



Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias-do-nilo

Cláudio Luis Bock¹, Luiz Edivaldo Pezzato², Osmar Ângelo Cantelmo³, Margarida Maria Barros⁴

¹ CEPTA/IBAMA, Pirassununga, SP.

² DMNA/FMVZ-UNESP, Botucatu, SP.

³ CEPTA/IBAMA, Pirassununga, SP.

⁴ DMNA/FMVZ-UNESP, Botucatu, SP.

RESUMO - Objetivou-se determinar a digestibilidade aparente de nutrientes de rações com diferentes níveis de fitase formuladas com alimentos de origem vegetal, em 90 juvenis de tilápia-do-nilo, pesando em média 120,0 g, alojados em nove tanques-rede (dez peixes/tanque). Adotou-se delineamento inteiramente casualizado, com nove tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiram de uma ração suplementada com fósforo (controle) e de oito sem suplementação de fósforo, porém com 500, 1.000, 1.500, 2.000, 2.500, 3.000, 3.500 e 4.000 unidades de fitase (UF)/kg de ração, todas isoenergéticas e isoprotéicas. A inclusão de 1.500 UF melhorou a digestibilidade da MS e da EB e a disponibilidade de cálcio e fósforo das rações. O nível de 1.000 UF melhorou a disponibilidade de zinco e manganês.

Palavras-chave: fósforo, minerais, *Oreochromis niloticus*, tilápia

Phytase and nutrient apparent digestibility of diets fed to Nile tilapia

ABSTRACT - The nutrient apparent digestibility of diet with increasing phytase levels based on vegetable ingredients fed to 90 Nile Tilapia juveniles averaging 120.0 g and allotted to nine tanks (ten fishes/tank) was determined. The experiment was analyzed as a complete randomized design with nine treatments and six replicates. The treatments consisted of: control (with phosphorus supplementation) and eight treatments without phosphorus supplementation (with 500, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500, 3,000, 3,500, and 4,000 units of phytase [UF]/kg of diet). All diets were formulated to be isoenergy and isoprotein. The 1,500 UF treatment increased DM and GE digestibility and dietary Ca and P availability. The 1,000 UF treatment increased Zn and Mn availability.

Key Words: mineral, *Oreochromis niloticus*, phosphorus, tilapia

Introdução

O crescimento e a intensificação da piscicultura nos últimos anos têm despertado o interesse sobre o impacto provocado ao ambiente. O fósforo e o nitrogênio são fundamentais na eutrofização de água doce. O fósforo, inclusive, tem sido considerado o principal nutriente que polui os ambientes aquaculturais. A criação de peixes enriquece o ambiente com os dejetos do metabolismo do alimento artificial, assim como dos fertilizantes orgânicos. Altos níveis de alimentação resultam em acúmulo de dejetos, o que altera o balanço do ecossistema, principalmente em razão da multiplicação do fitoplâncton, proporcional à quantidade de dejetos lançados.

Portanto, nutricionistas e fabricantes de rações para peixes têm se atentado à necessidade de dietas que satisfaçam, mas não excedam, às exigências de fósforo das espécies de interesse comercial. Têm-se estudado alterna-

tivas para redução da excreção de fósforo das rações e minimização do impacto ambiental para aumento da produtividade zootécnica.

Os ingredientes mais utilizados nas rações contêm considerável concentração de fósforo. Entretanto, este mineral está presente nos vegetais na forma de fitato, indisponível aos peixes e demais animais monogástricos, pela ausência da enzima fitase. Portanto, a suplementação de fósforo inorgânico é necessária para obtenção do crescimento adequado dos peixes, o que acentua a excreção de fósforo, conduzindo à eutrofização do meio. A inclusão de fitase em rações contendo altos níveis de ingredientes vegetais pode reduzir a necessidade da adição de fósforo inorgânico às dietas e, conseqüentemente, a descarga desse mineral nos efluentes da piscicultura.

Nesse sentido, Forster et al. (1999) desenvolveram pesquisa com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e concluíram que a inclusão de 4.500 UF melhorou a qualidade

nutritiva do concentrado protéico de canola e a disponibilidade de fósforo desse alimento, reduzindo sua liberação ao ambiente.

