

SUPLEMENTAÇÃO DA ENZIMA FITASE E O DESEMPENHO E RETENÇÃO MINERAL EM JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Cleber Bastos ROCHA ^{1,6}; Juvêncio Luís Osório Fernandes POUHEY ^{2,6};
Paulo Rodinei Soares LOPES ³; Dariane Beatriz Schoffen ENKE ⁴;
Eduardo Gonçalves XAVIER ⁵

RESUMO

O fósforo (P) é um dos minerais de maior custo em rações para peixes. A maior parte do P em sementes de oleaginosas e cereais encontra-se ligado ao ácido fítico como fitato. Foi avaliado o efeito da suplementação de diferentes níveis de fitase em dietas para juvenis de jundiá sobre o desempenho produtivo e a retenção de minerais nos ossos. Foram utilizados 112 juvenis, em um delineamento inteiramente ao acaso com 4 tratamentos (0, 500, 1000 e 1500 FTU/kg de dieta) e 4 repetições. Os peixes foram alimentados na proporção de 10% da biomassa total durante 45 dias. Foram avaliados ganho de peso, comprimento padrão, sobrevivência, taxa de crescimento específico, fator de condição corporal, percentagem de cinzas nos ossos e concentração de P e cálcio nos ossos. Não houve efeito dos níveis crescentes de fitase na dieta sobre as variáveis avaliadas. Foi concluído que a suplementação de fitase na dieta (0 - 1500 FTU/kg) não afeta o desempenho produtivo nem a deposição de minerais nos ossos dos juvenis de jundiá.

Palavra chaves: *Rhamdia quelen*, fósforo, ácido fítico, dieta

PHYTASE ENZYME SUPPLEMENTATION ON PERFORMANCE AND MINERAL RETENTION IN BONES OF SILVER CATFISH JUVENILES (*Rhamdia quelen*)

ABSTRACT

Phosphorus (P) is one of the most expensive minerals in fish diets. Most of the P content in cereal grains and oilseed meals is bound to phytic acid, as phytate. This study was conducted to evaluate the effects of adding increasing levels of dietary phytase on performance and bone mineral retention of juveniles of catfish. One hundred and twelve juveniles were used in a completely randomized design, with 4 treatments (0, 500, 1000 e 1500 FTU/kg diet) and 4 replications. Fish were fed at 10% of total body weight during a 45-day period. The following variables were evaluated: weight gain, standard length, survival, specific growth, body condition ratio, ash percentage, and P and Ca concentration in the bones. No significant effect was found for the increasing levels of phytase on these variables. It was concluded that dietary phytase (0 and 1500 FTU/kg) do not affect the productive performance and minerals retention in the bones of the catfish juvenile.

Key words: *Rhamdia quelen*, phosphorus, phytic acid, diet

Nota Científica: Recebida em: 19/05/2006; Aprovada em: 18/07/2007

¹ Médico Veterinário, Bolsista de Mestrado (CAPES), Aluno do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ), Universidade Federal de Pelotas/RS (UFPel) - e-mail: cbr.vet@gmail.com

² Médico Veterinário, Dr. Professor do Departamento de Zootecnia, PPGZ, UFPel/RS - e-mail: juvenicio@ufpel.tche.br

³ Zootecnista, Aluno do PPGZ, UFPel/RS

⁴ Engenheira de Alimentos, Aluna do PPGZ, UFPel/RS

⁵ Engenheiro Agrônomo, Dr. Professor do Departamento de Zootecnia, PPGZ, UFPel/RS

⁶ Endereço/Address: Universidade Federal de Pelotas - Campus Universitário s/n - Caixa postal 354 - CEP 96001-970 Pelotas - RS - Brasil

