

**UNIVERSIDADE DE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS**

**A ADIÇÃO DE FITASE NA RAÇÃO COMO MITIGADOR DO IMPACTO  
AMBIENTAL DA CRIAÇÃO DE ROBALO PEVA (*CENTROPOMUS  
PARALLELUS*)**

**LUIZ AUGUSTO ALTENBURG GOMES DE OLIVEIRA**

**VILA VELHA**

**MAIO/2012**



**UNIVERSIDADE DE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSSISTEMAS**

**A ADIÇÃO DE FITASE NA RAÇÃO COMO MITIGADOR DO IMPACTO  
AMBIENTAL DA CRIAÇÃO DE ROBALO PEVA (*CENTROPOMUS  
PARALLELUS*)**

**LUIZ AUGUSTO ALTENBURG GOMES DE OLIVEIRA**

Dissertação apresentada a Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção grau de Mestre em Ecologia.

**VILA VELHA**

**MAIO/2012**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

O48a Oliveira, Luiz Augusto Altenburg Gomes de.

A adição de fitase na ração como mitigador do impacto ambiental da criação de Robalo Peva (*Centropomus parallelus*) / Luiz Augusto Altenburg Gomes de Oliveira. – 2012.  
47 f. : il.

Orientador: Levy de Carvalho Gomes.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ecossistemas) -  
Universidade Vila Velha, 2012.  
Inclui bibliografias.

1. Proteínas na nutrição animal. 2. Fósforo na nutrição animal. 3. Robalo (Peixe). I. Gomes, Levy de Carvalho. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.08527

**LUIZ AUGUSTO ALTENBURG GOMES DE OLIVEIRA**

**A ADIÇÃO DE FITASE NA RAÇÃO COMO MITIGADOR DO IMPACTO  
AMBIENTAL DA CRIAÇÃO DE ROBALO PEVA (*Centropomus  
parallelus*)**

Dissertação apresentada a  
Universidade Vila Velha, como  
pré-requisito do Programa de Pós-  
Graduação em Ecologia de  
Ecossistemas, para obtenção de  
grau de Mestre em Ecologia.

Aprovada em 09 de maio de 2012.

Banca Examinadora:



---

Dr. Rodrigo Roubach (MPA)



---

Dr. Julien Chiquieri (UFES/CEUNES)



---

Dr. Levy de Carvalho Gomes (UVV) - Orientador

Dedico este trabalho ao meu filho, Lucas Tardin Altenburg, pela oportunidade de tê-lo em minha vida e me proporcionar tantas alegrias e ensinamentos!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, sobretudo ao meu Pai, Deus, por me dar saúde, paz, amor e a oportunidade de realizar mais esta etapa da minha formação e evolução enquanto espírito, pesquisador e profissional.

Aos meus pais, irmãos e avós que sempre me apoiaram e continuarão em apoiando e incentivando nas minhas decisões de melhoria de meus conhecimentos e horizontes pessoais e profissionais.

À minha esposa, Lani C. Tardin por ser sempre uma mulher motivadora, objetiva e sempre bem humorada, sempre me apoiando nos momentos em que mais precisei. Obrigado por estar ao meu lado!

Ao meu orientador, Prof. Levy de Carvalho Gomes, pelas inúmeras horas de discussão, planejamento, toques e ensinamentos importantíssimos no desenvolvimento da pesquisa e a todo apoio e oportunidades concedidas durante este período de mestrado.

A professora Adriana R. Chippari Gomes pela compreensão de nossos desafios e auxílios irrestritos durante a pesquisa e convivência dentro do Laboratório.

A empresa de rações Nutriave Ltda., em especial ao Gláucio Magalhães e ao Amilton Neves Dias pelas substanciais ajudas e trocas de informações sobre a formulação da ração em parceria com o Prof. Dr. Julien Chiquieri do CEUNES/UFES e ao professor Dr. Douglas Haese da UVV pelas diversas vezes que trocamos informações e idéias sobre a formulação das rações para o Robalo peva.

A DSM, em especial ao profissional e pesquisador Dailton Piva e ao José Otávio Sorbara pelo “patrocínio” e fornecimento da enzima fitase e sugestões em conjunto com sua equipe de profissionais e pesquisadores para o desenvolvimento da pesquisa e também às análises de recuperação da enzima nas rações em seu laboratório de análises na Suíça. Muito obrigado!

Ao professor Dr. Gilberto Moraes da UFSCar e a sua aluna de Doutorado Luciana Almeida pela oportunidade de realizar intercâmbio técnico-científico para o aprendizado da técnica de determinação da atividade enzimática da fitase e também

da protease no Laboratório de Bioquímica Adaptativa daquela conceituada Universidade Federal.

A toda equipe – estagiários da graduação, mestrandos e doutorandos – do Laboratório de Ictiologia Aplicada pelos momentos de trabalho e também os momentos descontraídos que passamos nestes dois anos.

Ao Renato Pratti, da empresa Acquapeixe de Linhares pela cessão do espaço na área licenciada para piscicultura na Lagoa do Aguiar e sua equipe de trabalho pela força que nos cederam em suas rotinas de trabalho.

Ao professor Luiz Fernando Loureiro Fernandes da UFES pelo espaço cedido na em seu laboratório na Base Oceanográfica de Santa Cruz e às inúmeras discussões no trabalho inicial com os robalos que renderam um artigo em avaliação e ao Doutorando André Marafon Almeida e Pablo Pandolfo da UFES pelos auxílios técnicos e operacionais no desenvolvimento do experimento, todos como coautores.

A todo o colegiado e corpo docente do Programa de Pós-Graduação strictu sensu em Ecologia de Ecossistemas da UVV pelos auxílios e inúmeros conhecimentos e trocas vivenciadas durante o mestrado.

A FAPES pela concessão da bolsa de estudos pelo edital PROCAP 003/2010 e ao CNPq (processo #559090/2009-9) do projeto RECAPER pelo aporte de recursos em nosso projeto.

E também a todos aqueles que de forma direta ou indireta participaram e auxiliaram no desenvolvimento do curso e do projeto.

**Valeu por tudo! Muito obrigado!**



*"Se você pensa que pode ou sonha  
que pode, comece. Ousadia tem  
Genialidade, Poder e Mágica. **Ouse  
fazer e o poder lhe será dado**"*

**Ghoethe**

## SUMÁRIO

<b>SUMÁRIO .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>12</b>
<b>1. INTRODUÇÃO: .....</b>	<b>14</b>
Aquicultura no Brasil e no mundo.....	14
Impactos Ambientais da Aquicultura x ração .....	15
O uso da enzima exógena fitase como estratégia de diminuição do impacto ambiental ...	18
Robalo e a Aquicultura Marinha .....	22
<b>2. HIPÓTESE E OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
HIPÓTESE.....	24
OBJETIVO .....	24
Geral .....	24
Específico .....	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
Animais experimentais .....	25
Dieta experimental .....	26
Experimento I – efeito da suplementação de fitase na ração no crescimento de robalo peva em tanque-rede.....	29
Experimento II – efeito da suplementação de fitase na ração na excreção de fósforo e amônia em robalo peva. ....	30
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>32</b>
Recuperação da Enzima na ração.....	32
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Nitrogênio no filé do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.....33

**Figura 2** - Fósforo total no osso do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.....33

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Formulação e composição aproximada da ração basal para <i>Centropomus parallelus</i> (% matéria seca).....	28
<b>Tabela 2</b> - Análise de recuperação da fitase (HiPhos (L) <sup>®</sup> /DSM) nas rações experimentais utilizadas para a alimentação do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ).....	32
<b>Tabela 3</b> - Crescimento do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração, após 60 dias de criação em tanque-rede. Dados expressos em média ± erro padrão. ....	33
<b>Tabela 4</b> - Composição em proteína e lipídeos do filet do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média ± erro padrão. ....	34
<b>Tabela 5</b> - Retenção de nitrogênio no tecido muscular e de fósforo no tecido ósseo do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média ± erro padrão.....	34
<b>Tabela 6</b> - Concentrações de amônia e fósforo total nos aquários do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média ± erro padrão. ....	36
<b>Tabela 7</b> - Excreção de fósforo total ( $\mu\text{g P/g/L}$ ) do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média ± erro padrão. ....	37
<b>Tabela 8</b> - Excreção de amônia total ( $\mu\text{g NH}_3\text{+NH}_4\text{/g/L}$ ) do robalo peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média ± erro padrão. ....	37

## RESUMO

OLIVEIRA, Luiz Augusto Altenburg Gomes de, Msc., Universidade Vila Velha – ES, maio de 2012. **A adição de fitase na ração como mitigador do impacto ambiental da criação de Robalo Peva (*Centropomus paralellus*, POEY 1860).** Orientador: Dr. Levy de Carvalho Gomes.