Vielma et al. (1998) realizaram, com a truta arco-íris, um estudo para avaliar a influência da inclusão dietética de fitase e de altos níveis de colecalciferol em rações formuladas com concentrado protéico de soja suplementadas com 0 e 1.500 UF/kg e 2.500, 250.000 e 2.500.000 unidades internacionais de colecalciferol/kg. A inclusão de fitase melhorou a disponibilidade de fósforo, aumentando a concentração desse mineral, que foi significativamente mais alta nos ossos, no plasma e nos tecidos corporais.

Rodehutsord & Pfeffer (1995) observaram, em trutas arco-íris, os efeitos da suplementação de fitase (1.000 UF/kg de dieta) na disponibilidade do fósforo do concentrado protéico da soja. Embora as dietas contivessem elevada porcentagem de proteína de origem vegetal, a concentração do fósforo total foi otimizada em 60,0%. Nesse mesmo sentido, Storebakken et al. (1998), em experimento com salmão do Atlântico (*Salmo salar*), avaliaram o concentrado protéico de soja como fonte de proteína dietética e concluíram que nenhum fitato foi encontrado nas dietas após o tratamento com fitase; que o concentrado protéico de soja foi equivalente à farinha de peixe como fonte de proteína dietética; que a inclusão de fitase resultou em melhora na digestibilidade da proteína, na conversão alimentar e na retenção de proteína e redução metabólica da excreção de nitrogênio; e que a disponibilidade de Ca, P, Mg e Zn foram maiores nas rações contendo fitase.

Gonçalves et al. (2004) desenvolveram pesquisa com juvenis (peso médio de 100,0 g) de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) para avaliar a ação da fitase em alimentos de origem vegetal. Segundo esse autor, a fitase agiu de forma diferenciada quando a suplementação de até 2.000 UF/kg não foi suficiente para melhorar a digestibilidade da MS, da proteína e da energia do milho extrusado, do farelo de trigo, do sorgo de baixo teor de tanino, da soja extrusada e do farelo de algodão. Entretanto, a inclusão de 1.000 UF/kg aumentou a digestibilidade da MS e da energia do milho, enquanto 2.000 UF/kg proporcionou essa resposta para os farelos de soja e de girassol. Segundo esses autores, a suplementação de até 2.000 UF/kg não aumentou a disponibilidade aparente de fósforo dos farelos de trigo e de algodão, mas a adição de 1.000 UF/kg promoveu aumento na disponibilidade do fósforo da soja extrusada e do farelo de girassol e a suplementação de 2.000 UF/kg proporcionou essa resposta para o farelo milho, o milho extrusado, o sorgo de baixo teor de tanino, o farelo de arroz, o farelo de soja e o glúten de milho.

Nesse contexto, realizou-se esta pesquisa com os objetivos de avaliar a disponibilidade de fósforo de rações formuladas com diferentes níveis de fitase para tilápia-do-nylo e verificar o efeito da inclusão de fitase na digestibilidade aparente dos nutrientes.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida na Universidade Estadual Paulista – UNESP, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, *Campus* de Botucatu.

As rações experimentais foram formuladas para ser isoenergéticas (3.200 kcal ED/kg de ração) e isoprotéicas (30,0% PB). Foram testados nove tratamentos, um controle (ração com suplementação de fósforo em forma de fosfato bicálcico) e oito sem suplementação de fósforo, mas com inclusão de diferentes níveis de fitase (500, 1.000, 1.500, 2.000, 2.500, 3.000, 3.500 e 4.000 UF/kg de ração) (*Natuphos*[®] 5000, BASF, Alemanha).

Como demonstrado nas Tabelas 1 e 2, as rações foram elaboradas com ingredientes energéticos e protéicos de origem vegetal. Para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), as rações foram acrescidas de 0,1% de óxido de cromo-III (Cr₂O₃), conforme metodologia proposta por Graner (1972). Os ingredientes foram moídos a granulometria de 0,45 mm de diâmetro, sendo homogeneizados manualmente e peletizados com auxílio de equipamento peletizador (*Ação científica*). Posteriormente, os péletes foram desidratados em estufa com ventilação forçada a 55,0°C por 24 horas, sendo, então, fracionados a um diâmetro de 3 x 5 mm. As dietas foram mantidas em refrigeração a 4,0°C.

