação de dietas, entretanto a presença de compostos tóxicos ou inibidores de crescimento como fatores anti-nutricionais têm limitado a inclusão destes produtos em rações (GATLIN III et al., 2007). Um ponto negativo para o uso de fontes vegetais, é que estas muitas vezes não apresentam um bom perfil aminoacídico, necessitando assim de complementação destes por meio de aminoácidos sintéticos.

Da mesma forma em rações com origem vegetal para peixes cerca de 0,25 a 0,60% da concentração total de fósforo é apresentada na forma do complexo de fósforo fítico, proveniente das paredes celulares das sementes de cereais e grãos de leguminosas comumente utilizadas na composição das dietas. Peixes, assim como animais monogástricos, são incapazes de aproveitar esta porção de fósforo fítico, já que este se apresenta complexado e indisponível para absorção no trato gastrointestinal. Além disso, esta forma de fósforo possui alto potencial de quelação, formando assim ampla variedade de sais insolúveis com cálcio, magnésio, cobre, zinco, ferro e proteínas reduzindo, consideravelmente, a biodisponibilidade destes nutrientes para absorção dos peixes, afetando assim o desempenho zootécnico da espécie (CAO et al., 2007).

Fósforo e nitrogênio são os principais nutrientes responsáveis pela eutrofização da água. Por isso, na formulação de dietas de baixa poluição, os níveis de proteína e fósforo, a relação proteína/energia da dieta e a digestibilidade dos alimentos devem ser cuidadosamente avaliados. Conseqüentemente, qualquer melhora na qualidade da dieta e no manejo alimentar, deve ser considerado importante para redução do nível de poluição proveniente das pisciculturas intensivas (KAUSHIK, 1992, CHO et al., 1994).

A ocorrência de complexos proteína/aminoácido-fitado ou mineral/proteína-fitado reduzem a utilização de proteínas pelo peixe que se tornam mais resistentes a digestão proteolítica (pepsina e tripsina) no trato gastrintestinal. Assim, a molécula de fitato tem influência negativa sobre a digestão de proteínas, aminoácidos e energia na ração.

A fitase não é estável ao calor, devem ser evitadas altas temperaturas durante a fabricação das dietas (VIELMA, RUOHONEN e PEISKER 2002). A temperatura durante o processamento de alimentos frequentemente é superior a 65°C, temperatura esta que desativa a atividade da enzima (CAO et al., 2007).

Em estudos realizados por Portz et al. (2003) com tilápias-do-Nilo, a adição de fitase microbiana às rações reduziu em 30 a 60% a excreção de fósforo pelas fezes e melhorou

significativamente os coeficientes de digestibilidade da proteína, retenção proteica na carcaça e concentrações de fósforo plasmático e ósseo.

Os efeitos positivos da suplementação de fitase sobre o crescimento, eficiência alimentar, retenção de minerais na carcaça e digestibilidade da proteína e disponibilidade dos minerais foram demonstrados em trabalhos realizados com a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (RODEHUTSCORD e PFEFFER, 1995; LANARI et al., 1998; VIELMA et al., 1998 e FORSTER et al., 1999), bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (JACKSON et al., 1996), tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (FURUYA et al., 2001; LIEBERT e PORTZ, 2005; RACHMAWATI e SAMIDJAN, 2014), tambaqui (*Colossoma macropomum*) (MENDONÇA et al. 2012) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (FURUYA et al., 2008).

Com base no exposto, faz-se necessário investigar o efeito da suplementação por fitase líquida e granulada, em dietas extrusadas para o pacu, compostas por ingredientes de origem vegetal.

2. OBJETIVO

O presente estudo avaliou o efeito da fitase microbiana na forma líquida e granulada em dietas extrusadas na alimentação e sua influência na capacidade de absorção de nutrientes de fontes de origem vegetal para o pacu (*P. mesopotamicus*).

Para alcançar este objetivo, os parâmetros experimentais adotados foram o desempenho zootécnico, o acúmulo de fósforo no plasma sanguíneo e vértebras, eficiência alimentar, deposição e utilização de fósforo, e a absorção mineral aparente, utilizando dietas extrusadas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Acondicionamento e manejo dos peixes

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina, entre os meses de dezembro a março de 2014, tendo duração total de 75 dias.

Foram utilizados 450 juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com peso inicial médio de $1,93 \pm 0,25$ g e comprimento total inicial médio de $5,11 \pm 0,26$ cm. Os peixes foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado contando com seis tratamentos e cinco repetições, utilizando como unidade experimental, 30 caixas de polietileno com volume útil de 300 litros, em um sistema de recirculação com filtragem mecânica e biológica, aeração constante e fotoperíodo natural, totalizando assim 15 peixes por unidade experimental.

3.2 Parâmetros de qualidade de água

A temperatura foi mensurada duas vezes ao dia por meio de um termômetro digital (INCOTERM[®] modelo 6132). O oxigênio era aferido diariamente por meio de um oxímetro (ALFAKIT[®] modelo AT 170). O pH foi determinado semanalmente através de um medidor de pH digital portátil (ALFAKIT[®] modelo AT 315). Os tanques foram sifonados de acordo com a necessidade e as análises de amônia, nitrito, ortofosfato, alcalinidade e dureza foram realizadas semanalmente seguindo metodologias descritas respectivamente por APHA (1980) e Boyd (1982).

3.3 Preparo e composição das dietas

As dietas foram constituídas a base de farelo de milho e soja (Tabela 1) formuladas com o auxílio do programa WinFumi 4 da empresa HYBRIMIN[®] de modo a conter diferentes níveis de fitase (Natuphos[®] – BASF), granulada e líquida na seguinte ordem: T₁ Controle negativo (sem fosfato inorgânico), T₂ Controle positivo (com fosfato inorgânico), T₃ - (1500 UFA.kg⁻¹) granulada, T₄ - (3000 UFA.kg⁻¹) granulada, T₅ - (1500 UFA.kg⁻¹) líquida e T₆ - (3000 UFA.kg⁻¹) líquida (Tabela 2).