A substituição de parte da proteína de origem animal por proteína de origem vegetal em rações com a adição da enzima fitase vem sendo preconizado como uma estratégia para diminuição dos custos de produção e do impacto ambiental da criação de peixes carnívoros. Esse trabalho teve o objetivo de avaliar a adição da enzima fitase no crescimento, na retenção de nitrogênio e fósforo e na excreção de amônia e fósforo em robalo peva (*Centropomus paralellus*). Foram realizados dois experimentos testando a adição de diferentes concentrações de fitase na ração: 0, 500 e 1000 UF/Kg. No primeiro experimento, os peixes foram criados em 12 tanques-rede de 1m<sup>3</sup> (4 repetições para cada tratamento) por 60 dias e o crescimento e a retenção de nitrogênio e fósforo foram avaliados. No segundo experimento, os peixes foram criados em 15 aquários (5 repetições por tratamento) por 30 dias e após esse período foi mensurada a excreção de amônia e fósforo pelos peixes em três períodos após a oferta de alimento: 6, 12 e 24 horas. O ganho de peso, a taxa de crescimento específico e a taxa de eficiência protéica foram significativamente maiores nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg quando comparado aos peixes do tratamento controle. O ganho de peso dos peixes alimentados com 1000 UF/Kg foi de 99 g, sendo 32% superior aos peixes do tratamento controle. A retenção de nitrogênio e fósforo também foi significativamente maior nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg (2,78 e 2,60%, respectivamente) quando comparado aos peixes alimentados com 0 e 500 UF/Kg, entretanto esses valores estão bem abaixo do encontrado para outras espécies de peixe. A excreção de amônia e de fósforo não apresentou diferença significativa entre os tratamentos e em nenhum dos tempos de análise. Os resultados mostram que a adição de 1000 UF/Kg aumenta o crescimento e a retenção de nitrogênio e fósforo em robalo peva, mas não diminui a excreção de amônia e fósforo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Robalo peva; Fitase; Retenção, Excreção, Amônia, Fósforo.

## **1. INTRODUÇÃO:**

### **Aquicultura no Brasil e no mundo**

A aquicultura mundial é uma atividade em franca expansão desde o início da década de 1970, continuando a ser o setor de produção de alimentos de origem animal de maior crescimento, com valor percentual anual médio de 6,6% (FAO, 2010). A atividade é fortemente dominada na região do pacífico asiático, com 89% em termos de quantidade e 69% em termos de valor de mercado. Essa dominância se deve ao seu pronunciado poder de produção. Porém, a América Latina e Caribe demonstraram a maior média mundial de crescimento no período de 1970-2008, com 21,1%, seguidos pelo oriente próximo, com 14,1% e África, com 12,6% (FAO, 2010).

No Brasil, conforme boletins estatísticos do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2012), referentes aos dados de 2009, se encontra em 17º lugar na escala mundial de produção de pescados oriundos da aquicultura, com valores de produção da ordem de 415.649 toneladas, representando 0,75% da produção mundial do setor. Na América Latina, apenas o Chile produziu mais que o Brasil, com 881.084 toneladas – sendo o 1º produtor na América do Sul – enquanto que o Equador aparece como o 21º produtor no ranking mundial, ou 3º considerando-se apenas a América do Sul.

Segundo MPA (2012), a produção aquícola nacional foi, em 2010, de 479.399 toneladas representando incremento de 15,3% em relação à produção de 2009. Comparando essa produção com o montante produzido em 2008 – 365.366 toneladas – fica evidente o crescimento no setor, com uma taxa de 31,2% no triênio 2008-2010. Houve novamente nesse período, a evidência de que a aquicultura

produz mais no setor continental, destacando-se a piscicultura continental, com 82,3% da produção total nacional. A produção aquícola de origem marinha, apesar de ter sofrido uma redução de sua participação na produção nacional em relação aos anos anteriores – 22,8 em 2008 contra 17,7% em 2010 – vem se recuperando após a queda verificada em 2008 para 2009. Em 2010, a produção aquícola marinha foi de 85.058 toneladas, sendo o maior registro nos últimos seis anos, indicando uma recuperação da produção após perdas ocorridas em 2009, devido principalmente às oscilações climáticas que influenciaram a produtividade das áreas de carcinicultura no Nordeste brasileiro (MPA, 2010).

Nessa produção aquícola marinha nacional, as espécies que mais se destacam são: o camarão marinho, com 69.422,40 toneladas, o mexilhão com 13.723,00 toneladas e a ostra, com 1.908,00 toneladas em 2010. A produção de vieiras teve decréscimo de 62,9% entre 2009 e 2010, com produção neste último de 5,2 toneladas (MPA, 2012). A produção de peixes marinhos ainda não é representada nas estatísticas oficiais por se desenvolverem apenas com finalidades de pesquisa e de modo extensivo, não existindo nenhum empreendimento privado ou público neste setor que se destaque. É de conhecimento público que um empreendimento de cultivo comercial de Beijupirá (*Rachycentron canadum*) de porte industrial foi iniciado no estado de Pernambuco em 2008, mas por diversos fatores de ordem ambiental e infra-estrutural, não puderam seguir em frente.

### **Impactos Ambientais da Aquicultura x ração**

Toda atividade aquícola tem impacto sobre o meio ambiente e conhecer em detalhes as exigências nutricionais dos peixes pode minimizar o impacto ambiental da piscicultura (Cyrino et al., 2010). O que se faz atualmente no Brasil para a

formulação de rações para peixes, por empresas fabricantes de ração e agências de regulação, é atender aos hábitos alimentares de cada grupo de peixes – e.g. onívoro, carnívoro etc. Assim, como nem todos os peixes de um determinado hábito alimentar se comportam da mesma forma, é comum acontecer uma sub ou super estimativa das exigências nutricionais de muitas espécies.

Aubin et al. (2009) trabalharam com métodos integrados de impactos ambientais, utilizando análise do ciclo de vida (ACV), que provê indicadores de impacto em escala regional e global. Seus resultados indicam que, levando-se em conta as cargas de nitrogênio (N) e fósforo (P) contida nas rações, as excretas durante um ciclo de produção, resíduos e sobras de alimento, a monocultura de peixes carnívoros não é a melhor forma de aquicultura do ponto de vista ambiental, uma vez que, a atividade adiciona ao ambiente uma alta quantidade de N e P. Porém, esta modalidade de aquicultura é uma das mais fomentadas, devido a variados fatores como ótima aceitação de mercado, preços elevados e certas facilidades de cultivo (Aubin et al., 2009).

Cyrino et al. (2010) comentam que a tendência do desenvolvimento da aquicultura é a intensificação dos sistemas de produção, especialmente em regiões tropicais. Sistemas de piscicultura intensiva de baixos impactos, ambientalmente corretos e também altamente produtivos, sustentáveis e lucrativos, demandam a adoção de estratégias de produção bem pensadas e projetos responsáveis pelo manejo da emissão de efluentes. Ainda relatam que o manejo de resíduos exige redução das fontes primárias de impacto ambiental, como potenciais sobras alimentares – em especial nitrogênio, fósforo e sólidos fecais dissolvidos (carboidratos indigeridos). O uso de rações e ingredientes – suplementos – que garantam ou trabalhem direcionados à alta digestibilidade atendem tais



preocupações e minimiza tais problemas, desde que o balanceamento das rações (ambientalmente corretas) seja feito com critérios adequados de modelagem biológica e a partir de mecanismos de compensação fisiológica espécie-específicos. Isso demanda, segundo esses mesmos autores, de uma ação coordenada entre o setor produtivo, fábricas de ração, agências regulatórias e instituições de ensino e pesquisa direcionando esforços para a definição de códigos e conduta e práticas de manejo ambientalmente responsáveis e efetivos, tanto para disciplinar o uso dos recursos hídricos, quanto para controlar melhor a entrada destas fontes primárias, especialmente as cargas de N e P nos ambientes aquáticos (Bedford, 2000; Tacon&Forster, 2003; Cyrino et al., 2010).

Hardy e Gatlin III (2002) relatam que o fósforo alimentar não absorvido e retido nos tecidos de peixes de cultivo é excretado na forma de fezes – fósforo não digestível – ou na urina, como resultado do excesso absorvido em relação ao necessário para suas funções vitais e de crescimento. Da mesma forma, o nitrogênio alimentar que não é absorvido, é excretado na forma de fezes. A proteína contém nitrogênio que pode ser liberada na sua decomposição, ou como Amônia excretada pelas brânquias que é originada da degradação metabólica para produção de energia, preferível pelo metabolismo dos peixes à construção de tecidos. Este processo metabólico incrementa a excreção do nitrogênio, primariamente na forma de amônia.