Para obtenção das amostras e determinação dos coeficientes de digestibilidade e/ou disponibilidade aparente, foram utilizados nove aquários de alimentação confeccionados em fibra de vidro, de formato circular e capacidade de 250 L, e cinco aquários para coleta de fezes, de formato cônico e capacidade de 300 L, também confeccionados em fibra de vidro.

Foram utilizados 90 juvenis de tilápia-do-nylo, pesando em média 120,0 g, alojados em nove tanques-rede (formato circular, confeccionados com tela plástica rígida, com malha de 1,5 cm entre nós e dimensões de 64,0 cm de altura por 52,0 cm de diâmetro) mantidos dentro de aquários de 250 L, facilitando o manejo de alimentação e a coleta de fezes, conforme metodologia descrita por Pezzato et al. (2002).

Os peixes foram mantidos durante o dia nos aquários de alimentação, onde receberam quatro refeições até próximo

Tabela 1 - Composição percentual das rações experimentais
Table 1 - Ingredient composition of the experimental diets

Ingrediente Ingredient	(%)
Milho (fubá) (Corn)	15,42
Farelo de soja (Soybean meal)	66,30
Farelo de trigo (Wheat middling)	8,00
Óleo de soja (Soybean oil)	4,50
Fosfato bicálcico (Dicalcium phosphate)	4,00
Calcário (Limestone)	0,93
DL-metionina (DL-methionine)	0,10
Vitamina C ² (Vitamin C)	0,03
Sal (NaCl) (Salt)	0,20
Antioxidante (BHT) ¹ (Antioxidant)	0,02
Suplemento vitamínico e mineral ³	0,50
Vitamin and mineral mix	
Total	100,0

¹ Butil Hidroxi Tolueno (Butil-hidroxi-toluen).

² Vitamina C: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico com 42% de princípio ativo (vitamin C: calcic salt, 2-monophosphate of ascorbic acid with 42% active principle).

³ Suplemento mineral e vitamínico (premix vitamin and mineral) (Supremais): níveis de garantia por kg do produto (garanty levels per kg of product): vit. A = 1200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ác. fólico (folic acid) = 1.200 mg; pantotenato de Ca (pantothenic calcium) = 12.000 mg; vit. C = 48.000 mg; biotina (biotin) = 48 mg; colina (choline) = 65.000 mg; niacina (niacin) = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mn = 4.000 mg; Zn = 6.000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg; Se = 20 mg.

Tabela 2 - Características nutritivas das rações experimentais
Table 2 - Nutritional values of the experimental diets

Nutriente Nutrient	(%)
Energia digestível (Digestible energy) (kcal/kg)	3,199
Proteína digestível (Digestible protein) (%)	30,00
PB (CP) (%)	32,84
Ca (%)	0,77
P disponível (Available P) (%) ¹	0,76
FB (CF) (%)	6,61
EE (%)	6,34
Zn (%)	47,30
DL-metionina (DL-methionine) (%)	0,51
L-treonina (L-threonine) (%)	1,09

¹ Segundo Miranda et al. (2000).

¹ According to Miranda et al. (2000).

à saciedade, das 8 às 17h30. À noite, foram transferidos para os aquários para coleta de fezes, dotados de sistema de coleta por gravidade, onde permaneceram até a manhã do dia subsequente, quando foram realizadas as coletas. As fezes foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55,0°C por 48 horas e maceradas com o uso de gral e pistilo.

Depois dos períodos de alimentação e coleta de fezes, foi realizada limpeza nos aquários, preparando-os para nova coleta, que constituiu uma nova repetição. O período para coleta de fezes em cada tratamento foi de seis dias. A

vazão de água dos aquários foi regulada e mantida constante (2,0 L/min por aquário), permitindo adequado carreamento e deposição das fezes nos respectivos coletores. A iluminação ambiente foi obtida por meio de lâmpadas fluorescentes, com fotoperíodo de 12 horas (de 6 às 18h).

As análises para determinação da concentração de cromo-III nas fezes e nas rações, bem como as análises de MS e fósforo digestível, foram realizadas utilizando-se as metodologias segundo Graner (1972), AOAC(1984) e ALPHA (1980), respectivamente, no Laboratório de Nutrição do CEPTA/IBAMA, em Pirassununga-SP.