INTRODUÇÃO

A maioria dos grãos oleaginosos e cereais contém de 1 a 2% de ácido fítico, utilizado como armazenador de fósforo (P) na planta, sendo considerado fator antinutricional na alimentação animal (VIELMA *et al.*, 2002). Aproximadamente 65 a 85% do P total nas sementes oleaginosas e cereais encontram-se ligado ao ácido fítico (NRC, 1993; OVERTURF *et al.*, 2003). O fitato presente nas sementes é indisponível para não-ruminantes, devido à ausência da enzima fitase no trato gastrointestinal, sendo necessária a suplementação das rações com P inorgânico (VAN WEERD *et al.*, 1999; SALES *et al.*, 2003; SAJJADI e CARTER, 2004). Além de quelatar outros minerais como Ca, Mg, Mn, Zn e Fe, no trato gastrointestinal, o ácido fítico também inibe a ação de enzimas proteolíticas, tais como, pepsina e tripsina. A fitase ou o mio-inositol hexaquifosfato fosfohidroxilase é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases de histidina que hidrolisam o fitato para mio-inositol e ácido ortofosfato necessário no processo metabólico da biosíntese celular (MARTINS, 2003; STOREBAKKEN *et al.* 1998). O cultivo de jundiá, *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) cresce rapidamente, principalmente na região sul do Brasil, em função da rusticidade, do potencial de crescimento no inverno, e resistência às baixas temperaturas (FERREIRA *et al.*, 2001).

O emprego da fitase na dieta de peixes tem como finalidade a biodisponibilização de P, Ca, Mg, Mn e energia da dieta, reduzindo a poluição ambiental (CHENG e HARDY, 2002). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da enzima fitase em dietas para juvenis sobre o desempenho e retenção de minerais nos ossos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, no período de 21 de fevereiro a 06 de abril de 2005, totalizando 45 dias.

Foram utilizados 112 juvenis de jundiá com peso vivo inicial médio de $12,58 \pm 1,80$ g, distribuídos em um delineamento completamente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições. Cada unidade experimental foi composta de um aquário, abastecido com 30L de água, com 7 juvenis de jundiá. As dietas experimentais foram isoenergéticas (3200 kcal ED/kg de ração) e isoprotéicas (35% PB), sendo utilizados somente ingredientes de origem vegetal,

tendo como base protéica o farelo de soja associado à levedura (Tabela 1). Os ingredientes foram previamente moídos até diâmetro igual ou inferior a 0,5 mm e reservados para a elaboração das dietas experimentais. Após este processo, os ingredientes foram misturados (exceto a fitase), conforme fórmula calculada, e divididos em quatro partes iguais de 5kg. A fitase foi dissolvida em água morna (42 °C) na proporção de 30% do peso seco da dieta (FURUYA *et al.*, 2001), sendo pulverizada sobre as dietas nos níveis de 0, 500, 1000 e 1500 FTU/kg de dieta. Após este processo as dietas foram homogeneizadas separadamente em misturador em “y”, peletizadas em “moinho de carne” e secas a 50 °C durante 18 horas em estufa com circulação de ar. A fitase utilizada foi a Natuphos® 5000 G, fornecida pela BASF S.A., obtida pela fermentação por meio de fungos do grupo *Aspergillus niger* que, conforme o fabricante, contém atividade inicial mínima de 5000 FTU/g. Posteriormente a elaboração as dietas foram analisadas para verificação da composição bromatológica (metodologia de Weende) e atividade enzimática.

Diariamente, no período da manhã, foram efetuadas sifonagem dos aquários para retirada de sobra de ração. A reposição de água foi cerca de 30% do volume de água contida no aquário. Também foram observados os parâmetros físico-químicos da água: oxigênio dissolvido e temperatura, por meio de oxímetro (YSI-55); o pH, através do phmetro difital (F-1002, Bernauer Aqüicultura) e condutividade elétrica da água, pelo condutivímetro (F-1000, Bernauer Aqüicultura). A alimentação foi ministrada duas vezes ao dia (9 e 17 horas), na proporção de 10% da biomassa total. A cada 15 dias os animais foram submetidos a biometria (após jejum de 24 horas), que consistia na pesagem individual (balança digital 0,1 g), medição do comprimento padrão e total (ictiômetro milimetrado). Foi avaliada a influência da fitase nas seguintes variáveis: peso final (PF), ganho de peso médio (GMD), comprimento padrão (CP), sobrevivência (SOB), taxa de crescimento específico (TCE) e fator de condição corporal (FCC).