Também, dentro desta temática da produção de rações menos agressivas ao ambiente, afirma que existem três desafios para reduzir os montantes destes compostos por meio do que chamam de estratégias nutricionais. São elas: (1) A busca de dados precisos da biodisponibilidade de fósforo nos componentes das fontes – animal e/ou vegetais – e as interações que ele tem com outros minerais na

digestão de monogástricos; (2) Formulação de dietas que contenham níveis de fósforo disponível bem próximos àqueles requerido pela espécie em suas fases de produção; (3) Definição das mudanças da formulação alimentar para as fases específicas no ciclo de produção, o que chamam de “alimentação por fase – *phase feeding*” (Hardy e Gatlin III, 2002).

Os custos com alimentação artificial (rações) podem representar de 50 a 70% dos custos variáveis em cultivos intensivos em peixes tropicais (Lovell, 1998; Gomes et al., 2006). Dessa forma, ter uma ração que atenda especificamente as exigências nutricionais de uma espécie é fundamental para que se tenha uma criação economicamente viável e ambientalmente responsável.

O uso de proteínas de origem animal na alimentação de peixes, especialmente a farinha de peixe (FP), é altamente dependente de sua oferta no mercado. O fenômeno “*El Niño*”, caracterizado pelo aquecimento das águas do oceano Pacífico na costa oeste da América do Sul, diminuiu até 20% da oferta de FP, comprovando a estreita relação entre a produção e oferta de FP com as capturas mundiais de pescado (Cheng et al., 2003). Assim, devido ao seu alto custo e possível escassez temporária no mercado mundial, a busca por um substituto adequado, seja parcial ou total para a FP, seja pelo seu valor nutricional como relação custo-benefício, continua sendo a busca de pesquisadores e indústrias de fabricação de rações (Kaushik et al., 2004; Cyrino et al. 2010).

### **O uso da enzima exógena fitase como estratégia de diminuição do impacto ambiental**

Bedford (2000) discute em sua revisão, além da conceituação funcional da enzima exógena fitase como um promissor aditivo de rações comerciais “favoráveis

ao meio ambiente”, também descreve seus potenciais benefícios na busca por rações destinadas a peixes carnívoros que agridam menos o meio ambiente.

Os níveis de fósforo nas rações para peixes carnívoros representam custos financeiros e ambientais, uma vez que este elemento é um fator limitante para a qualidade de água de corpos/coleções aquáticos, sendo que o correto balanceamento deste elemento nas rações representa ponto chave na elaboração de dietas apropriadas para peixes marinhos (Bedford, 2000; Cyrino et al. 2010). Neste sentido, a adição da enzima exógena fitase em rações que contenham fósforo na forma de ácido fítico, em proteínas de origem vegetal, vem sendo estudada por diversos autores (Vielma et al., 2002; Pimentel-Rodrigues & Oliva-Teles, 2007; Fjellidal et al., 2012).

Hardy e Gatlin III (2002) relatam que melhores níveis de excreção de P devem ser alcançados incrementando a disponibilidade do P alimentar e simultaneamente reduzindo os níveis de P total nas dietas. Estes mesmos autores, utilizando conhecimentos de Sugiura et al. (1999), também abordam que o direcionamento do mercado no uso cada vez maior de proteínas de origem vegetal para produção de rações para peixes aumentará os níveis de fitato nas dietas, fazendo-se desta forma necessária a utilização de fitase, ou possivelmente o uso de grãos com baixos teores de fitato.

O ácido fítico, ou fitato – mio-inositol hexafosfato – ou cientificamente 1,2,3,4,5,6 hexaquis (diidrogênio fosfato) mio-inositol (IUPAC, 1968) é encontrado apenas em vegetais e seus produtos e sub-produtos, afeta a absorção gástrica de P, Ca, Zn, Fe, Proteína e outros nutrientes (Hardy, 1998; Lovell, 1998). Nas sementes de leguminosas o ácido fítico pode conter até 70% do conteúdo de fosfato,

estruturalmente integrado com proteínas e/ou minerais na forma de complexos (Zhou&Erdman, 1995). De acordo com Cheryan (1980), o papel fisiológico do ácido fítico tem sido descrito como estoque de fósforo, reserva de grupos fosfatos reativos, estoque energético, fonte de cátions e iniciação de dormência (Reddy et al., 1982). A suplementação das rações para peixes com enzimas digestivas visa à melhoria nutricional (digestão e absorção de nutrientes) e a disponibilidade de minerais dos alimentos, e conseqüentemente, redução da excreção de N e P, contribuindo dessa forma, indiretamente, para uma diminuição da poluição ambiental (Cromwell, 1991); Esses estudos são de significativo interesse, sobretudo nos efeitos da nutrição de peixes, mas o uso de enzimas exógenas nesse sentido ainda é bastante incipiente (Hardy, 2002; Liebert & Portz, 2005; Soares, 2008).

A fitase é uma enzima que atua especificamente sobre o fitato – ácido fítico – que é uma entidade química fixa (Bedford, 2000). Ainda segundo esse autor, é presumido que seja ele a entidade de armazenamento de fosfatos nos vegetais e que atua como um considerável efeito anti-nutriente para uma grande maioria de animais. Segundo Cyrino et al. (2010), animais monogástricos, incluindo peixes, não sintetizam nenhum tipo de fitase. Desta forma, as moléculas do fitato passam pelo trato digestório dos peixes virtualmente indigeridas, não aproveitadas como fonte de fósforo, tornando-se maior a concentração deste composto em suas excretas, sejam sólidas ou líquidas tornando-se perigoso para a qualidade ambiental, sobretudo a água e as comunidades bentônicas (Vielma et al., 2002; Ai et al., 2007; Fjelldal et al., 2012 ).

Sugiura et al. (2001) utilizando a fitase em dietas com altos teores de minerais para truta arco-íris, obtiveram aumento na digestibilidade da matéria seca, proteína, Ca, Mg, P total e P fítico, Cu, Fe, Se e Zn. A absorção de P, em especial, aumentou

de 26,6% - ração controle – para 90,1% com 4.000UF/kg alimento. Cheng e Hardy (2002) também obtiveram melhoria de digestibilidade da proteína bruta, energia total e alguns minerais pela mesma espécie, suplementadas com 500 UF/kg alimento.

Elemento nutricional essencial para peixes, o fósforo, participa de muitos processos metabólicos, e.g – como constituinte do tecido ósseo, escamas, produção do ATP mitocondrial, constituinte de membranas celulares e ácidos nucleicos (Skonberg et al., 1997; Vielma et al., 2002). O fósforo em conjunto com o nitrogênio, são os nutrientes principais relacionados a eutrofização de coleções aquáticas (Pimentel-Rodrigues & Oliva-Teles, 2007); Assim, é crucial que se trabalhe exaustivamente na otimização da utilização do fósforo dietético para animais para redução das descargas deste elemento e seus derivados para o ambiente.

Outra grande vantagem da utilização da fitase exógena é o maior ganho de peso observado para diversas espécies de peixes tropicais, como a tilápia (*Oreochromis niloticus*) (Furuya et al., 2001), cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) (Stech, 2009) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Furuya et al., 2008) quando alimentadas com ração suplementada com fitase. A suplementação ótima de fitase em rações para juvenis de pacu e tilápia foram respectivamente 433,33 e 700 UF/kg de ração (Furuya et al., 2001; Furuya et al., 2008).

Diversos autores afirmam que a adição de fitase pode ser vantajosa, e muito certamente é ambientalmente correta, por ser seu uso direcionado à melhor digestibilidade e conseqüentemente melhor assimilação dos nutrientes pelos peixes ou outros animais. Mesmo assim, seu uso é ainda restrito devido ao seu alto custo de produção e por não se adequar perfeitamente as técnicas de processamento das rações suplementadas, sobretudo ao processo de extrusão que eleva os

ingredientes à altas temperaturas (Bedford, 2000; Vielma, et al., 2002). Se houver uma consciência da valoração ambiental como uma das variáveis a serem observadas, é provável que deva ocorrer à inclusão de fitase em rações comerciais (Bedford, 2000).