O conteúdo de PB das amostras foi determinado pelo método Micro-Kjeldahl (N x 6,25) e os de Zn, Mn, Mg e Ca por espectrofotômetro de absorção atômica, no Departamento de Química da FZEA – USP, Campus de Pirassununga - SP.

Foram registrados nos aquários de alimentação e de coleta de fezes os valores de temperatura (26,0±0,5°C), pH (7,0±0,5), oxigênio dissolvido (6,2±0,5 mg/L), dureza (5,9 mg/L), alcalinidade (13,0 mg/L) e NH₃ (147,0 mg/L), todos dentro dos parâmetros considerados adequados para a espécie (Boyd, 1982).

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram calculados com base no teor de óxido de cromo dos nutrientes nas rações e fezes, conforme a fórmula a seguir:

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

em que: CDA_(n) = coeficiente de digestibilidade aparente; Cr₂O_{3r} = % de óxido de cromo na ração; Cr₂O_{3f} = % de óxido de cromo nas fezes; N_r = nutriente na ração; N_f = nutriente nas fezes.

O estudo estatístico do efeito da quantidade de fitase sobre a digestibilidade dos nutrientes e minerais nas rações e nas fezes foi realizado por meio de análise de variância, em um delineamento inteiramente casualizado, aplicando-se o teste Tukey para comparação de médias, a 0,01% de significância, utilizando-se o software ESTAT - Sistema para Análises Estatísticas (versão 2.0).

Resultados e Discussão

Os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes das diferentes rações experimentais são apresentados na Tabela 3 e os coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais, na Tabela 4.

Os resultados da análise de variância dos coeficientes de digestibilidade aparente da MS e EB das rações dos

Tabela 3 - Valores médios e desvio-padrão do coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) das rações experimentais com diferentes níveis de fitase para tilápias-do-nylo

Table 3 - Average values and standard deviation of coefficient of nutrient apparent digestibility (%) of the experimental diets with different phytase levels fed to Nile tilapia

Tratamento <i>Treatment</i>	Digestibilidade <i>Digestibility</i>		
	MS <i>DM</i>	PB <i>CP</i>	EB <i>GE</i>
Com fosfato/Sem fitase <i>With phosphate/without phytase</i>	77,87b(±1,75)	90,13(±1,70)	79,86bc(±1,85)
500 UF/kg	78,82ab(±1,15)	92,79(±1,34)	81,10abc(±0,56)
1.000 UF/kg	77,54b(±0,94)	92,87(±2,28)	80,63bc(±1,25)
1.500 UF/kg	81,03a(±1,44)	95,15(±1,07)	84,31a(±0,95)
2.000 UF/kg	79,82ab(±1,04)	93,75(±1,81)	81,10abc(±0,86)
2.500 UF/kg	77,74b(±0,7)	92,95(±1,89)	80,47bc(±1,46)
3.000 UF/kg	73,84c(±1,92)	91,84(±3,59)	78,18c(±0,73)
3.500 UF/kg	79,65ab(±1,19)	94,53(±1,15)	81,66ab(±1,29)
4.000 UF/kg	78,88ab(±1,34)	92,87(±1,60)	80,25bc(±1,38)

UF = unidades de fitase (*Phytase units*).

Valores com letras diferentes nas colunas indicam diferenças estatísticas significativas (*Values with different letters in the columns indicate significant statistical differences, P<0.01*).

Tabela 4 - Valores médios e desvio-padrão da disponibilidade aparente de minerais das rações experimentais com diferentes níveis de fitase para tilápias-do-nylo

Table 4 - Average values and standard deviation of mineral apparent availability (%) of the experimental diets with different phytase levels fed to Nile tilapia