Para a análise de retenção de minerais nos ossos foi utilizada coluna vertebral de três carcaças de peixes de cada tratamento, as quais foram mantidas em água aquecida (80 °C) durante dois minutos e, logo em seguida, foram dissecadas com auxílio de uma pinça (FURUYA *et al.*, 2001). Após a secagem em estufa com ar forçado, os ossos foram colocados no extrator de gordura (imersos em éter de petróleo - extrator de Soxhlet) por 6 horas. Em seguida

foram levados a mufla em temperatura de 550 °C até obtenção das cinzas. A partir das cinzas foram preparadas soluções minerais de P e Ca (dissolução em ácido clorídrico) para determinação da concentração (SILVA *et al.*, 2004). A determinação da concentração de P e Ca nas soluções minerais foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas do

Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, através de espectrofotometria de absorção atômica (TEDESCO *et al.*, 1995). Os dados de desempenho foram submetidos à análise de variância a 5% de significância e análise de regressão, por meio do programa estatístico SAS (SAS, 1999).

Tabela 1. Composição das dietas testadas no experimento

Ingrediente (%)	Fitase (FTU/kg)			
	0	500	1000	1500
Farelo de soja	36,00	36,00	36,00	36,00
Levedura	36,00	36,00	36,00	36,00
Milho triturado	9,00	8,99	8,98	8,97
Óleo de soja	7,00	7,00	7,00	7,00
Farelo de trigo	6,00	6,00	6,00	6,00
Suplemento vitamínico e mineral ^{1,3}	5,00	5,00	5,00	5,00
Sal comum iodado	1,00	1,00	1,00	1,00
Natuphos® 5000 G	0,00	0,01	0,02	0,03
Total	100	100	100	100
Composição bromatológica ²				
Matéria seca (%)	87,98	86,91	86,03	91,04
Extrato etéreo (%)	10,85	10,71	9,43	10,06
Cinzas (%)	6,50	6,29	6,31	6,53
Proteína bruta (%)	37,01	36,55	36,75	36,89
Energia Digestível (kcal/kg) ³	3200	3200	3200	3200
Atividade enzimática da fitase ⁴	0,00	420	1147	1522

¹ Composição do suplemento vitamínico e mineral (por kg): Vit. A: 160.000 UI; Vit. D₃: 50.000 UI; Vit. E: 3.000 mg; Vit. C: 5.000 mg; Vit. K₃: 200 mg; Riboflavina: 400 mg; Ácido Pantotênico: 1.000 mg; Niacina: 2.000 mg; Vit. B₁₂: 6.000 mcg; Ácido Fólico: 120mg; Tiamina: 400 mg; Piridoxina: 300 mg; Cu: 12.001 mg; Fe: 1.200mg; Mn: 300 mg; I: 10.000 mg; Se: 2.000 mg; Zn: 1.000 mg; Ca: 6 g; Co: 2.000 mg; Colina 85 g; P: 2 g; Lisina 30 g; Mg: 1 g; Na: 2,5 g; Treonina: 25 g. (Utilizado conforme recomendação do fabricante Migplus®)

² Análises bromatológicas realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas – UFPEL, Pelotas – RS.

³ Baseados nos valores propostos pelo NRC (1993) para o *catfish* (*Ictalurus punctatus*).