### **Robalo e a Aquicultura Marinha**

O Robalo Peva (*Centropomus parallelus*) é um peixe de hábito alimentar carnívoro que preda, principalmente peixes e crustáceos, podendo alcançar 5Kg (Cerqueira, 2010). É distribuído em áreas tropicais e subtropicais, exclusivamente da costa atlântica das Américas, desde o litoral da Carolina do Norte, nos Estados Unidos da América, até o Rio Grande do Sul, no Brasil, e tem importância econômica e cultural em áreas tropicais da Flórida, Antilhas e Brasil (Fraser, 1978; Rivas, 1986). É considerada uma espécie catádroma, eurihalina, frequenta águas costeiras, manguezais e lagunas. Costumam penetrar nos rios, adaptando-se facilmente a águas salobras e doces (Cerqueira, 2010). Eles reproduzem em sistemas estuarinos e de água doce, comprovando a característica de eurihalinidade da espécie. Podem permanecer um ciclo de vida inteiro nas porções mais baixas de uma bacia hidrográfica ou podem alternar entre os ambientes marinhos e estuarinos, dependendo de suas condições reprodutivas (Borges et al., 2010).

O robalo peva é um dos principais candidatos para o desenvolvimento da piscicultura em água salgada e salobra no Brasil. É a espécie que se tem maior conhecimento sobre reprodução em cativeiro (Cerqueira, 2010), e uma das únicas espécies nativas com a qual é possível realizar a produção de juvenis em massa (Alvarez-Lajonchère et al., 2002), fator primordial para o desenvolvimento da criação de uma espécie. Características como o hábito gregário, robustez, resistência a

doenças, tolerância a altas densidades de estocagem e amplas variações de salinidade (Tsuzuki, et al., 2007; Alvarez-Lajonchere & Tsuzuki, 2008; Cerqueira & Tsuzuki, 2009), além de sua carne atingir altos valores de mercado, tem estimulado o interesse na aquicultura do robalo peva.

No entanto, a formulação de rações balanceadas, em termos de ingredientes básicos e específicos para essa espécie é bastante deficiente (Cerqueira, 2010). Portanto, para o desenvolvimento desta base nutricional para a espécie tomou-se como base, fórmulas já testadas para outras espécies de carnívoros, porém em ambientes temperados.

## **2. HIPÓTESE E OBJETIVOS**

### **HIPÓTESE**

A adição de fitase na ração melhora o desempenho zootécnico e diminui a excreção de fósforo e amônia em robalo peva.

### **OBJETIVO**

#### **Geral**

Auxiliar no desenvolvimento de uma ração para o robalo peva que proporcione o maior crescimento possível com baixo impacto ambiental.

#### **Específico**

Testar o crescimento e a excreção de amônia e fósforo em juvenis de robalo peva alimentados com ração suplementada com fitase.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Para alcançar os objetivos propostos foram realizados dois experimentos, ambos testando três concentrações de fitase (0, 500 e 1000 UF/Kg). O primeiro experimento avaliou o crescimento de robalo peva criado em tanque-rede, após 60 dias de alimentação com as rações testes. O segundo experimento mediu a excreção de amônia e fósforo em robalo peva alimentado por 30 dias com as rações experimentais.

#### **Animais experimentais**

Todos os animais utilizados nesse trabalho foram provenientes da maricultura Pandini, localizada no Município de São Mateus, ES. Os peixes foram adquiridos com cerca de 1g.

Os peixes utilizados no primeiro experimento foram recriados em 16 caixas de 500L no laboratório de Aquicultura da Universidade Federal do Espírito Santo em Aracruz, ES e levados para engorda em uma piscicultura particular na Lagoa do Aguiar em Linhares, ES.

Na lagoa, os peixes foram mantidos em um tanque-rede de 6 m<sup>2</sup> por um período de 12 meses até atingirem o tamanho desejado para a realização do experimento.

Os peixes utilizados no segundo experimento foram levados para o Laboratório de Ictiologia Aplicada da Universidade Vila Velha e condicionados em uma caixa de 500L para aclimatação por um período de 15 dias.

## Dieta experimental

A dieta base dos animais foi uma ração extrusada, isoproteica e isocalórica, com substituição de 25,38% de proteína origem animal por proteína vegetal. A relação Cálcio/ Fósforo (Ca/P) desta ração foi da ordem de 1,49. Em relação ao fósforo disponível, a relação Ca/P disponível foi da ordem de 2,51. Para o primeiro experimento a granulometria da ração foi de 6 mm e para o segundo experimento foi de 1,5 mm.

A farinha de peixe foi utilizada como fonte da proteína animal, bem como a farinha de vísceras que contém um nível mais baixo de fósforo total. O concentrado proteico de soja como fonte de proteína vegetal, com teor de fitatos na ordem de 0,6 a 1,6%. A farinha de penas foi utilizada como fonte de compensação de aminoácidos (AA) e o arroz quebrado (quirera) foi utilizado como a principal fonte de amido, para garantir maior gelatinização e flutuabilidade. A fonte de lipídio foi o óleo de peixe e a gordura de aves. A descrição da ração administrada aos peixes, em seus tratamentos segue na tabela 1.

As concentrações de enzima fitase (HiPhos (L)<sup>®</sup>/DSM - 20.000 UF/g), que tem apresentação líquida, foram aplicadas *on-top* à cada ração experimental após serem diluídas em água deionizada na proporção de 1:10. A adição da enzima na ração foi realizada com auxílio de um aspersor manual. Após a aplicação do concentrado, as rações foram colocadas em estufa a 50° C por 30 min. Na ração controle, onde não teve adição da enzima foi aplicada a mesma quantidade de água e passou pela estufa da mesma forma que as demais rações experimentais.

Nos dois experimentos foram testados três tratamentos: controle sem adição de fitase (0 UF/Kg); 500 UF/Kg e 1000 UF/Kg. Essas concentrações foram escolhidas por estarem dentro da faixa encontrada como ideal para outros peixes tropicais, incluindo espécies carnívoras como o sea bass (*Dicentrarchus labrax*), de acordo com Oliva-Teles et al. (1998) Uma amostra de cada ração experimental foi enviada para análise de recuperação da enzima, que foi realizada pelo método do molibdato/vanadato acidificado colorimétrico e realizado na DSM Nutritional Products Ltd. Basel, Switzerland.

Tabela 1 - Formulação e composição aproximada da ração basal para *Centropomus parallelus* (% matéria seca).

INGREDIENTE / TIPO	UNIDADE	QUANTIDADE
Farinha de Peixe 55 <sup>a</sup>	%	15,00
Farinha de Visceras 60 <sup>b</sup>	%	30,00
Farinha de penas 80 <sup>a</sup>	%	8,00
Concentrado Proteico de Soja <sup>a</sup>	%	15,87
Arroz quebrado - Quirera <sup>a</sup>	%	25,00
Gordura de Aves <sup>a</sup>	%	3,50
Óleo de Peixe <sup>a</sup>	%	0,75
Saffmanann <sup>b</sup>	%	1,00
Premix Vitamínico <sup>c</sup>	%	0,80
Vitamina C <sup>a</sup>	%	0,05
<b>Matéria Seca (MS)</b>	%	<b>91,83</b>
<b>Proteína (PB)</b>	%	<b>45,07</b>
<b>Proteína Animal (PTA)</b>	%	<b>33,63</b>
<b>Energia Digestível para Peixes</b>	Kcal/kg	<b>3.450,00</b>
<b>Gordura</b>	%	<b>11,54</b>
<b>Fibras</b>	%	<b>0,48</b>
<b>Cinzas</b>	%	<b>8,80</b>
<b>Cálcio (Ca)</b>	%	<b>1,94</b>
<b>Fósforo (P)</b>	%	<b>1,30</b>
<b>Fósforo Disponível</b>	%	<b>0,77</b>
<b>Amido</b>	%	<b>18,09</b>
<b>HUFA (n-3)</b>	%	<b>3,30</b>
<b>HUFA (n-6)</b>	%	<b>2,92</b>
<b>Tiamina</b>	mg/kg	<b>20,00</b>
<b>Niacina</b>	mg/kg	<b>62,40</b>
<b>Piridoxina - B6</b>	mg/kg	<b>16,00</b>
<b>Ácido Fólico</b>	mg/kg	<b>6,00</b>
<b>Metionina</b>	%	<b>0,80</b>

a –Dados obtidos por laudo emitido pelo fornecedor Nutriave Alimentos, por análise bromatológicas do laboratório interno.

b- Manano-oligossacarídeos (MOS) e beta-glucanas, derivada de levedura inativa primária (*Saccharomyces cerevisiae*).

c - Premix Mineral Vitamínico (Ácido Fólico, Ácido Pantotênico, Biotina, Cloreto de Colina, Iodato de Cálcio, Niacina, Selenito de Sódio, Sulfato de Cobre, Sulfato de Manganês, Sulfato Ferroso, Óxido de Zinco, Vitamina A, Vitamina B1, Vitamina B2, Vitamina B6, Vitamina B12, Vitamina D3, Vitamina K3).