Tratamento <i>Treatment</i>	Disponibilidade <i>Availability</i>				
	P	Zn	Mn	Mg	Ca
Com fosfato/sem fitase <i>With phosphate/without phytase</i>	31,32d(±2,65)	41,09c(±3,06)	49,93e(±2,11)	89,50(±1,14)	84,25a(±1,88)
500 UF/kg	48,98c(±2,35)	56,31b(±9,73)	63,93d(±3,97)	88,80(±1,00)	56,61d(±3,38)
1.000 UF/kg	48,35c(±4,19)	89,39a(±2,16)	85,71a(±3,80)	91,15(±1,22)	59,90d(±2,68)
1.500 UF/kg	55,97ab(±3,69)	86,35a(±3,95)	83,92ab(±2,51)	90,35(±1,32)	61,76cd(±4,23)
2.000 UF/kg	51,89abc(±2,79)	89,82a(±2,90)	83,17ab(±4,97)	91,18(±2,78)	69,06bc(±5,45)
2.500 UF/kg	51,37abc(±3,72)	85,03a(±7,51)	78,18bc(±4,16)	89,35(±1,67)	57,42d(±5,65)
3.000 UF/kg	49,41c(±4,12)	67,40b(±4,79)	71,78c(±4,38)	88,20(±1,88)	67,92bc(±4,15)
3.500 UF/kg	56,44a(±3,97)	80,44a(±4,97)	81,89ab(±3,51)	90,93(±1,17)	62,46cd(±2,25)
4.000 UF/kg	49,76bc(±2,32)	81,53a(±9,42)	83,24ab(±4,32)	89,70(±1,53)	71,11b(±6,23)

UF = unidades de fitase (*Phytase units*).

Valores com letras diferentes nas colunas indicam diferenças estatísticas significativas (*Values with different letters in the columns indicate significant statistical differences, P<0.01*).

diferentes tratamentos (Tabela 3) indicaram diferenças ($P<0,01$) entre os tratamentos. Pelo teste de comparação de médias, verificou-se que a inclusão de fitase na ração, exceto no nível 3.000 UF/kg, resultou em coeficientes de digestibilidade da MS semelhantes ao obtido no tratamento controle, com suplementação de fósforo. Esse resultado comprovou que a fitase resultou em maior disponibilidade de fósforo para as atividades metabólicas dos peixes. Destaca-se ainda que o tratamento com 1.500 UF/kg proporcionou o melhor resultado para a digestibilidade aparente da MS, o que diverge dos resultados obtidos por Olívia-Teles et al. (1998), que, em estudo com seabass (*Dicentrarchus labrax*), observaram que a adição de 1.000 e 2.000 UF/kg não promoveu diferenças na digestibilidade

desse nutriente. O efeito observado neste estudo pode ser explicado pela maior digestibilidade da MS do farelo de soja (Gonçalves et al., 2004) quando adicionadas 2.000 UF/kg, observando-se que o farelo participou em 66,3% da ração utilizada nesta pesquisa. Entretanto, o tratamento com inclusão de 3.000 UF/kg foi diferente dos demais, com a menor média.

A inclusão dos diversos níveis de fitase assegurou coeficientes de digestibilidade da PB semelhantes ao observado no tratamento controle (Tabela 4). Entretanto, esses coeficientes de digestibilidade da PB não diferiram ($P>0,01$) entre os tratamentos, constatando-se apenas pequena tendência da enzima em melhorar os coeficientes de digestibilidade da proteína das rações.

O tratamento 1.500 UF/kg, a exemplo do ocorrido com a MS, apresentou o valor mais alto de digestibilidade da PB (95,15%). Essa tendência em melhorar a digestibilidade da proteína deve ser considerada por sua importância às respostas zootécnicas e pela menor excreção de nitrogênio para o meio ambiente.

Estes resultados confirmam os encontrados para a carpa comum (*Cyprinus carpio*) por Schäfer et al. (1995), utilizando dietas com farinha de peixe e farelo de soja. Esses autores não notaram diferenças nos CDA com a inclusão de 500 UF/kg. Oliva-Teles et al. (1998), ao utilizarem o farelo de soja em substituição à farinha de peixe (65,6% da proteína dietética) com suplementação de 1.000 e 2.000 UF/kg, também não verificaram diferenças significativas entre os tratamentos. Storebakken et al. (1998), avaliando dietas com substituição parcial da farinha de peixe por concentrado protéico de soja com a inclusão de 5.000 UF, também obtiveram coeficientes de digestibilidade semelhantes.

Submetendo os resultados dos coeficientes de digestibilidade da EB (Tabela 3) ao teste de comparação de médias, observou-se que, na ração com 1.500 UF/kg, houve significativa melhora na digestibilidade da EB e que, nos demais níveis de inclusão, não foram encontradas diferenças. Houve exceção, conforme observado para os coeficientes de digestibilidade da MS e da PB, no tratamento com 3.000 UF/kg.