⁴ Atividade enzimática em (FTU/kg dieta) realizada no Laboratório de Análises Químicas da BASF S.A. – Guaratinguetá –SP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos da água não apresentaram variações significativas entre os tratamentos, obtendo-se como valores médios para oxigênio dissolvido (5,56mg/L), temperatura (23,18 °C), pH (8,42) e condutividade (12,96 µS/ms), mantendo-se dentro dos limites de conformidade da espécie (CARDOZO, 2000). Apesar da temperatura média observada (23,18 °C) estar próxima dos valores recomendados por PIEDRAS *et al.* 2004 (23,7 °C) para um bom desempenho de juvenis de jundiá, observou-se uma variação de ±2 °C durante o período experimental

em decorrência das variações térmicas ambientais.

O efeito da temperatura da água sobre atividade enzimática foi estudado por MASUMOTO *et al.* (2001), estes observaram que para o pré-tratamento do farelo de soja com fitase sua atividade é aumentada com a um pH de 5,5 e a uma temperatura de 37 °C. A utilização de fitase na dieta de peixes criados em baixas temperaturas ambientais pode reduzir a atividade da enzima, porém o pré-tratamento da dieta ou o aumento nos níveis da enzima poderia ser uma possível alternativa a esta perda de eficácia (CHO; BUREAU, 2001; YOO *et al.*, 2005).

A análise de variância e análise de regressão polinomial não mostrou efeito dos diferentes níveis de inclusão da enzima nas dietas para nenhuma das variáveis de desempenho e mineralização nos ossos (Tabela 2).

Esses resultados assemelham-se aos obtidos por VIELMA *et al.* (2000), que avaliaram o efeito da suplementação de 1200 FTU/kg na dieta à base de concentrado protéico de soja para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) não encontrando diferenças significativas para ganho de peso e taxa de crescimento específico. Resultados semelhantes também

foram encontrados por OLIVA-TELES *et al.* (1998) que avaliaram a utilização de dois níveis de fitase 1000 e 2000 FTU/kg para juvenis de seabass (*Dicentrarchus labrax*) verificando que, apesar de aumentar a digestibilidade do fósforo em 71,5 e 79,8%, a taxa de crescimento específico (TCE) e a conversão alimentar não diferiram estatisticamente do tratamento sem fitase. Os resultados do presente experimento concordam também com YOO *et al.* (2005), onde a suplementação de 1000 ou 2000 FTU/kg de dieta para juvenis de Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) não melhoraram o ganho de peso e a taxa de crescimento específico.

Tabela 2. Desempenho produtivo e deposição de minerais nos ossos de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de fitase na dieta durante 45 dias

Variável	Fitase (FTU/kg)				P
	0	500	1000	1500	
PI (g)	12,62 ± 1,82	12,63 ± 1,99	12,56 ± 1,78	12,52 ± 1,63	-
PF (g)	15,62 ± 3,19	15,88 ± 3,68	16,76 ± 4,63	16,63 ± 4,12	0,6402
GPM (g)	2,99 ± 1,18	3,25 ± 1,11	4,19 ± 1,65	4,10 ± 1,57	0,5472
CP (cm)	9,73 ± 0,69	9,74 ± 0,69	9,85 ± 0,81	9,93 ± 0,88	0,7403
TCE (%)	0,49 ± 0,18	0,52 ± 0,16	0,66 ± 0,22	0,66 ± 0,21	0,5391
FCC	0,83 ± 0,04	0,83 ± 0,05	0,85 ± 0,05	0,85 ± 0,11	0,6129
Cinzas ossos (%)	38,28 ± 2,73	38,42 ± 1,93	40,15 ± 2,96	38,38 ± 3,74	0,835436
P-ossos (%)	7,64 ± 0,63	7,78 ± 0,43	7,83 ± 0,55	7,85 ± 0,88	0,97828
Ca-ossos (%)	79,56 ± 5,96	77,80 ± 3,81	77,25 ± 7,15	79,03 ± 10,17	0,97576
SOB (%)	100	100	100	100	-

Peso inicial (PI), peso final (PF), ganho de peso médio (GPM), comprimento padrão (CP), sobrevivência (SOB), taxa de crescimento específico (TCE), fator de condição corporal (FCC), concentração de fósforo nos ossos (P-ossos), concentração de cálcio nos ossos (Ca-ossos) e p = nível de significância.