## **Experimento I – efeito da suplementação de fitase na ração no crescimento de robalo peva em tanque-rede.**

Os peixes ( $235,42 \pm 23,20$  g; média  $\pm$  erro padrão) foram estocados em 12 tanques-rede de  $1\text{m}^3$  com malha de 30 mm entrenós, na densidade de 4 peixes/ $\text{m}^3$  (940 g/ $\text{m}^3$ ). Os peixes foram alimentados com as rações experimentais duas vezes ao dia com 3% da biomassa por um período de 60 dias. Cada tratamento (0, 500 e 1000 UF fitase/Kg de ração) teve quatro repetições.

Após 60 dias de criação, os peixes foram capturados, abatidos por hipotermia e pesados em balança com 0,1g de precisão (Marca Bell, Modelo Mark 1502, precisão de 0,01g). Com o resultado da pesagem foi possível calcular o ganho de peso (GP = peso final – peso inicial), a taxa de crescimento específico (TCE =  $[(\ln \text{ peso tempo } 1 - \ln \text{ peso tempo } 0)/\text{tempo}] \times 100$ ), a conversão alimentar aparente (CAA = GP/consumo de ração) e a taxa de eficiência proteica (TEP = GP/proteína ingerida).

Foram avaliados quinzenalmente na lagoa o oxigênio dissolvido, a temperatura, o pH, a condutividade e a salinidade com um medidor multiparâmetro YSI Professional Plus. A amônia total foi medida pelo método do endofenol (APHA, 1998). A água para as análises foi coletada em três pontos ao longo da linha de tanque-rede, a uma profundidade média de 50 cm.

Uma amostra inicial de tecido muscular de 8 peixes e amostras de 2 peixes de cada tanque-rede ( $n = 8$  para cada tratamento) no final do experimento foram preservadas em freezer para análises de extrato etéreo e nitrogênio total. Para análise de extrato etéreo foi feita a extração etérea por meio de destilador de Soxhlet. Para análise de retenção de nitrogênio total foi utilizado o método de Kjeldahl. As análises de fósforo total foram realizadas no tecido ósseo, sendo o

ensaio realizado com uma alíquota dos ossos do crânio – mandíbulas e principais ossos do crânio dos peixes. O método utilizado foi o colorimétrico utilizando o ensaio com o Nitro-molibdo-vanadato. Todos os métodos seguiram o preconizado em AOAC (1999).

A retenção de nitrogênio no tecido muscular e de fósforo no tecido ósseo foi calculada pela seguinte fórmula: Retenção de nitrogênio ou fósforo (%) =  $(B_f \times Y_f - B_i \times Y_i) / (CR \times Y)$ . Onde:  $B_f$  é a biomassa final;  $Y_f$  é o nitrogênio ou o fósforo final;  $B_i$  é a biomassa inicial;  $Y_i$  é o nitrogênio ou o fósforo inicial; CR é o consumo de ração e Y é a quantidade de nitrogênio ou fósforo na ração.

Os dados obtidos para todas as variáveis foram analisados para verificar a sua distribuição e posteriormente foi aplicada uma ANOVA e teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### **Experimento II – efeito da suplementação de fitase na ração na excreção de fósforo e amônia em robalo peva.**

Foi realizado um experimento inteiramente casualizado, utilizando 15 aquários de 35L com 10 peixes em cada, biomassa de  $13,53 \pm 0,08$  g (média  $\pm$  erro padrão) por aquário. O aquário era estático e continha aeração constante. Cada tratamento (0, 500 e 1000 UF fitase/Kg de ração) teve cinco repetições. Os animais foram alimentados até a saciedade durante 30 dias, duas vezes ao dia às 9 h e às 17 h. Os aquários foram limpos e sifonados a cada três dias com uma troca média de 50% do volume da água.

Durante o experimento foram coletados, semanalmente, os parâmetros físico-químicos da água: temperatura, oxigênio dissolvido, pH, condutividade e sólidos totais em suspensão, sempre entre as trocas de água, com auxílio de sonda multiparâmetro YSI Professional Plus. Nestes mesmos períodos eram coletadas

amostras para análise de amônia total e fósforo total. As análises de amônia foram realizadas pelo método do endofenol (APHA, 1998) e as de fósforo total foram fixadas com ácido sulfúrico para posterior análise pelo método do ácido ascórbico (APHA, 1998).

Após 30 dias de alimentação, os animais, foram anestesiados com 100 mg/L de benzocaína (Gomes et al., 2001), pesados e recolocados em seus aquários, foram então deixados de jejum por 60 horas. Após 48 horas de jejum, trocou-se 100% da água, e os aquários foram cuidadosamente lavados com detergente livre do fósforo. Após a troca de água, os peixes foram deixados por mais 12 horas nos aquários para recuperação do estresse do manejo realizado. Em seguida os peixes foram alimentados com exatamente 1% da biomassa viva, então amostras de 120 mL foram retiradas dos aquários em 0, 6, 12, e 24 horas após a alimentação para análise de amônia total e fósforo total, pelos métodos já descritos anteriormente.

A excreção de fósforo e amônia seguiu o método descrito por Altinok & Grizzle (2004), onde a excreção foi calculada para os três períodos de análise (6, 12 e 24 horas de excreção). Para o cálculo da excreção foram levadas em consideração as seguintes variáveis: biomassa (B); volume de água do aquário (V) e a concentração da amostra (amônia ou fósforo) no início (CI) e no final (CF) do período amostral. O resultado foi expresso em:  $\mu\text{g}$  de amônia ou fósforo/g/L/6, 12 ou 24h. A fórmula utilizada foi a seguinte:  $\text{Excreção} = \frac{[(CF) - (CI)]}{B} \cdot V$ .

Os dados obtidos para excreção de amônia e de fósforo foram analisados para verificar a sua distribuição e posteriormente foi aplicada uma ANOVA e teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

### Recuperação da Enzima na ração

A ração controle continha uma pequena quantidade de fitase (< 100 UF/Kg). A taxa de recuperação da enzima na ração em que a fitase foi adicionada foi de 75-84% (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise de recuperação da fitase (HiPhos (L) <sup>®</sup>/DSM) nas rações experimentais utilizadas para a alimentação do robalo peva (*Centropomus parallelus*).

Fitase na ração (UF/Kg)	Média ± DP (UF/Kg)	CV (%)	Recuperação (%)
0	65±2	3	-
500	375±15	4	75
1000	841±28	3	84

## EXPERIMENTO I

### Parâmetros de qualidade de água e mortalidade

Os valores médios das variáveis de qualidade analisadas na lagoa do Aguiar foram: temperatura 29,82 ± 0,02 ° C, oxigênio dissolvido 4,94 ± 0,04mg/L, pH 6,54 ± 0,01, sólidos totais em suspensão 37,05 ± 0,34mg/L e salinidade 0,02 ± 0,00. Não houve mortalidade durante o experimento.

O ganho de peso, a conversão alimentar, a taxa de crescimento específico e a taxa de eficiência proteica foram significativamente diferentes no tratamento com adição de 1000 UF/Kg quando comprado ao controle (Tabela 3). O ganho de peso dos peixes do tratamento com 1000 UF/Kg foi cerca de 34% superior aos peixes do tratamento controle (0 UF/Kg) e, a conversão alimentar foi 32% mais alta que ao dos



peixes do tratamento controle. Os peixes que foram alimentados com 500 UF/Kg apresentaram um crescimento semelhante ao dos peixes controle.

Tabela 3 - Crescimento do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração, após 60 dias de criação em tanque-rede. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

Fitase na Ração (UF/Kg)	Parâmetros			
	GP (g)	CAA	TCE (%)	TEP
0	65,87 $\pm$ 3,27 <sup>a</sup>	6,55 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>	0,41 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,09 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
500	66,99 $\pm$ 8,04 <sup>a</sup>	6,27 $\pm$ 0,56 <sup>ab</sup>	0,43 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,09 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
1000	99,16 $\pm$ 6,54 <sup>b</sup>	4,44 $\pm$ 0,31 <sup>b</sup>	0,57 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,13 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
ANOVA				
Valor F	9,073	7,628	5,988	7,776
Valor P	<b>0,007</b>	<b>0,012</b>	<b>0,022</b>	<b>0,011</b>

Valores com letras diferentes expressam diferenças estatísticas significantes entre os tratamentos por uma ANOVA – teste *Tukey* ( $P < 0,05$ ).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos na quantidade de proteína no filé dos animais (Tabela 4). A quantidade de lipídio foi significativamente maior nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg quando comparado aos peixes do controle. Os peixes alimentados com 500 UF/Kg apresentaram uma quantidade de lipídio intermediária, não diferindo significativamente de nenhum dos outros dois tratamentos.