Em trabalhos realizados anteriormente com peixes (Oliva-Teles et al., 1998; Schäfer et al., 1995; Forster et al., 1999), não foram relatadas diferenças para a digestibilidade aparente de energia com o seabass, a carpa comum e a truta arco-íris, respectivamente. Thompson & Yoon (1984), citados por Gonçalves et al. (2004), a partir de estudos realizados com frangos de corte, relataram que, no estado nativo, o fitato pode se complexar com o amido. Ravindran (1999), citado por Gonçalves et al. (2004), relatou que a digestão do amido pode ser negativamente influenciada pelo ácido fítico. Por outro lado, Selle et al. (1997), citados por Gonçalves et al. (2004), informaram que algumas rações à base de alimentos de origem vegetal foram avaliadas com sucesso utilizando-se a enzima fitase como suplemento para o aumento do coeficiente de digestibilidade da EB. Entre esses alimentos, destacaram-se os farelos de soja e de trigo, os quais compuseram a dieta utilizada nesta pesquisa.

Pela análise de variância dos resultados (Tabela 4), observaram-se diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os tratamentos para os coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais. A análise pelo teste de comparação de médias revelou que a adição de fitase nas rações elevou significativamente a disponibilidade de fósforo em todos

os níveis de inclusão, diferenciando-os do tratamento com suplementação de fósforo (controle).

Conforme pode ser observado na Tabela 4, a presença de fitase nas rações melhorou ($P < 0,05$) a disponibilidade do fósforo. Entre os níveis testados, o de 1.500 UF/kg pode ser considerado o mais adequado para essa prática.

Segundo Forster et al. (1999), a disponibilidade de fósforo dietético foi maior com a inclusão de 4.500 UF/kg. Schäfer et al. (1995) verificaram melhora de mais de 50,0% no coeficiente de absorção aparente do fósforo ao utilizarem 500 UF/kg, semelhante aos resultados obtidos nesta pesquisa. Hughes & Soares Jr. (1998) encontraram altas diferenças no coeficiente de disponibilidade aparente do fósforo nos tratamentos com 800, 1.300 e 2.400 UF/kg, comparados ao controle, sem inclusão de fitase, e também obtiveram melhores resultados com o maior nível de inclusão da fitase. Rodehutschord & Pfeffer (1995) também relataram que a disponibilidade de fósforo foi de 25,0% na dieta não suplementada, ao passo que a suplementação de fitase aumentou a disponibilidade de P para 57,0%.

A utilização de fitase promoveu melhora significativa na disponibilidade de Zn e Mn em relação ao tratamento sem suplementação. Os melhores coeficientes de disponibilidade foram obtidos com níveis iguais ou superiores a 1.000 UF/kg para ambos os minerais.

Como demonstrado na Tabela 4, a presença de fitase não resultou em aumento na disponibilidade do magnésio e não foi efetiva na disponibilização de cálcio. Por outro lado, apenas na ração controle (com suplementação de fósforo) utilizou-se esse nível de fitase, o que pode explicar os resultados obtidos nos demais tratamentos, nos quais a quantidade de cálcio pode ter sido inferior à exigência dessa espécie e ter influenciado as respostas obtidas.

Os resultados obtidos para cálcio demonstraram significativa redução na disponibilidade desse mineral quando comparados aos da dieta com suplementação de fósforo. Entretanto, quando comparados os níveis de inclusão de fitase, os tratamentos com 2.000, 3.000 e 4.000 UF/kg promoveram melhora ($P < 0,05$), observando-se maior disponibilidade de cálcio nos níveis mais elevados de fitase. A redução da disponibilidade de cálcio das rações com a inclusão de fitase, em comparação àquela suplementada com fosfato, pode, possivelmente, ser atribuída ao fato de que a suplementação foi realizada na forma de 4,0% de fosfato bicálcico.

Vielma et al. (1998), trabalhando com truta arco-íris e inclusão de 1.500 UF/kg, observaram que a disponibilidade de fósforo e cálcio melhorou significativamente com a suplementação de fitase à ração. Segundo os autores, a suplementação não influenciou a absorção aparente de

Mg, Mn e Zn e o aumento de fósforo dietético e dos níveis de cálcio pode reduzir a disponibilidade de zinco em peixes, como observado por Hardy & Shearer (1985) e Satoh et al. (1992).