A dieta experimental basal utilizada nesse estudo foi formulada isoenergética com 3.200 kcal.kg⁻¹ de energia digestível e isoprotéica com 26% de proteína bruta.

Os ingredientes foram homogeneizados por meio de um misturador experimental (G.PANIZ[®] modelo BP 12C) com capacidade de 8 kg.h⁻¹, a mistura foi processada em extrusora experimental (EXTEEC[®]) com capacidade de produção para 15 kg.h⁻¹, utilizando matriz de 3,0 mm, com sistema de aquecimento desligado e o sistema de refrigeração do canhão ligado, monitorando a temperatura do processo. A extrusão foi realizada no Grupo de Estudo de Manejo da Aquicultura - UNIOESTE - Toledo. Posteriormente, a secagem foi realizada em estufa de recirculação a temperatura de 55°C por um período de 24 horas. Em

seguida foram retiradas, resfriadas à temperatura ambiente, identificadas e acondicionadas em refrigerador a 4°C.

Tabela 1. Ingredientes e níveis nutricionais analisados nas rações testadas. Valores expressos em 100% da matéria original.

<i>Ingredientes</i>	<i>Dietas experimentais*</i>					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Farelo de milho	46,6	46,6	46,6	46,6	46,6	46,6
Farelo de soja	46,6	46,6	46,6	46,6	46,6	46,6
Óleo de soja	2	2	2	2	2	2
Metionina	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Premix® ¹	1	1	1	1	1	1
CaCO ₃	1	1	1	1	1	1
NaCl	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Cr ₂ O ₅	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Amido de milho	2	0	1,97	1,95	1,99	1,97
Fitase	0	0	0,03	0,05	0,01	0,03
NaH ₂ PO ₄	0	2	0	0	0	0
<i>Composição das dietas experimentais²</i>						
Proteína Bruta	27,30	26,52	26,67	26,02	26,42	26,32
Extrato etéreo	4,16	4,18	4,28	4,61	4,6	4,61
Umidade	7,97	9,48	8,05	8,93	8,32	7,97
Matéria Mineral	5,77	6,25	6,47	4,94	5,4	5,47
Cálcio	0,59	0,55	0,58	0,6	0,54	0,55
Fósforo total	0,42	0,75	0,43	0,39	0,41	0,39

*T1 Controle negativo (sem fosfato inorgânico), T2 Controle positivo (com fosfato inorgânico), T3 (1500 UFA.kg⁻¹) granulada, T4 - (3000 UFA.kg⁻¹) granulada, T5 - (1500 UFA.kg⁻¹) líquida e T6 - (3000 UFA.kg⁻¹) líquida.

¹ Níveis 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.

²Composição química analisada das dietas.

A fitase (Natuphos® – BASF) incorporada apresentava concentração de 5000 UFA.g⁻¹

¹ para fitase granulada e 10000 UFA.mL⁻¹ para fitase líquida. A forma granulada foi

adicionada na mistura dos ingredientes na proporção de (1500 UFA.kg⁻¹) e (3000 UFA.kg⁻¹). A adição da fitase líquida foi realizada após a extrusão e secagem dos grânulos, diluída em 4 mL de água por quilograma de ração e adicionada por aspersão por bomba manual de acordo com Silva et al. (2007) na proporção de (1500 UFA.kg⁻¹) e (3000 UFA.kg⁻¹).

O arraçoamento foi realizado em duas refeições diárias às 8:30 e às 17:30 horas sendo este ministrado *ad libitum*.

As dietas foram submetidas a análises bromatológicas para determinação da matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo e proteína bruta e analisadas quanto à atividade da enzima. As análises de atividade enzimática da fitase na ração foram realizadas segundo metodologia descrita por Engelen et al. (1994) por HPLC, as análises foram realizadas no laboratório de qualidade dos alimentos (LQA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE.

3.4 Análise de desempenho zootécnico

No início e no final do experimento os peixes foram pesados para determinação do ganho de peso (GP), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência proteica (TEP) e sobrevivência (S). Para obtenção desses índices foram utilizadas as seguintes fórmulas.

$$GP = PF - PI$$

Onde:

GP = Ganho de peso (g);

Pf = Peso final (g);

Pi = Peso inicial (g).

$$TEP = 100 \times \left(\frac{GP}{PBc} \right)$$

Onde:

TEP (%) = Taxa de eficiência proteica;

PBc = Quantidade de proteína consumida.

$$TCE = 100 \times \frac{(\ln Pf) - (\ln Pi)}{PER}$$

Onde:

TCE (%) = Taxa de crescimento específico;

PER = Período experimental.

Ln = logaritmo neperiano

Para a biometria final os animais foram anestesiados com Eugenol[®] (solução de óleo de cravo) na dose de 60 mg.L⁻¹. Posteriormente 5 peixes de cada tratamento foram separados para análise da composição química da carcaça, seguindo metodologia em AOAC (2000). Foram realizadas análises de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM).

3.5 Análise do plasma sanguíneo

Após a pesagem final os peixes foram encaminhados para coleta de sangue, utilizando seringas de 1 ml com agulhas heparinizadas de 0,60 x 25mm. Foram coletados 500 µl de sangue por punção do vaso caudal em triplicata totalizando 15 peixes por dieta. Após a coleta, o sangue foi centrifugado sob refrigeração a 13000 rpm durante 10 minutos para separação do plasma, armazenado a -20°C. A análise de fósforo plasmático foi realizada por espectrofotometria em um analisador bioquímico automático modelo (MINDRAY BS120) utilizando um kit comercial de fósforo UV (BIOTÉCNICA[®]).