Tabela 4 - Composição em proteína e lipídeos do filet do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

Fitase na Ração (UF/Kg)	Parâmetros	
	Proteína (%)	Lipídios (%)
0	20,41 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	2,62 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>
500	21,90 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	3,56 $\pm$ 0,23 <sup>ab</sup>
1000	22,00 $\pm$ 1,26 <sup>a</sup>	5,22 $\pm$ 0,62 <sup>b</sup>
ANOVA		
Valor F	0,912	7,471
Valor P	0,436	<b>0,004</b>

Valores com letras diferentes expressam diferenças estatísticas significantes entre os tratamentos por uma ANOVA – teste *Tukey* ( $P < 0,05$ ).

A retenção de nitrogênio no tecido muscular e de fósforo no tecido ósseo foi significativamente maior nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg do que nos peixes dos demais tratamentos (Tabela 5). A retenção de nitrogênio variou entre 1,5 e 2,8% e a retenção de fósforo variou entre 1,06 e 2,6%.

Tabela 5 - Retenção de nitrogênio no tecido muscular e de fósforo no tecido ósseo do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

Fitase na Ração (UF/Kg)	Parâmetros	
	Nitrogênio (%)	Fósforo (%)
0	1,50 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1,06 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
500	2,11 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	1,90 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
1000	2,78 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	2,60 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>
ANOVA		
Valor F	4,391	4,544
Valor P	<b>0,047</b>	<b>0,004</b>

No que diz respeito às taxas percentuais de Nitrogênio total no filé e também dos níveis de fósforo total nos ossos do crânio dos robalos não foram encontradas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), conforme demonstra as Figuras 1 e 2, respectivamente.

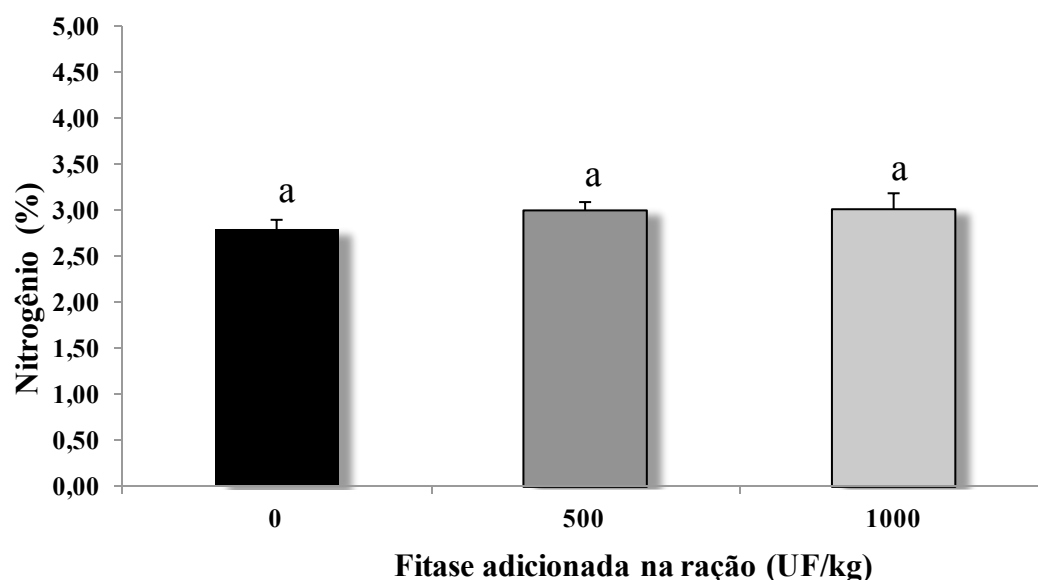


Figura 1. Nitrogênio total no filé do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

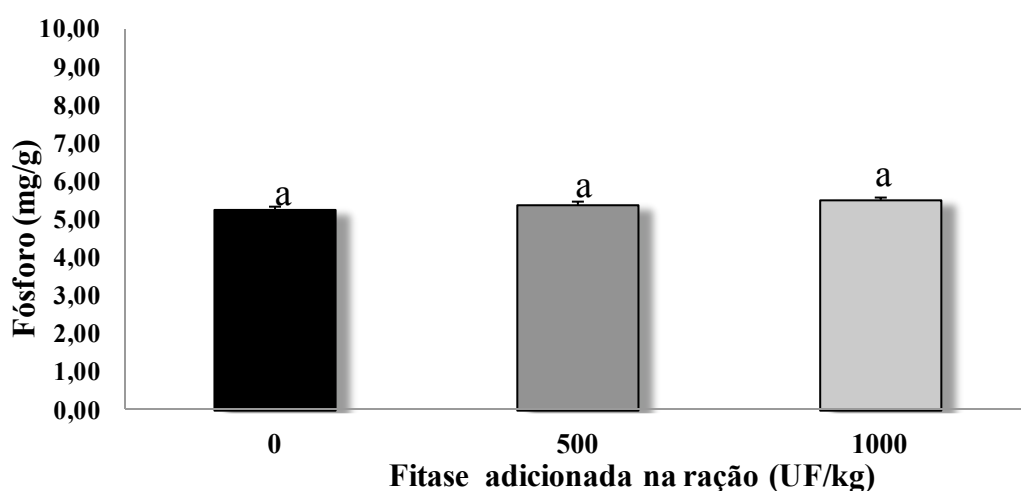


Figura 2. Fósforo total no osso do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

## EXPERIMENTO II

### Parâmetros de qualidade de água e mortalidade

Os valores médios das variáveis de qualidade analisadas nos aquários experimentais em laboratório foram: temperatura  $26,41 \pm 0,32^{\circ} \text{C}$ , oxigênio dissolvido  $6,29 \pm 0,10 \text{ mg/L}$ , pH  $6,95 \pm 0,03$  e sólidos totais em suspensão  $55,35 \pm 1,17 \text{ mg/L}$ . Não houve mortalidade durante o experimento.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos nas concentrações de amônia e fósforo (Tabela 6). As concentrações de amônia foram bem próximas e variaram entre 2,3 e 2,4 mg/L entre os tratamentos. O fósforo total variou entre 0,36 e 0,46 mg/L.

Tabela 6 - Concentrações de amônia e fósforo total nos aquários do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

Fitase na ração (UF/Kg)	Amônia total (mg/L)	Fósforo total (mg/L)
0	$2,364 \pm 0,58^a$	$0,365 \pm 0,05^a$
500	$2,274 \pm 0,58^a$	$0,443 \pm 0,08^a$
1000	$2,439 \pm 0,62^a$	$0,457 \pm 0,08^a$
ANOVA		
Valor de F	0,019	0,493
Valor de P	0,981	0,626

A taxa de excreção de fósforo não apresentou diferença significativa entre os tratamentos para nenhum dos três tempos de excreção testados (Tabela 7). A excreção variou de  $0,137 \mu\text{g P/g/L}$  no tratamento com 1000 UF/Kg após 24 horas de excreção até  $0,343 \mu\text{g P/g/L}$  no tratamento controle após 12 horas de excreção.

Tabela 7 - Excreção de fósforo total ( $\mu\text{g P/g/L}$ ) do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

Fitase na ração (UF/Kg)	Período de excreção (h)		
	6	12	24
0	0,263 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,343 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,157 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
500	0,247 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,292 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,154 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
1000	0,244 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,285 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,137 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
ANOVA			
Valor de F	0,046	0,216	1,196
Valor de P	0,955	0,809	0,336

Da mesma forma que o fósforo, a taxa de excreção de amônia não apresentou diferença significativa entre os tratamentos para nenhum dos três tempos de excreção testados (Tabela 8). A excreção de amônia variou de 0,544  $\mu\text{g NH}_3+\text{NH}_4/\text{g/L}$  no tratamento com 1000 UF/Kg após 6 horas de excreção até 0,796  $\mu\text{g NH}_3+\text{NH}_4/\text{g/L}$  no tratamento controle após 24 horas de excreção.

Tabela 8 - Excreção de amônia total ( $\mu\text{g NH}_3+\text{NH}_4/\text{g/L}$ ) do robalo peva (*Centropomus parallelus*) alimentados com diferentes concentrações de fitase na ração. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão.

Fitase na ração (UF/Kg)	Período de excreção (h)		
	6	12	24
0	0,645 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	0,623 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,796 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
500	0,570 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,569 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,719 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>
1000	0,544 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,683 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,766 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
ANOVA			
Valor de F	0,205	0,467	0,145
Valor de P	0,818	0,638	0,866

## 5. DISCUSSÃO

### EXPERIMENTO I

Os valores médios obtidos para as variáveis de qualidade de água na lagoa do Aguiar durante o experimento se mantiveram em níveis recomendados por Cerqueira (2010) e Ribeiro & Tsuzuki (2010) para a criação da espécie, dessa forma não devem ter influenciado negativamente o crescimento dos peixes. Apesar de ser uma lagoa costeira a salinidade encontrada na lagoa do Aguiar indica que os animais foram criados em água doce.