Storebakken et al. (1998), em pesquisa com salmão do Atlântico, substituíram a farinha de peixe pelo concentrado de soja tratado com 5.000 UF/kg. Esses autores observaram que os coeficientes de digestibilidade aparente de Ca e Mg elevaram significativamente com a inclusão da fitase. Segundo os autores, os coeficientes de digestibilidade aparente desses minerais foram reduzidos pela ação do fitato da dieta contendo o concentrado protéico de soja. O coeficiente de disponibilidade aparente do magnésio na dieta composta pelo concentrado protéico de soja + 5.000 UF/kg foi semelhante ao obtido nesta pesquisa.

Segundo Hilton (1989) e Gatlin III & Phillips (1989), a concentração de zinco em peixes alimentados com dietas contendo soja é reduzida como resultado da diminuição do coeficiente de disponibilidade aparente do zinco causada pela combinação deste mineral (Zn) com o fitato. Essa afirmativa foi confirmada pelos resultados de disponibilidade obtidos nesta pesquisa (Tabela 4), na qual a utilização da fitase melhorou significativamente sua disponibilidade em relação ao tratamento sem suplementação, obtendo-se os melhores coeficientes com níveis a partir de 1.000 UF/kg.

Conclusões

Em rações para tilápias-do-nilo formuladas exclusivamente com ingredientes de origem vegetal, a inclusão de 1.500 UF/kg é suficiente para disponibilizar fósforo e cálcio e permitir adequado coeficiente de digestibilidade aparente da MS e da energia, sendo necessária a inclusão de 1.000 UF/kg para adequada disponibilidade de zinco e manganês.

Agradecimento

À indústria Supremais Produtos Bioquímicos Ltda., pelo apoio científico. Aos Departamentos de Química e de Bromatologia da FZEA - USP - Campus de Pirassununga, SP. Ao Laboratório de Bromatologia do CEPTA/IBAMA - Pirassununga, SP.

Literatura Citada

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - ALPHA. **Standard methods**: for the examination of water and wastewater. 15.ed. Washington, D.C.: ALPHA, 1980. 1134p.

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists**. 14.ed. Washington, D.C.: 1984. 1141p.
- BOYD, C.E. **Water quality management for pond fish culture**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing, 1982. 730p.
- FOSTER, I.; HIGGS, D.A.; DOSANJH, B.S. et al. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. **Aquaculture**, v.179, p.109-125, 1999.
- GATLIN-III, D.D.; PILLIPS, H.F. Dietary calcium, phytase and zinc interactions in channel catfish. **Aquaculture**, v.79, p.259-266, 1989.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum**, v.26, n.3, p.313-321, 2004.
- GRANER, C.A.F. **Determinação do crômio pelo método colorimétrico da s-difenilcabazida**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1972. 112p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual Paulista, 1972.
- HARDY, R.W.; SHEARER, K.D. Effect of dietary calcium phosphate an zinc supplementation on whole body zinc concentration of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.42, p.181-184, 1985.
- HILTON, J.W. The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. **Aquaculture**, v.79, p.223-224, 1989.
- HUGHES K.P.; SOARES JR., J.H. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, v.4, p.133-140, 1998.
- MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E. et al. Disponibilidade aparente de fósforo em ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.669-675, 2000.
- OLIVA-TELES, A.; PEREIRA, J.P.; GOUVEIA, A. et al. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass. **Aquatic Living Resources**, v.11, n.4, p.255-259, 1998.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- RODEHUTSCORD M.; PFEFFER, E. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Water Science & Technology**, v.31, n.10, p.143-147, 1995.
- SATOH, S.; IZUME, K.; TAKEUCHI, T. Effect of supplemental tricalcium phosphate on zinc and manganese availability to common carp. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v.58, n.3, p.539-545, 1992.
- SHÄFER, A.; KOPPE, W.M.; MEYER-BURGDORFF, H.G. et al. Effects of microbial phytase on utilization of native phosphorus carp in a diet based on soybean meal. **Water Science & Technology**, v.31, n.10, p.140-155, 1995.
- STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K.D.; ROEM, A.J. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon. **Aquaculture**, v.161, p.365-379, 1998.
- VIELMA J.; LALL, S.P.; KOSKELA, J. et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.163, p.309-323, 1998.