

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

FITASE NA DIETA DE GIRINOS DE RÃ-TOURO

BRUNA CRISTINA DE LIMA CANDIDO

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Marta Verardino De Stéfani
Coorientador: Prof.^o Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para graduação em Zootecnia.

Jaboticabal – SP
1º Semestre/2018

DEDICO

Inteiramente aos meus Pais Silço Adalto e Nílva, por terem me concedido a oportunidade de realizar o curso por mim escolhido, por me apoiarem durante todos esses anos de inúmeros desafios, sempre com muito carinho, amor e paciência. Amo muito vocês.

Ofereço

A duas pessoas que foram essenciais nessa jornada, minha vó Dona Olga e minha tia Sílvia, por todas as palavras de incentivo e pela confiança a mim concedida durante todos esses anos.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir realizar meus objetivos, cursar e concluir meu curso em uma das melhores instituições do país, agradeço a Ele por ter colocado pessoas que fizeram dessa jornada mais leve, pessoas de suma importância para minha formação acadêmica e pessoal.

Agradeço a minha família, em especial meus pais Silço Adalto Candido e Nilva do Carmo F. de L. Candido por me apoiarem durante toda a minha vida, por me permitirem estudar durante esses anos, por respeitarem sempre minhas opiniões e decisões, por me aconselharem nos momentos difíceis, por todo o carinho, amor e dedicação que tiveram comigo durante toda minha vida, com toda certeza eles são os meus maiores motivos por querer ir além, obrigada pelos ensinamentos de vida e caráter.

Não poderia deixar de agradecer a minha Vó, dona Olga e a minha Tia Silvia por terem me acolhido com todo carinho durante essa jornada, por me apoiarem e me incentivarem sempre, vocês duas foram essenciais para que eu concluísse essa etapa da minha vida. Agradeço também a minha irmã Débora e minha sobrinha Lívia que acompanharam essa fase, me apoiando com gestos e palavras de apoio que me fizeram seguir em frente.

Gostaria de agradecer a minha grande amiga, companheira de turma, de disciplinas, estágio, experimentos, de caronas e de inúmeras risadas Naira Roberta Marucci (Chalaza) por estar comigo durante todos esses anos, nos bons e nos maus momentos, sem ela com toda certeza teria sido tudo muito mais difícil, “você é a minha pessoa” e essa amizade eu faço questão de levar da faculdade para a vida. Muito obrigada por me ajudar durante toda a execução do experimento e durante a elaboração do trabalho.

A minha Orientadora Prof.^a. Dr^a Marta Verardino De Stéfani e ao meu coorientador Prof.^o Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano que me ajudaram a

desenvolver o presente trabalho e nos momentos de dificuldades estavam sempre dispostos a me ajudarem, sanando minhas dúvidas com muita paciência e dedicação.

A banca examinadora composta pelo Profº Drº Dalton José Carneiro e pela MSc Monique Virões Barbosa dos Santos, suas considerações foram de extrema importância para a finalização do presente trabalho.

Ao meu namorado Paulo Alexandre por toda ajuda durante toda a elaboração do trabalho, assim como pelo carinho e companhia, que foram de extrema importância para que eu pudesse concluir essa fase em minha vida.

Agradeço também ao Projeto de extensão universitária Cursinho Ativo, onde tive a oportunidade de trabalhar durante toda a minha graduação, pelas experiências vivenciadas, pelo crescimento pessoal e profissional que o projeto me proporcionou durante todos esses anos e pelas grandes amizades que com toda certeza quero levar comigo.

Aos meus amigos de turma Andressa (Truta), Thalys (Pardo), Maria Luiza (Piriri), Lorena (Megusta), Lorraine (Karkada), Carol (Furada), Paulo (Cookie-Kh), por todo o companheirismo, pelas noites estudando, pelos inúmeros trabalhos em grupo, pelos momentos de descontração, risadas, conversas, e por todo apoio nos momentos difíceis. Obrigada por serem a família que eu escolhi ao longo desses anos, desejo a todos vocês muito sucesso.

Agradeço a minha turma Zoo 012 e a todos os professores que passaram pelas nossas vidas, contribuindo com o nosso crescimento profissional e muitas vezes com o pessoal, vocês foram de suma importância para nossa formação.

Agradeço também ao Prof. Dalton e ao LANOA por ceder o espaço onde foi conduzida a fase experimental do trabalho. Não poderia deixar de agradecer ao Marcio (Perereca) e ao Valdecir (Val), funcionários do Caunesp que tanto me ajudaram durante

toda a execução do experimento, me mostrando que o conhecimento teórico não é nada na ausência da prática e da experiência, muito obrigada por toda a ajuda.

Agradeço a todos que passaram pela minha vida e de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	1
CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Figura 1- Estrutura do ácido fítico.....	3
Figura 2 - Esquema do ácido fítico quelatado com vários minerais bivalentes.....	4
Figura 3 - Reação de hidrólise do fitato pela fitase.	5
CAPÍTULO II.....	8
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 - INTRODUÇÃO.....	10
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.1 - Condições Experimentais e Animais Utilizados	11
2.2 - Dietas Experimentais.....	11
Tabela 1 - Fórmula e Composição Nutricional da Dieta Basal.	12
Tabela 2 - Dietas Experimentais.....	12
2.3 - Delineamento Experimental	13
2.4 - Parâmetros de Desempenho Produtivo.....	13
2.5 - Processamento das Amostras e Análises Laboratoriais.....	14
2.6 - Análise Estatística	15
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
Tabela 3 - Nutrientes analisados na água de cultivo de girinos de rãs-touro alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase.....	15
Tabela 4 – Desempenho dos girinos de rã-touro alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase.....	17
Tabela 5 – Deposição de nutrientes em girinos de rãs-touro alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase.	19

4 – CONCLUSÃO	20
5 - BIBLIOGRAFIA CITADA.....	21

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A aquicultura brasileira apresenta vantagens excepcionais para seu desenvolvimento produtivo, tal fato deve-se em especial a grande disponibilidade hídrica, clima favorável e terras disponíveis. Segundo a FAO (2016), a aquicultura brasileira deve crescer mais de 100% até o ano de 2025, esse cenário positivo é resultado de vários investimentos feitos nesse setor nos últimos anos.