3.6 Análise de fósforo

A análise de retenção de fósforo nas vértebras foi realizada em triplicata totalizando 15 peixes por tratamento. Os peixes foram sacrificados e em seguida submetidos à cocção em forno de micro-ondas, onde foi retirada cuidadosamente a coluna vertebral e em seguida estas foram lavadas com água deionizada para remoção de tecido residual.

Para concentrações de fósforo em peixes, as vertebrae foram determinados em duplicata utilizando o método de digestão nitro-perclórica adaptado das Normas Analíticas Do Instituto Adolfo Lutz (1985), realizadas no laboratório de qualidade dos alimentos (LQA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE.

3.7 Análise Estatística

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à verificação de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e Liliefors e verificado homogeneidade pelo teste de Levene. Quando essas duas exigências foram cumpridas, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os resultados submetidos ao teste de Tukey (P <0,05), utilizando o software Statística[®], versão 7.0 (STATSOFT, 2004).

4. RESULTADOS

4.1 Variáveis de qualidade de água

As variáveis de qualidade de água se mantiveram estáveis durante todo o período experimental, não apresentando diferenças estatísticas ($P>0,05$) entre os tratamentos utilizados (Tabela 3).

Tabela 2. Médias e desvios das variáveis de qualidade água avaliadas ao longo do período experimental.

Variáveis avaliadas	Médias e desvios
Oxigênio dissolvido (mg/L)	7,96 ± 0,87
Temperatura (°C)	28,5 ± 2,48
Amônia (mg/L)	0,047 ± 0,01
Nitrito (mg/L)	0,023 ± 0,01
Nitrato (mg/L)	0,43 ± 0,15
Ortofosfato (mg/L)	0,097 ± 0,01
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	87,9 ± 5,67
Dureza (mg CaCO ₃ /L)	82,3 ± 6,12
pH	7,93 ± 0,27

4.2 Desempenho zootécnico

Os resultados do desempenho zootécnico podem ser observados na tabela 4. As maiores médias observadas foram encontradas no controle positivo, com adição de fósforo inorgânico (tratamento 1), seguido pela dieta contendo 1500 UFA.kg⁻¹ de fitase líquida (tratamento 5) que apresentou médias significativamente semelhantes. A adição da fitase granulada, não apresentou diferença no desempenho zootécnico da espécie quando comparado ao controle negativo (tratamento 1, sem adição de fontes de fósforo).

Foram observadas diferenças estatísticas para todos os parâmetros avaliados ($p<0,05$) exceto a sobrevivência ($p>0,05$), que se manteve igual entre os diferentes tratamentos.

Tabela 3. Desempenho de juvenis de pacu alimentados com dietas baseadas em farelos vegetais contendo diferentes níveis de fitase.

Trat.*	Médias ± Desvio Padrão						
	Peso Final (g.)	Comp. Total (cm)	GPA (g) ¹	TCE(%) ²	TEP(%) ³	CAA ⁴	Sob. ⁵
T1	34,3 ± 1,2 ^c	12,1 ± 0,2 ^c	32,4 ± 1,2 ^c	12,4 ± 0,5 ^c	3,8 ± 0,1 ^c	0,99 ± 0,1 ^b	97,3 ± 6,0
T2	45,0 ± 0,8 ^a	13,3 ± 0,1 ^a	43,1 ± 0,8 ^a	16,6 ± 0,3 ^a	4,2 ± 0,1 ^a	0,82 ± 0,1 ^a	97,3 ± 3,7
T3	37,2 ± 1,0 ^{bc}	12,4 ± 0,1 ^{bc}	35,3 ± 1,0 ^{bc}	13,6 ± 0,3 ^{bc}	3,9 ± 0,1 ^{bc}	0,96 ± 0,1 ^b	97,3 ± 3,0
T4	35,7 ± 1,8 ^c	12,7 ± 0,1 ^{bc}	33,8 ± 1,8 ^c	13,0 ± 0,7 ^c	3,9 ± 0,1 ^c	1,00 ± 0,1 ^b	97,3 ± 3,0
T5	40,1 ± 3,36 ^b	13,0 ± 0,4 ^{ab}	38,2 ± 3,4 ^b	14,7 ± 1,3 ^b	4,0 ± 0,1 ^b	0,96 ± 0,1 ^b	97,3 ± 6,0
T6	37,5 ± 1,0 ^{bc}	12,9 ± 0,1 ^{ab}	35,6 ± 1,0 ^{bc}	13,7 ± 0,4 ^{bc}	4,0 ± 0,1 ^{bc}	1,02 ± 0,1 ^b	97,3 ± 3,7

* T1 Controle negativo (sem fosfato inorgânico), T2 Controle positivo (com fosfato inorgânico), T3 (1500 UFA.kg⁻¹) granulada, T4 - (3000 UFA.kg⁻¹) granulada, T5 - (1500 UFA.kg⁻¹) líquida e T6 - (3000 UFA.kg⁻¹) líquida.

¹Ganho de peso absoluto.

²Taxa de crescimento específico.

³Taxa de eficiência proteica.

⁴Conversão alimentar aparente.

⁵Sobrevivência.