Para o Salmão do atlântico (*Salmo salar* L.), SAJJADI e CARTER (2004) não encontraram diferença significativa para peso final e ganho de peso entre os tratamentos com ou sem 2000 FTU/kg na dieta. Os autores atribuíram tal efeito à utilização de farinha de peixe em parte da dieta.

Entretanto, a digestibilidade da proteína e a concentração do ácido fítico dos alimentos são os dois fatores que determinam a magnitude deste efeito (TEJEDOR *et al.*, 2001). Segundo GONÇALVES *et al.* (2004), a eficiência da enzima fitase em melhorar a digestibilidade dos nutrientes, e ainda, sua ação como resultado dos níveis empregados, está relacionada ao valor biológico desses alimentos, à natureza e à quantidade de ácido fítico que estes possam conter.

Como exemplo, para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) a suplementação da dieta com 500 UFA/kg, aumentou a digestibilidade da proteína de 88,83 para 92,59% (FURUYA *et al.*, 2001). Em outro

experimento com a mesma espécie, a suplementação de até 2.000 FTU/kg não foi suficiente para melhorar a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia do milho extrusado, do farelo de trigo, do sorgo baixo tanino, da soja extrusada e do farelo de algodão (GONÇALVES *et al.*, 2004).

Aparentemente, de acordo com a origem dos ingredientes utilizados nas dietas (quantidade de ácido fítico) e com os níveis de fitase empregados, os efeitos da enzima sobre a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho dos animais manifestam-se com maior ou menor intensidade. Segundo RAVINDRAM (1999), a quantidade de ácido fítico em vegetais é dependente do estágio de maturação, grau de processamento, tipo de cultivar, solo e fatores climáticos. Outro fator a ser considerado é que, possivelmente, os níveis de fósforo disponível intrínseco aos ingredientes e ao suplemento mineral utilizado nas dietas experimentais podem ter garantido as exigências do mineral para esta fase de

crescimento do jundiá. No experimento realizado por FURUYA *et al.* (2001) atribuiu-se o aumento no ganho de peso, no rendimento de carcaça e na retenção de minerais nos ossos aos efeitos positivos da fitase sobre a digestibilidade da proteína e disponibilidade dos minerais (Ca e P) para tilápia-do-Nilo. Entretanto, foram utilizadas dietas sem suplementação de P inorgânico.

Segundo CHENG e HARDY (2002) o uso da fitase em dietas a base de ingredientes de origem vegetal para truta arco-íris pode reduzir ou substituir totalmente a suplementação de P e outros minerais como Ca, Mg e Mn. Segundo SAJJADI e CARTER (2004), a digestibilidade aparente do P e a mineralização dos ossos são os critérios mais sensíveis para avaliar a influência da fitase na utilização do P no salmão do Atlântico. EYA e LOVELL (1997), avaliando diferentes níveis de P disponível (0,20 a 0,60%) para o catfish de canal (*Ictalurus punctatus*), com peso de 61g não observaram diferença significativa do incremento de P na dieta sobre o ganho de peso e a conversão alimentar, recomendando a utilização de 0,20% para o crescimento desta espécie em tanques. No entanto, para tilápia-do-Nilo, MIRANDA *et al.* (2000) observaram diferença no ganho de peso pela suplementação de P mantendo a relação Ca e P 1:1; os tratamentos cujas dietas foram suplementadas com esses minerais tiveram ganho de peso médio duas vezes e meio superior.