Bedford (2000) verificou que o concentrado protéico de soja, fonte de origem vegetal utilizada na ração utilizada no presente trabalho, contém 0,31% de ácido fítico ou fitato. Isto justifica a utilização da fitase em rações para peixes carnívoros onde parte da proteína animal é substituída por proteína vegetal (Roy & Lall, 2003; Yang et al., 2006; Furuya et al. 2008).

Diversos estudos vêm sendo realizado no que diz respeito à substituição parcial e/ou total de proteínas de origem animal pelas de origem vegetal, que resultariam em redução de custos para a fabricação de rações para peixes e que ao mesmo tempo possam ser ambientalmente amigáveis. Além disso, essas rações devem disponibilizar prontamente os elementos nutricionais essenciais para os animais em regime de cultivo. Vielma et al. (2000) concluíram que a utilização 1200 UF/kg de fitase em rações com substituição de proteína de origem animal por de origem vegetal, não compromete o ganho de peso e também a conversão alimentar de truta arco-íris. Esse resultado é similar ao obtido no presente trabalho onde a adição de 1000 UF/Kg em uma ração com substituição de 25% da proteína animal por proteína vegetal proporciona um maior crescimento e conversão alimentar do que dos peixes alimentados sem suplementação de fitase. O ganho de peso e a conversão alimentar dos peixes alimentados com ração suplementada com 1000 UF/Kg foi cerca de

35% maior do que o dos peixes controle. A suplementação com 500 UF/Kg não proporcionou um aumento no ganho de peso e conversão alimentar.

A taxa de crescimento específico e a taxa de eficiência proteica também foram significativamente maiores nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg. A taxa de crescimento específico obtida para o robalo peva é menos de 10% da obtida para juvenis (7g) do seabass japonês (*Lateolabrax japonicus*) alimentado com dieta contendo fitase, mas é similar a obtida por Oliva-Teles (1998) com juvenis de seabass (*Dicentrarchus labrax*) (14g). Todos os resultados com engorda de robalo peva demonstraram que a espécie possui um crescimento muito lento em cativeiro (revisto por Cerqueira, 2010), com um taxa de crescimento bem abaixo de outras espécies carnívoras marinhas. Os resultados de crescimento obtidos com a incorporação de 1000 UF/Kg de fitase na ração indicam que a espécie pode atingir taxas de crescimento maior do que as obtidas atualmente. Mas para isso é necessário formular uma ração que a atenda as exigências nutricionais da espécie e que contenha suplementos que favoreçam a digestibilidade dos ingredientes.

A maior retenção de nitrogênio e fósforo nos peixes do tratamento com 1000 UF/Kg está relacionada com o maior ganho de peso desses peixes e é similar ao resultado obtido por Papatryphon et al. (1999) com *striped bass* (*Morone saxatilis*). A maior retenção de fósforo nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg sugere que a fitase degradou o fitato e aumentou a utilização do fósforo pelo robalo. Entretanto, a retenção de fósforo e nitrogênio no robalo é menos de 5% do observado para outros peixes como o seabass japonês (Ai et al., 2007).

Não houve diferença significativa na quantidade de proteína no filé dos robalos ( $P > 0,05$ ). Porém, a porcentagem de lipídeo no filé foi maior nos peixes alimentados com 1000 UF/Kg ( $P < 0,05$ ). O provável fato de termos observado esta diferença é que a ração oferecida não tinha deficiência em fósforo e, além disso, disponibilizou-se mais fósforo fítico para assimilação com a presença da fitase para hidrolisação deste composto e assim potencializou-se o ciclo do ácido cítrico e conseqüentemente a biossíntese dos lipídeos e

sua deposição nos tecidos e carcaça. Stech (2009), descreve que a adição de fitase e outras enzimas exógenas na ração da cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) incrementa o aproveitamento da proteína e dos carboidratos pelo fato de estimularem a produção de enzimas digestivas endógenas.

O tecido muscular e ósseo são considerados por Hardy et al. (2002) como os melhores tecidos para quantificar o nitrogênio e o fósforo corporal por terem respostas mais sensíveis do que analisando este parâmetro no corpo inteiro. Ai et al. (2007) relatam que para o seabass japonês, a quantidade de nitrogênio no tecido muscular não se altera com a suplementação de fitase. Por outro lado, Vielma et al. (2002) e Papatryphon et al (1999) verificaram maior quantidade de nitrogênio no tecido muscular em truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) e *striped bass* alimentados com ração suplementada com fitase. Para Vielma et al. (2002) a quantidade de nitrogênio no tecido muscular se deve principalmente a dois fatores: (1) níveis de suplementação de fitase e; (2) método de incorporação nas dietas.

A mineralização óssea é uma variável representativa na quantificação de fósforo em peixes, sendo o aumento no teor ou na disponibilização do fósforo da ração resulta em aumento do conteúdo de fósforo nos ossos (Bock et al., 2006; Zhang et al., 2006; Furuya et al., 2008). Ai et al. (2007) encontrou uma maior deposição de fósforo nos ossos do seabass japonês em dietas suplementadas 500 UF/kg de fitase. Oliva-Teles et al. (1998) testando 1000 UF/kg e 2000 UF/kg, não encontrou diferenças significativas na deposição de fósforo para o seabass em rações contendo proteína de origem vegetal, resultado esse similar ao do presente estudo.



## EXPERIMENTO II

Os valores médios obtidos para as variáveis de qualidade de água durante o experimento, com a exceção da amônia, se mantiveram em níveis recomendados por Cerqueira (2010). As altas concentrações de amônia obtidas podem ser atribuídas ao sistema de experimento que foi montado, constituído de uma sistema fechado com pouca troca de água. A toxicidade da amônia se revela dependente do pH e da temperatura (Boyd, 2003) e nas condições de pH e temperatura do presente trabalho, a porcentagem de amônia não ionizada (forma tóxica) encontrada era de apenas 0,60 a 0,70% da amônia total. Não foram verificados sinais de intoxicação por amônia como natação errática e falta de apetite.

Bedford (2000) afirma que os benefícios do uso da fitase na redução da poluição causada por excretas e sobras de alimento, essencialmente pelo fósforo descartado/excretado está clara e é unanimemente reconhecido como um suplemento alimentar da indústria nutricional tanto aquícola quanto da suinocultura e avicultura, precursores deste tipo de estudo e com resultados bastante sólidos. Entretanto, no presente trabalho esse efeito benéfico não ficou tão claro, uma vez que não houve uma diminuição na excreção de fósforo e amônia nos peixes alimentados com fitase.

A adição de fitase na ração aumenta a retenção de fósforo e nitrogênio corporal, como visto no experimento anterior, mas não o suficiente para que tenha uma diminuição na excreção de amônia e fósforo em nenhum dos períodos estudados (6, 12 e 24 horas de excreção). A retenção de nitrogênio e fósforo encontrada no robalo peva é uma das mais baixas descritas na literatura e se deve ao baixo aproveitamento de proteína por parte da espécie o que gera um ganho de peso incipiente e uma baixa conversão alimentar. Outra razão pode ter sido a utilização de uma ração com uma quantidade de fósforo acima dos requerimentos da espécie. Al et al. (2007) observaram que o seabass japonês também não apresenta uma diminuição na excreção de amônia, mas apresenta uma diminuição na excreção de fósforo quando alimentado com fitase.

## **6. CONCLUSÕES**

Ao final dos experimentos, observamos estatisticamente que a inclusão de 1000 UF de fitase/Kg na ração proporciona uma melhoria no ganho de peso, na conversão alimentar, na taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica em robalo peva.

Ainda, a inclusão de 1000 UF de fitase/Kg de ração proporciona uma maior retenção de nitrogênio e fósforo em robalo peva. Por outro lado, as concentrações de fitase utilizadas não foram suficientes para diminuir a excreção de amônia e fósforo em robalo peva.

Desta forma, a hipótese inicial desse trabalho foi parcialmente comprovada, uma vez que a adição de fitase proporcionou uma melhoria nos índices zootécnicos, mas não proporcionou uma diminuição da excreção de amônia e fósforo.