4.3 Análise do plasma sanguíneo e retenção de fósforo nas vértebras

Foram observadas diferenças estatísticas (p<0,05) para os valores de fósforo obtidos no plasma sanguíneo e nas vértebras de pacu (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios de fósforo acumulado no plasma sanguíneo (mg/L) e de fósforo nas vértebras (%) de pacu:

Tratamentos*	Variáveis	
	Fósforo no plasma Mg.L ⁻¹	Fósforo nas vértebras %
T1	75,40 ± 0,74 ^{bc}	0,65 ± 0,03 ^{bc}
T2	93,50 ± 0,61 ^{ab}	1,22 ± 0,07 ^a
T3	67,20 ± 0,56 ^c	0,61 ± 0,07 ^c
T4	61,10 ± 0,40 ^c	0,71 ± 0,11 ^{bc}
T5	107,00 ± 1,73 ^a	0,80 ± 0,13 ^{bc}
T6	71,40 ± 1,07 ^c	0,86 ± 0,03 ^b

* T1 Controle negativo (sem fosfato inorgânico), T2 Controle positivo (com fosfato inorgânico), T3 (1.500 UFA.kg⁻¹) granulada, T4 - (3.000 UFA.kg⁻¹) granulada, T5 - (1.500 UFA.kg⁻¹) líquida e T6 - (3.000 UFA.kg⁻¹) líquida.

Os valores de fósforo plasmático foram mais elevados nas dietas com adição de fitase líquida UFA.kg⁻¹ e com adição de fósforo inorgânico, os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si, além de apresentarem menores concentrações de fósforo.

A mesma tendência do acúmulo de fósforo plasmático, pode ser observada na concentração de fósforo nas vertebras, onde a dieta contendo fósforo inorgânico (T2) e apresentou o melhor valor para esta variável.

4.4 Composição da carcaça

Foram observadas diferenças estatísticas ($p < 0,05$) para todas as avaliações bromatológicas realizadas (Tabela 5). Os maiores valores de proteína bruta e matéria mineral foram observados no tratamento com adição de fósforo inorgânico (T2), este tratamento apresentou também os menores valores de extrato etéreo, indicando uma menor deposição de gordura pelos peixes alimentados com esta dieta.

Tabela 5. Composição química analisada de juvenis de pacu (com base na matéria seca %).

Tratamentos*	Variáveis		
	Proteína Bruta	Extrato etéreo	Matéria mineral
T1	55,58 ± 4,32 ^{ab}	34,53 ± 2,08 ^a	6,75 ± 0,15 ^c
T2	62,06 ± 3,42 ^a	27,85 ± 0,43 ^b	11,38 ± 0,39 ^a
T3	53,70 ± 3,72 ^b	34,17 ± 0,66 ^a	4,95 ± 0,27 ^d
T4	54,67 ± 2,52 ^{ab}	34,71 ± 1,66 ^a	5,75 ± 1,12 ^{cd}
T5	57,77 ± 2,80 ^{ab}	32,73 ± 1,13 ^a	8,06 ± 0,73 ^b
T6	58,96 ± 3,00 ^{ab}	34,11 ± 2,24 ^a	7,50 ± 0,29 ^{bc}

*T1 Controle negativo (sem fosfato inorgânico), T2 Controle positivo (com fosfato inorgânico), T3 (1500 UFA.kg⁻¹) granulada, T4 - (3000 UFA.kg⁻¹) granulada, T5 - (1500 UFA.kg⁻¹) líquida e T6 - (3000 UFA.kg⁻¹) líquida.

4.5 Atividade da fitase após o processamento

Após o processamento as dietas foram submetidas á análise para avaliação da atividade enzimática nas dietas (Tabela 6.). Nas dietas T1 (controle negativo) T2 (controle

positivo) não foi observado atividade de fitase nas dietas, como esperado. Entretanto, nos tratamentos T3 e T4 (com adição de fitase granulada) onde a enzima foi adicionada antes da extrusão, a atividade da enzima foi nula, indicando assim que o processamento acabou por desnaturar a enzima. Nos tratamentos onde a enzima foi adicionada no pós processamento (T5 e T6, enzima líquida) a atividade da enzima se apresentou dentro da faixa idealizada.

Tabela 6. Atividade da enzima nas dietas experimentais após o processamento.

<i>Ingredientes</i>	Dietas experimentais*					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Atividade de fitase(UFA) ³	<100	<100	<100	<100	1670	3100

³Expressão de unidades de fitase de acordo com a metodologia proposta por Engelen et al. (1994).

5. DISCUSSÃO

5.1 Qualidade de água

A concentração média de oxigênio dissolvido, durante o período experimental, foi de 7,96 mg/L, segundo Boyd (1982), os valores obtidos atendem perfeitamente as necessidades dos peixes. Da mesma forma, o potencial hidrogeniônico (pH) manteve-se dentro dos padrões recomendados pelo mesmo autor e por Castagnolli e Cyrino (1986).

Os níveis de alcalinidade total ficaram dentro dos limites preconizados por Tavares (1995). A temperatura da água das unidades experimentais se apresentou adequada para o melhor desempenho zootécnico da espécie, segundo Torloni et al. (1984) e Carneiro (1990).

Os níveis de amônia total encontrados durante o período experimental, não seriam capazes de causar algum dano, e ou, diminuição do crescimento para a espécie, segundo Urbinati e Gonçalves (2005).

Os valores de nitrito e nitrato, bem como as demais variáveis estudadas, foram comparados ao disposto na Resolução Conama nº 357/2005, a qual dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais e estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Todos os valores para qualidade de água foram inferiores aos estabelecidos pela resolução para águas de classe dois, que são águas destinadas à criação de

organismos para fins de consumo, sendo assim, pode se considerar que a qualidade da água foi adequada para o desenvolvimento dos peixes.

5.2 Desempenho zootécnico

O estudo dos efeitos específicos de fitase em diferentes espécies de peixes é escasso. Além disso, existem poucos estudos disponíveis avaliando diferentes formas de apresentação da enzima fitase em dietas a base de ingredientes vegetais para a espécie pacu. Não obstante, elevados níveis de ingredientes vegetais na dieta podem resultar em altos teores de carboidratos insolúveis, fatores anti-nutricionais como níveis elevados de fitatos; ambos conhecidos por deprimir o desempenho zootécnico de peixes (NRC, 2011).