O comprimento padrão (CP) dos juvenis de jundiá teve aumento numérico à medida que cresceram os níveis de fitase na dieta, semelhantemente ao ganho de peso, não demonstrando diferença estatística. A variável sobrevivência também não foi afetada pelos níveis de fitase na dieta, concordando com os resultados obtidos por SAJJADI e CARTER (2004) que avaliaram os efeitos da fitase na dieta do salmão do Atlântico sobre o consumo de dieta, ganho de peso e atividade da tripsina observando 100% de sobrevivência em todos os tratamentos.

De forma geral foi observado um baixo crescimento dos peixes quando comparado com os dados obtidos com trabalho desenvolvido por PIEDRAS *et al.*, 2004 que utilizaram dieta com 36% de PB para juvenis de jundiá, obtendo uma taxa de crescimento específico diário de até 3,05%, este fator provavelmente interferiu nos resultados obtidos com o uso da fitase nas condições experimentais.

A porcentagem de cinzas e a concentração de P e Ca nos ossos da medula vertebral dos juvenis de

jundiá não demonstraram diferença estatística entre tratamentos. Como a taxa de mineralização está relacionada com o crescimento ósseo, em função do baixo crescimento, houve pequeno incremento em termos de teores de cinzas, porém o resultado não foi significativo pela variação entre os dados.

Os resultados obtidos divergem de alguns estudos que verificaram aumento na concentração destes minerais nos ossos com adição de fitase na dieta (PORTZ e LIEBERT, 2004; FURUYA *et al.*, 2001; HUGUES e SOARES, 1998). Entretanto, concordam com os resultados obtidos por FORSTER *et al.* (1999), que avaliaram o efeito da suplementação de diferentes níveis de fitase (0, 500, 1500 e 4500 FTU/kg dietas a base de farelo de canola) sobre a deposição de Ca e P nos ossos da coluna vertebral para truta arco-íris não observando diferença estatística entre os tratamentos. Este resultado evidencia que os níveis de P e Ca na ração referência, sem a suplementação de enzima, atenderam às exigências de manutenção, o que também foi observado por VIELMA *et al.* (2000), em trabalho realizado com truta arco-íris, utilizando ração referência formulada com base em ingredientes de origem vegetal. Em estudo realizado por MIRANDA *et al.* (2000) com tilápia-do-Nilo, a quantidade de Ca, P e cinzas presentes nos ossos dos peixes, cujas dietas foram suplementadas com Ca e P disponível, foram superiores à dieta não-suplementada em 2,42 vezes, 17,06 e 21,72%, respectivamente.

CONCLUSÃO

A suplementação de níveis de 500 a 1500 unidades de fitase (FTU) por kg de dieta não afetou o desempenho produtivo e a retenção de minerais nos ossos dos juvenis de jundiá.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pelo fornecimento de bolsa de estudos e a empresa BASF S.A. pela doação da enzima fitase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARDOZO, L.B. 2000 *Estudo da biometria, composição corporal e composição da carcaça do jundiá (Rhamdia sp.)*. Pelotas. 65p. (Dissertação de Mestrado. Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas).
- CHENG, Z.J. e HARDY, R.W. 2002 Effect of microbial phytase on apparent nutrient digestibility of barley,