## 7. REFERÊNCIAS

- Ai, Q., Mai, K., Zhang, W., Xu, W., Tan, B., Zhang, C., Li, H. 2007. Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorous excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 147: 502-508.
- Altinok, I. & Grizzle, J.M. 2004.. Excretion of ammonia and urea by phylogenetically diverse fish in low salinities. *Aquaculture*, 238: 499-507.
- Alvarez-Lajonchère, L, Cerqueira, V.R., Silva, I.D., Araújo, J., Reis, M. 2002. Mass production of juveniles of fat snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *World Aquaculture Society*, 33(4): 506-516.
- Alvarez-Lajonchère, L. & Tsuzuki, M.Y. 2008. A review of methods for *Centropomus* spp. (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture research*, 39, e684-e700.
- APHA, (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation), 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18<sup>th</sup> edition. APHA, New York. 1050p.
- AOAC (1999) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* 16th edition (Cunniff P Editor). AOAC International Gaithersburg MD USA.
- Aubin, J., Papatryphon, E., Van Der Werf, H.M.G., Chatzifotis, S. 2009. Assessment of the environmental impact of carnivorous finfish production systems using life cycle assessment. *Journal of Clear Production* 17.
- Bedford, M.R. 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. *Animal Feed Science and Technology*, 53:145-155.
- Bedford, M.R. 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. *Review Article. Animal Feed Science and Technology*, 86: 1-13.
- Bedford, M.R., Cowieson, A.J. 2012. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Animal Feed Science and Technology*, 173: 76-85. Special issue entitled *Nutrition and Pathology of Non-Ruminants*.
- Borges, J.C.S., Pressinotti, L.N., Gomes, V., Silva, J.R.M.C. 2010. Lipidic and proteic absorption in digestive tract of tropical fat snook (*Centropomus parallelus*, POEY 1860). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 386: 39-44.
- Bock, C.L., Pezzato, L.E., Cantelmo, O.A., Barros, M.M. 2006. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(6): 2197-2201.
- Boyd, C.E. 2003. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. *Aquaculture*, 226: 101-116.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA. 2012. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura – Brasil 2010. Brasília, DF. 128p.

Cerqueira, V.R., Tsuzuki, M.Y. 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the ft snook, *Centropomus parallelus*. Fish Physiology Biochemistry, 35: 17-28.

Cerqueira, V.R. 2010. Cultivo de Robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Pp. 489-520. In: Baldisserotto, B., Gomes, L.C.(org.). Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. Cap. 19. 2ª Edição Revista e Ampliada – Santa Maria, RS: Editora da UFSM. 606p.

Cheng, Z.J., Hardy, R.W. 2002. Effect os 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.

Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Usry, J.L. 2003. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. Aquaculture, v.218, p.553-565.

Cheryan, M. 1980. Phytic acid interactions in food systems. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, v.13, n.4, p.297-335.

Coloso, R.M, King, K, Fletcher, J.W., Weis, P., Werner, A., Ferraris, R.P. 2003. Dietary P regulates phosphate transport expression, phosphatase activity, and effluent P partitioning in trout culture. Journal of Comparative Physiology, 173(B): 519-530.

Cromwell, G.L. 1991. Phytase appears to reduce phosphorus in feed manure. Feedstuffs, 63: 41-41.

Cyrino, J.E.P., Bicudo, A.J.A., Sado, R.Y., Borghesi, R., Dairiki, J.K. 2010. A Piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. Revista Brasileira de Zootecnia, 39:.68-87.(suplemento especial).

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. Rome, FAO. 2010. 197p.

Fernandes, J.B.K., Carneiro, D.J., Sakomura, N.K. 2000. Fontes e Níveis de Proteína Bruta em dietas para Alevinos de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Revista Brasileira de Zootecnia, 29(3):646-653.

Fjellidal, P.G., Hansen, T., Albrektsen, S. 2012. Inadequate phosphorus nutrition in juvenile Atlantic salmon has a negative effect o long-term bone health. Aquaculture, 334-337: 117-123.

Fraser, T.H. Centropomidae. In: Fisher, W (Editor). 1978. FAO species identification sheets for fishery purposes. V.5. Western Central Atlantic, FAO.Roma.

Furuya, W.M., Gonçalves, G.D., Furuya, V.R.B., Hayashi, C. 2001. Fitase na Alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e Digestibilidade. Revista Brasileira de Zootecnia, 30(3): 924-929 (suplemento 1).

Furuya, W.M., Michelato, M., Silva, L.C.R., Santos, L.D., Silva, T.S.C. Schamber, C. R., Vidal, L.V.O., Furuya, V.R.B. 2008. Fitase em rações para juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo, 34(4): 489-496.

Gomes, L. C.; Chippari-Gomes, A. R.; Lopes, N. P.; Roubach, R; Araujo-Lima, C. A.R.M. 2001 Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. Journal of the World Aquaculture Society, v. 32, n. 4, p. 426-431.

Gomes, L. C.; Chagas, E; Martins-Junior, H; Roubach, R; Ono, E; De Paula-Louranço J. 2006. Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. Aquaculture (Amsterdam), v. 253, n. 1-4, p. 374-384.

Hardy, R.W. 1998. Back to the future. Aquaculture Magazine, 24: 78-81.

Hardy, R.W., Gatlin, D.M. 2002. Nutritional Strategies to Reduce Nutrient Losses in Intensive Aquaculture. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds). Avances em nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

Hardy, R.W. 2002. Use of Soybean Meals in diets of Salmon and Trout. Technical Review Paper - USB&ASA – [www.soymeal.org](http://www.soymeal.org) – acesso em 02 de maio de 2012.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). 1968. Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry. The nomenclature of cyclitols. European Journal of Biochemistry, New York, v.5, n.1, p.1-12. JARIWALLA, R.J. A

Lovell, R.T. 1998. Nutrition and feeding of fish. 2.ed. Boston: Kluwer Academic Publishers.

Kaushik, S.J., Covès, D., Blanc, D. 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein in the diet of a marine teleost, the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture, v.230, p.391-404.

Lall, S. P. 2002. The Minerals. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. Fish Nutrition, 3<sup>rd</sup> Edition. Academic Press, New York. Pp. 259-308.

Liebert, F., Portz, L. 2005. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. Aquaculture, 248:111-119.

Lovell, R.T. 1998. Nutrition and feeding of fish. 2.ed. Boston: Kluwer Academic Publishers.

Oliva-Teles, A., Pereira, J.P., Gouveia, A., Gomes, E. 1998. Utilisation of Diets with Microbial Phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquatic Living Resources, 11(4): 255-259.

- Papatryphon, E., Howell Jr., R.A., J.H.S., 1999. Growth and mineral absorption by striped bass *Morone saxatilis* fed a plant feedstuff based diet supplemented with phytase. *Journal of World Aquaculture Society*, 30: 161–173.
- Pimentel-Rodrigues, A. & Oliva-Teles, A. 2007. Phosphorus availability of inorganic phosphates and fish meals in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. *Aquaculture*, 267: 300-307.
- Reddy, N.R., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Advances in Food Research*, New York, v.28, p.1-92.
- Ribeiro, F.F., Tsuzuki, M.Y. 2010. Compensatory Growth responses in juvenile fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, 1860 following food deprivation. *Aquaculture research*, 41: e226-e233.
- Rivas, L.R. 1986. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia*, n.3: 579-611.
- Roy, P.K., Lall, S.P. 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture*, 221: 451-468.
- Sakamoto, S., Yone, Y. 1978. Effect of dietary phosphorus level on chemical composition of red sea bream. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44: 227-229.
- Skonberg, D. I., Yogev, L., Hardy, R.W., Dong, F.M. 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 157: 11-24.
- Soares, E.C. 2008. Cultivo intensivo de espécies carnívoras. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 3(2). Artigos Técnicos. Julho.
- Stech, M.R. 2009. Enzimas exógenas na alimentação do cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*). Tese Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 116p.
- Sugiura, S.H., Dong, F.M., Hardy, R.W. 1999. Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 170: 285-296.
- Sugiura, S.H., Gabaudan, J., Dong, F.M., Hardy, R.W. 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. *Aquaculture Research*, 32(7): 583-592.
- Tacon, A.G.J., Forster, I.P. 2003. Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture*, 226: 181-189.
- Tsuzuki, M. Y., Sugai, J.K., Maciel, J.C.; Francisco, C.J., Cerqueira, V.R. 2007. Survival, growth and digestive enzyme activity of juveniles of the fat snook (*Centropomus parallelus*) reared at different salinities. *Aquaculture*, 271: 319-325.

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*, 183: 349-363.

Vielma, J., Ruohonen, K., Peisker, M. 2002. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorous and protein utilization by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 204: 145-156.

Yang, S., Lin, T., Liu, F. 2006. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 253: 592-601.

Zhang, C., Mai, k., Ai, Q., Zhang, W., Duan, Q., Tan, B., Ma, H., Xu, W., Liufu, Z., Wang, X. 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 255: 201-209.

Zhou, J.R., Erdman, J.W. 1995. Phytic acid in health and disease. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.35, n.6, p.495-508.