Os resultados do presente estudo indicam que diferentes níveis de fitase, bem como formas diferentes de apresentação e inclusão desta enzima, podem apresentar diferentes efeitos sobre os parâmetros zootécnicos e de deposição de nutrientes em juvenis de pacu.

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) para os parâmetros de sobrevivência e comprimento total, sendo que a sobrevivência apresentou média de 97,5 %, semelhante ao observado por Furuya et al., (2008) quando avaliando níveis de fitase para juvenis de pacu, obtiveram sobrevivência de 100% em todos os níveis avaliados.

Da mesma forma diversos autores estudando efeitos da fitase para outras espécies descrevem alta sobrevivência em seus estudos, como: Portz e Liebert (2004) com tilápia do Nilo (*O. niloticus*), Rocha et al. (2007) com jundiá (*Rhamdia quelen*) e Mendonça et al. (2012) com tambaqui (*C. macropomum*), sugerindo desta forma que níveis de fitase na dieta não influenciam diretamente na sobrevivência dos peixes.

Os efeitos positivos dos tratamentos T2 (fósforo inorgânico), T5 e T6 com utilização de fitase líquida no ganho de peso e taxa de eficiência proteica provavelmente ocorreram em função do aumento na disponibilidade do fósforo (CHENG e HARDY, 2003; YOO et al., 2005).

Os valores de ganho de peso para os tratamentos com adição de fitase foram semelhantes aos encontrados por Vielma et al. (1998), trabalhando com dietas peletizadas e inclusão de dois níveis de fitase (1500 e 2500 UFA.kg⁻¹) para o carnívoro truta arco-íris, observaram que o melhor ganho de peso se deu com a dieta contendo 1500 UFA.kg⁻¹. Outros estudos com truta arco-íris feitos por Lanari et al. (1998) mostrou valores significativos de ganho de peso pelos peixes que consumiram ração peletizada com suplementação de 1000 UFA.kg⁻¹.

Mendonça et al. (2012) avaliaram níveis crescentes de fitase granulada (700, 1400, 2100 e 2800 UFA.kg⁻¹ de dieta) para juvenis de tambaqui, e observaram um ganho de peso médio de 18g em um período de 50 dias, valor inferior ao observado no presente estudo, onde os peixes alimentados com as dietas suplementadas com fitase líquida (1500 e 3000 UFA.kg⁻¹) apresentaram um ganho peso médio de 38 gramas em um período de 75 dias. O pacu, apesar de sua anatomia morfo-fisiológica digestiva ser semelhante ao tambaqui, respondeu melhor aos níveis de fitase na dieta.

Furuya et al. (2008) estudando efeitos da fitase para juvenis de pacu, observou que o melhor ganho de peso (13,45g) e conversão alimentar (1,28) se deram com uma suplementação de 2000 UFA.kg⁻¹ usando a fitase na forma granulada incorporada na peletização da ração. No presente estudo a conversão alimentar aparente apresentou diferenças estatísticas (P>0,05) entre os tratamentos, onde o tratamento T2 apresentou o melhor desempenho.

Vielma et al. (2000) estudaram o efeito da suplementação de 1200 UFA.kg⁻¹ na dieta à base de concentrado proteico de soja para a espécie carnívora, truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) não encontrando diferenças significativas para ganho de peso e taxa de crescimento específico. Diferindo também do observado por Yoo et al. (2005), onde a suplementação de 1000 ou 2000 UFA.kg⁻¹ de dieta para juvenis do carnívoro, “Korean rockfish” (*Sebastes schlegeli*) não melhoraram o ganho de peso e a taxa de crescimento específico.

No presente trabalho o ganho de peso e a taxa de crescimento específico foram estatisticamente diferentes (p<0,05) entre os tratamentos, a suplementação com fitase líquida (1500 e 3000 UFA.kg⁻¹) apresentou melhores resultados quando comparados ao tratamento controle negativo (T1- sem fósforo inorgânico) e os tratamentos com suplementação de fitase granulada (T5 - 1500 e T6 - 3000 UFA.kg⁻¹). Isso demonstra que a ação e uso da fitase para peixes carnívoros é afetada pelo tipo da dieta à base de fontes vegetais, já que estes peixes não possuem a capacidade de digerir os alimentos de origem vegetal com altos níveis de carboidratos, diferentemente dos peixes onívoros.

A espécie em estudo, *Piaractus mesopotamicus*, necessita ao menos de 0,40% fósforo total (SIGNOR et al., 2011). Segundo Lovell (1981), a deficiência de fósforo na dieta, diminui o apetite, causa atraso no desenvolvimento, e piora a conversão alimentar, o que poderia explicar os resultados de desempenho obtidos nos tratamentos sem adição de fitase (T1) e com adição de fitase granulada (T3 e T4). A ração utilizada no presente estudo foi formulada com o menor nível possível de fósforo disponível para que houvesse a total ação da

enzima fitase na quebra do fósforo fítico, desta forma a liberação de fósforo ocorreria somente nas dietas suplementadas com enzima.

O desempenho zootécnico do pacu foi melhor no tratamento com adição de fósforo inorgânico que apresentou a maior concentração de fósforo total 0,75% na dieta. A ração formulada neste estudo apresentava uma quantidade total de fósforo de apenas 0,39%, o que teoricamente seria disponibilizado pela ação da fitase, suprimindo assim parcialmente as exigências em fósforo para o pacu. Considerando que a fonte de fosfato inorgânico do T2 seja 100% biodisponível e o fósforo presente nos farelos vegetais terem apenas 30% de fósforo disponível (BORBA et al., 2012), conclui-se que somente 0,13% do fósforo da ração experimental estariam disponíveis para absorção no tratamento controle negativo T1 sem adição de fitase.