- canola meal, wheat and wheat middlings, measured in vivo using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 8: 271-277.
- CHO, C.Y. e BUREAU, D.P. 2001 A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture Research*, 32(1): 349-360.
- EYA, J.C. e LOVELL, R.T. 1997 Available phosphorus requirements channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets in ponds of food-size fed practical. *Aquaculture*, Amsterdam, 154: 283-291.
- FERREIRA, A.A.; NUÑER, A.P.O.; LUZ, R.K.; TATAJE, D.A.R.; ESQUIVEL, J.R.; RESTREPO, J.B. 2001 Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmem do jundiá, *Rhamdia quelen*. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 27(1): 57-60.
- FORSTER, I.; HIGGS, D.A.; DOSANJH, B.S.; ROWSHANDELI, M.; PARR, J. 1999 Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 118C fresh water. *Aquaculture*, Amsterdam, 179: 109-125.
- FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. 2001 Fitase na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 30 (3): 924-929.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; FREIRE, E. de S.; FERRARI, J.E.C. 2004 Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para tilápia-do-Nilo. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, 26(3): 313-321.
- HUGHES, K.P. e SOARES JR, J.H. 1998 Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. *Aquaculture Nutrition*, 4: 133-140.
- MARTINS, B.A.B. 2003 *Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com e sem a adição de fitase microbiana à dieta*. Pirassununga, 150p. (Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo).
- MASUMOTO, T.; TAMURA, B.; SHIMENO, S. 2001 Effects of phytase on bioavailability of phosphorus in soybean meal-based diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries science*, 67:1075-1080.
- MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; GRANER, C.F.; ROSA, G.J.; PINTO, L.G.Q. 2000 Relação cálcio/fósforo disponível em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 29(6): 2162-2171.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC 1993 *Nutrient requirements of fish*. Washington: National Academic Press, 114p.
- OLIVA-TELES, A.; PEREIRA, J.P.; GOUVEIA, A.; GOMES, E. 1998 Utilisation of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources*, 11(4): 255-259.
- OVERTURE, K.; RABOY, V.; CHENG Z.J.; RHARDY R.W. 2003 Mineral availability from barley low phytic acid grains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture Nutrition*, 9: 239-246.
- PIEDRAS, S.R.N.; MORAES, P.R.R.; POUHEY, J.L.O.F. 2004 Crescimento de juvenis de Jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 30(2): 177-182.
- PORTZ, L. e LIEBERT, F. 2004 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. *Jornal Animal Physiology and Animal Nutrition*, 88: 311-320.
- RAVINDRAN, V. 1999 Occurrence of phytic acid in plant feed ingredients. In: COELHO, M.B. and KORNEGAY, E.T. (Ed.) *Phytase in animal nutrition and waste management*. 2 ed. BASF Reference Manual, p.85-89.
- SAJJADI, M. e CARTER, C.G. 2004 Effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Aquaculture Nutrition*, 10: 135-142.
- SALES, j.; BRITZ, P.J.; VILJOEN, J. 2003 Dietary phosphorus leaching and apparent phosphorus digestibility from different inorganic phosphorus

- sources for South African abalone (*Haliotis midae* L.). *Aquaculture Nutrition*, 9: 169-174.
- SAS Institute Inc. 1999 System for Microsoft Windows, Release 6.12, Cary, NC., USA, 1 CD ROM.
- SILVA, O.J. e QUEIROZ, A.C. 2004 *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 235p.
- STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K.D.; ROEM, A.J. 1998 Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, Amsterdam, 161: 365-379.
- TEDESCO, J.N.; GIANELLO, C.; BIASSINI, C.A.; BOHNEN, H.I.; VOLKWEISS, S. 1995 *Análises de solos, plantas e outros materiais*. Porto Alegre: Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 174p.
- TEJEDOR, A.A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; LIMA, C.A.R de; VIEITES, F.M. 2001 Efeito da Adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 30(3).
- VAN WEERD, J.H.; KHALAF, K.H.A.; AARTSEN, F.J.; TIJJSSEN, P.A.T. 1999 Balance trials with African catfish *Clarias gariepinus* fed phytase-treated soybean meal-based diets. *Aquaculture Nutrition*, 5: 135-142.
- VIELMA, J.; MAKINEN, T.; EKHOLM, P.; KOSKELA, J. 2000 Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture*, Amsterdam, 183: 349-62.
- VIELMA, J.; RUOHONEN, K.; PEISKER, M. 2002 Dephosphorylation of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, Amsterdam, 204: 145-156.
- YOO, G.Y.; WANG, X.; CHOI, S.; HAN, K.; KANG, J.C.; BAI, S.C. 2005 Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegelii* fed diets containing soybean meal. *Aquaculture*, Amsterdam, 243: 315-322.