5.3 Análise do plasma sanguíneo

O plasma sanguíneo ou plasma é composto por 90% de água, 7% de proteínas (globulinas e albumina) que são imprescindíveis para manutenção da pressão oncótica, além disso, é composto por metabólitos como hormônios, enzimas e eletrólitos variados, de acordo com (RANZANI-PAIVA, 2007).

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete de modo fiel à situação metabólica dos tecidos animais, sendo possível a avaliação de alterações no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (HILBIG et al., 2010)

Sardar et al. (2007) avaliando a suplementação de fitase para alevinos de carpa comum, relatou que a adição de fitase granulada (500 UFA.kg^{-1}) melhorou significativamente a retenção de fósforo no plasma sanguíneo (208 mg.L^{-1}) desses animais, resultado semelhante ao observado neste estudo, quando a adição da fitase líquida melhorou os valores ($107,00 \text{ mg.L}^{-1}$) de fósforo plasmático obtido.

Foi observado que os níveis de fósforo plasmático apresentados pelo pacu foram superiores quando comparados com a tilápia do Nilo (50 mg.L^{-1}) (PORTZ e LIEBERT, 2004), entretanto pode ser observado um padrão similar no aumento da concentração de fósforo plasmático quando os animais foram alimentados com dietas elaboradas com adição de fitase, para as duas espécies.

Observou-se que o tratamento com adição de fitase líquida 1500 UFA.kg^{-1} (T5) apresentou os maiores valores de fósforo plasmático (Tabela 4), seguido pelo tratamento com

adição de fósforo inorgânico (T2), seguindo um padrão semelhante ao observado ao ganho de peso da espécie, onde estas duas dietas apresentaram os resultados mais expressivos.

Com relação aos valores obtidos para fósforo acumulado nas vértebras, estes foram inferiores quando comparado com estudos realizados por Portz e Liebert (2005) avaliando níveis de fitase em tilápias. Os autores observaram médias de 10% de fósforo na composição das vértebras das tilápias, sendo este superior aos observados no presente estudo, onde os valores de fósforo vertebral com base na matéria seca não ultrapassaram 1,5 %.

Foi observado um aumento na porcentagem de fósforo nas vértebras dos peixes alimentados com a dieta contendo fósforo inorgânico (tabela 5), os valores de fósforo dos peixes alimentados com as dietas com adição de fitase líquida (1500 e 3000 UFA.kg⁻¹), foram intermediários, e o das dietas controle negativo (T1) e com adição de fitase granulada (1500 e 3000 UFA.kg⁻¹), apresentaram as médias inferiores para a variável.

De acordo com Signor et al. (2011) a exigência de fósforo para o pacu é de 0,40%, entretanto esta exigência está baseada em um experimento de desempenho, onde o acúmulo de fósforo plasmático não foi avaliado. O presente estudo mostra uma melhora tanto no desempenho zootécnico como acúmulo de fósforo vertebral pelo pacu em dietas com fitase líquida (1500 e 3000 UFA.kg⁻¹), porém não podemos afirmar se este acúmulo foi suficiente para poder suprir a exigência no crescimento da espécie.

5.4 Composição da carcaça

A análise da composição centesimal dos peixes utilizados no experimento variou de acordo com a mudança da dieta fornecida. As médias de proteína bruta mais elevadas (Tabela 6) foram observadas no tratamento com adição de fósforo inorgânico (T2), fato que está diretamente ligado à disponibilidade de fósforo na dieta.

Os tratamentos com adição de fitase líquida (T5- 1500 UFA.kg⁻¹ e T6 – 3000 UFA.kg⁻¹), não apresentaram diferenças estatísticas dos demais tratamentos para proteína bruta, entretanto apresentaram maiores valores de médias. Estudos *in vitro* realizados por Singh e Krikorian (1982) demonstraram efeitos negativos de fitatos na utilização da proteína. Este fato pode ser explicado pela eminência na redução dos complexos de fitato-proteína no intestino e uma maior disponibilidade de nutrientes.

Resultados obtidos por Forster et al. (1999) avaliando a adição de diferentes níveis de fitase para truta arco-íris (0, 500, 1500 e 4500 UFA.kg⁻¹), em dieta à base de farelo de canola,

não observaram diferença na umidade, nas cinzas, na proteína bruta, como também no extrato etéreo corporal.

Semelhante aos resultados do presente experimento, Pezzato et al. (2006) e Furuya et al. (2008) verificaram aumento nas cinzas de tilápia do Nilo em função de níveis crescentes de fósforo disponível na dieta. Com a maior disponibilização mineral houve um aumento da deposição mineral, observado no aumento das cinzas na carcaça do Pacu (Tabela 6.).

Foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) no extrato etéreo da carcaça para o tratamento com adição de fósforo inorgânico (B) que apresentou os menores valores (27,48%), nos demais tratamentos não foi observado diferença estatística ($p > 0,05$).

Silva et al. (2007) observaram efeito quadrático dos níveis de fitase sobre o extrato etéreo na carcaça da tilápia-do-Nilo, e o efeito máximo foi atingido com 647 UFA.kg⁻¹. Para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), níveis de 500 a 1500 UFA.kg⁻¹ reduziram linearmente a deposição de gordura corporal da carcaça (ROCHA et al., 2007).

Zhang et al. (2006) relataram redução linear da porção lipídica da carcaça de juvenis de seabass japonês (*Lateolabrax japonicus*), alimentados com níveis crescentes de fósforo na dieta, corroborando com o resultado observado neste estudo, onde a dieta com maior nível de fósforo (T2) apresentou uma menor porção lipídica quando comparada aos demais tratamentos.

Provavelmente a maior disponibilidade de fósforo favoreceu o metabolismo energético dos ácidos graxos (β -oxidação), pois esse mineral participa ativamente em processos metabólicos como constituinte da molécula de adenosina trifosfato (ATP), reduzindo desta forma os lipídeos da carcaça.

Desta maneira, neste estudo, a adição de fitase líquida favoreceu o aumento de proteína na carcaça e também melhorou a matéria mineral, indicando um melhor aproveitamento dos minerais, porém não influenciou na deposição de gordura pelos peixes.

5.5 Atividade da enzima

Após o processamento, as dietas foram submetidas a análises (Tabela 2), para a verificação da influencia do processamento na atividade da enzima. Foi observado que o processamento afetou os níveis da enzima que influenciaram diretamente em todos parâmetros avaliados nos peixes.

A enzima fitase não é estável ao calor, devem ser evitadas altas temperaturas durante a fabricação das dietas (VIELMA, RUOHONEN e PEISKER 2002). A temperatura durante o

processamento de alimentos nos equipamentos de ração frequentemente é superior a 65°C, temperatura esta que desativa a atividade da enzima (CAO et al., 2007).

As dietas utilizadas neste estudo foram extrusadas com o sistema de aquecimento desligado e o sistema de refrigeração do canhão da extrusora ligado ao máximo, de forma a minimizar o aquecimento causado pelo atrito e a pressão, naturais do processo. Entretanto nas dietas com fitase na forma granulada a atividade da enzima foi baixa igualando-se às dietas sem adição de fitase (Tabela 2.), indicando assim que o processamento influenciou diretamente na perda de atividade da enzima nas dietas contendo 1500 e 3000 UFA.kg⁻¹ de fitase granulada.

A utilização da fitase na forma líquida, adicionada após o processamento, apresentou melhores resultados de atividade dentro da margem idealizada (Tabela 2), pois, não foi submetida a nenhum tipo de condição de calor que pudesse causar a diminuição ou inativação de sua atividade, procedimento este sugerido por Hughes e Soares, 1998.

Assim recomenda-se que a fitase seja aplicada em rações para peixes através da pulverização na sua forma líquida sobre os “extruders” (VIELMA et al., 2004) de forma a evitar a exposição desta a processos que possam reduzir ou desativar completamente sua atividade.

6. CONCLUSÃO

A fitase líquida apresentou os melhores resultados quando comparada com a enzima na forma granulada, utilizando a extrusão como forma de processamento das rações de peixes. A suplementação com fitase líquida em dietas para pacu melhoraram significativamente o desempenho zootécnico da espécie, além de apresentarem maiores valores de fósforo absorvido no plasma sanguíneo quando comparada com a enzima na forma granulada.

A dieta contendo fósforo inorgânico (T2) apresentou os melhores resultados de desempenho zootécnico, bem como de acúmulo de fósforo na carcaça e cinzas.

Maiores estudos são necessários para elucidar as reais exigências em fósforo para o pacu que atendem as necessidades da espécie, sem afetar o desempenho ou causar excessos que possam prejudicar o ambiente.

7 REFERENCIAS

- ABIMORAD, E.G. AND D.J. CARNEIRO. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**; v.33(5): 1101-1109. 2004.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Standard Methods on line. 2005.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS **Official Methods of Analysis** of AOAC International. 17th. v. II., 2000.
- BAGINSKI, E. S.; SLAWA, S. M.; ZAK, B. Phosphate, inorganic. In: E.S. Baginski, Editor, **Selected Methods of Clinical Chemistry**, American Association Clinic Chemistry, Washington, DC, pp. 313–316, 1982.
- BORBA, M.R.; SA, M.V.C.; RIBEIRO, J.S.A. Vitaminas e Minerais. In: Débora Machado Fracalossi; José Eurico Possebon Cyrino. (Org.). **NUTRIAQUA** Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ed. Florianópolis: Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, v. 1, p. 121-166. 2012.
- BORGHETTI, J.R. and C. CANZI. The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. **Aquaculture**; v.114, 93-101. 1993.
- BOYD, C. E. Water quality mangement for pond fish culture. Amsterdam: **Elsevier Scientific**. Publishing, 730p. 1982.
- CAO, Ling et al. Application of microbial phytase in fish feed. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 497-507, 2007.
- CARNEIRO, D. J. **Efeito da temperatura na exigência de proteína e energia em dietas para alevinos de pacu, Piaractus mesopotamicus (HOLMBERG, 1887)**. São Carlos, SP: UFSCAR, 1990. 55p. 1990. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Ecologia)-Universidade Federal de São Carlos, 1990.
- CARVALHO, R.A.P.L.F.; CHAMMAS, M.A.O. Impacto da aquicultura na oferta global de pescado: uma nova força para o *agribusiness* brasileiro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**; v.23, n.2. 2010.
- CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J.E.P. Piscicultura nos trópicos. São Paulo: Manole, 154p. 1986.

- CHENG, Z.; et al. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. **Aquaculture**, v.215, n. 1, p. 255-265, 2003.
- CHO, C.Y. et al. Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. **Aquaculture**, v.124, p.293-305. 1994.
- DENSTADLI, V. et al. A comparison of online phytase pre-treatment of vegetable feed ingredients and phytase coating in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in cold water. **Aquaculture**, v. 269, n. 1, p. 414-426, 2007.
- EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* **Aquaculture**, v.179, n.1-4, p.149-168, Sept. 1999.
- ENGELN, A.J.; et al. Simple and rapid determination of phytase activity. **AOAC Int. J.** 77, 760-764. 1994.
- FORSTER, I., et al., 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**; v.179, 109–125. 1999.
- FORSTER, I.; et al. 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**, v.179, n. 1, p. 109-125, 1999.
- FURUYA, W. M. et al. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n. 3, p. 924-929, 2001.
- GATLIN III, D.M. et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture. Research**, Oxford, v.38, n.6, p.551-579, Apr. 2007.
- HILBIG, C. et al. Hematologia do pacu criado em tanques-rede submetido a diferentes taxas de alimentação. Em: **II Simpósio Nacional de Engenharia de Pesca. Setembro, 2010.**
- HUGHES, K.P.; SOARES, JH. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass, *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**; v.4:133–40. 1998.
- JACKSON, L.; LI, M.H.; ROBINSON, E.H. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. **Journal of the World Aquaculture Society**; v.27(3):309–13. 1996.
- JOMORI, R.K.; et al. Stable carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes as natural indicators of live and dry food in *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) larval tissue. **Aquaculture Research**; v.39, 370-381. 2008.
- KAUSHIK S. J. Recent trends in the development of high-energy diets for salmonids. In: **2 Conference International Produzione Di Alimenti Per Animali**, Piacenza Italy. 1992.

- LANARI, D., D'AGARO, E., TURRI, C. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**; v.161, 345–356. 1998.
- LIEBERT, F.; PORTZ, L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. **Aquaculture**; v.248:111–9. 2005.
- LOVELL, R.T. **Manual for fish feed analysis and fish nutrition studies**. Auburn: Auburn University, 65p. 1981.
- MENDONÇA, P. P. et al. Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Archivos de zootecnia.**, v. 61, n. 235, p. 437-448, 2012.
- NORMAS ANALITICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ: **Métodos químicos e físicos para análises de alimentos**, ed. 3, v.1, 1985, 533 p.
- NRC. **Nutrient requirements of fish**. National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C., USA. 2011.
- OLIVEIRA, R. P. C.; et al. Desempenho e composição de carcaça de alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com diferentes níveis de proteína e de lisina durante a segunda alevinagem no sistema “raceway” in: congresso de pesquisa, ensino e extensão da ufg - conpeex, 2., 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos do II Seminário de Pesquisa, Ensino e Extensão**, Goiânia: UFG, 2005. n.p.
- DAL PAI, V. et al. Morphological, histochemical and morphometric study of the myotomal muscle tissue of the pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: *Serrasalminae*, *Characidae*, *Teleostei*). **Anatomia, histologia, embriologia**, v. 29, n. 5, p. 283-289, 2000.
- PEZZATO, L.E.; et al. Exigência em fósforo disponível para alevinos de tilápia do Nilo. **Ciência Rural**, p. 1600-1605, 2006.
- PORTZ, L.; BENKENDORFF K.; LIEBERT, F. Growth and mineral absorption of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed a plant based diet supplemented with microbial phytase. In: J. Cooksey, Editor, **Proceedings of the World Aquaculture Society**, Salvador, Brazil vol. 1 p. 592. 2003.
- PORTZ, L.; LIEBERT, F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant- based diets with graded levels of microbial phytase. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 88, n. 9- 10, p. 311-320, 2004.

- RACHMAWATI, Diana; SAMIDJAN, Istiyanto. Addition of Phytase Artificial Feed to Increase Digesting, Specific Growth and Survival Rate of Nile Tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*). **Jurnal Saintek Perikanan**, v. 10, n. 1, p. 48-55, 2014.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. Hematologia como ferramenta para avaliação da saúde de peixes. **Simpósio de nutrição e saúde de peixes**, v. 2, n. 2007, p. 47-51, 2007.
- ROCHA, C.B. et al. Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça. **Ciência Rural**, v.37, n.6, 2007.
- RODEHUTSCORD, M.; PFEFFER, E. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Water Science Technology**; v.31(10):143–7. 1995.
- ROTILI, D. A. et al. Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, no.3, p.288-294, Set 2012.
- SARDAR, P.; et al. 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. **Aquaculture Nutrition**; v.13, 444–456. 2007.
- SIGNOR, A. A. et al. Fósforo na alimentação de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p. 2646-2650, 2011.
- SINGH, M; KRIKORIAN, A. D. Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, n. 4, p. 799-800, 1982.
- STATSOFT INC. (2004). Statistica (data analysis software system), version 7.0.
- TAVARES, L.H.S. Limnologia aplicada à aquicultura. Jaboticabal: Funep, 1995.
- TORLONI, C.E.C. et al. Estudos experimentais sobre o cultivo intensivo do Pacu, *Colossoma mitrei*, no Sudeste do Brasil. In: 3. Simpósio Brasileiro de Aquicultura. São Carlos, SP (Brazil). 1984. 1984.
- URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D. **Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. In: BALDISSEROTTO, B. & GOMES, L. C. Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil. Santa Maria, Editora UFSM, p.225-256, 2005.
- URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D.; TAKAHASHI, L.S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, v. 2, p. 205-244, 2005.
- VIELMA J, RUOHONEN K, PEISKER M. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**; v.204(1):145–56. 2002.

- VIELMA, J. et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 163, n. 3, p. 309-323, 1998.
- VIELMA, J. et al. 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**, v. 183, n. 3, p. 349-362, 2000.
- VIELMA, J. et al. Top- spraying soybean meal- based diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, v. 35, n. 10, p. 955-964, 2004.
- VIELMA, J., et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** v.163, 309–323. 1998.
- YOO, G. et al. Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing soybean meal. **Aquaculture**, v. 243, n. 1, p. 315-322, 2005.
- ZHANG, C. et al. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, v.255, n. 1, p. 201-209, 2006.