A ranicultura é um ramo da aquicultura voltado para pequenos e médios produtores, uma atividade que vem ganhando espaço com o decorrer dos anos. O aumento no número de pesquisas realizadas vem contribuindo para tornar essa atividade uma alternativa viável e rentável para os produtores, promovendo seu desenvolvimento de forma sustentável. O Brasil é apontado como o país que detém as melhores tecnologias de produção da rã-touro, ou seja, todo o ciclo de produção é feito em condições controladas. No entanto, o setor esbarra em algumas limitações, como os avanços lentos em nutrição, reprodução e genética, a desorganização do setor e pouco investimento e ações por parte do poder público (OLIVEIRA, 2015).

A produção de rãs possui mercados distintos, atendendo tanto ao mercado interno quanto ao externo, o principal produto é a carne *in natura*, representada em sua maioria pelo comércio de coxas de rã (CARRARO, 2008). Mais de 90% da carne de rã comercializada internacionalmente é oriunda da caça extrativista, entretanto existe uma enorme pressão de grupos ambientalistas que reivindicam a extinção de tal prática. Dados publicados pela FAO (2009) sobre a produção mundial de rãs, mostravam o Brasil como segundo maior produtor, ficando atrás apenas de Taiwan.

Sua carne tem boa aceitação no mercado e é considerada bastante saudável, possui elevada porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linoleico e o ácido araquidônico e todos os ácidos graxos essenciais, elevado teor proteico, baixo teor de sódio e gorduras e um bom índice de digestibilidade quando comparada aos demais tipos de carne (NOLL e LINDAU, 1987).

No Brasil a ranicultura é baseada exclusivamente na criação de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), espécie exótica originária da América do Norte que foi introduzida no país em 1935 para criação em cativeiro. Quando comparada às espécies nativas brasileiras como a rã-pimenta (*Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824) e a rã-manteiga (*Leptodactylus latrans* Linnaeus, 1758), apresenta maior desempenho produtivo em criações comerciais (FIGUEIREDO, 2005). A espécie apresenta características zootécnicas extremamente favoráveis para criação em alta escala, tais como, precocidade, prolificidade e rusticidade, o que facilita muito o manejo (Ferreira, 2004 apud CARRARO, 2008).

Assim como todas as espécies de anfíbios as rãs são animais ectotérmicos ou seja, a temperatura da água e do ambiente influenciam diretamente o metabolismo do animal (NASCIMENTO et al., 2013). A temperatura da água entre 22°C e 28°C é considerada ideal para o ótimo desenvolvimento dos girinos (SEIXAS FILHO et al., 2017), fase de grande importância, pois dela resultará imagos que atendam os índices zootécnicos satisfatórios na fase de recria (SEIXAS FILHO et al., 1998).

A viabilização técnica da produção, assim como a lucratividade dependem de fatores como a adequação das instalações, o manejo realizado e a alimentação fornecida para os animais (FEIX et.al., 2006). Portanto, o fornecimento de uma dieta adequada aos girinos é um dos fatores principais para ter êxito na produção. Atualmente, são utilizadas rações comerciais de peixes carnívoros, podendo ocasionar desenvolvimento anormal ou mortalidade, possíveis sinais de deficiências nutricionais (ALBINATI et al., 2000).

Os ingredientes utilizados na fabricação de rações comerciais possuem elevado teor de fósforo, mineral de extrema importância para o animal, estando inteiramente envolvido com diversas funções bioquímicas e fisiológicas das células. Sua principal função no organismo é a formação da estrutura óssea, e participação em processos metabólicos essenciais como fonte de energia – ATP; ele também é um dos principais componentes dos ácidos nucleicos DNA e RNA, dos fosfolipídios que compõem as membranas plasmáticas e das fosfoproteínas envolvidas na fosforilação oxidativa das mitocôndrias. O fósforo é fundamental para o metabolismo intermediário de proteínas, carboidratos e lipídeos, podendo ainda atuar como sistema tampão, visando à manutenção do equilíbrio acidobásico dos fluídos (VIEIRA, 2010).

A importância desse mineral na nutrição animal está relacionada tanto com a deficiência como com o excesso. Sua suplementação em dietas para os animais de interesse zootécnico é extremamente importante para o ótimo desempenho dos animais. Entretanto, devido ao seu custo elevado, torna-se essencial a busca por alternativas viáveis que aumentem a biodisponibilidade desse mineral nas fontes de origem vegetal (VIEIRA, 2010).

O fitato é a principal forma de armazenamento do fósforo (P) em ingredientes de origem vegetal comumente presentes nas rações para animais monogástricos, é também considerado como um dos principais fatores antinutricionais (JUNIOR et al., 2015). Considera-se que apenas 30% do fósforo dos vegetais esteja disponível para os monogástricos. Esse fato ocorre porque o intestino delgado desses animais possui uma capacidade muito limitada de hidrolisar o fitato (IQBAL et al., 1994), devido à ausência da fitase endógena (FERREIRA e LOPES, 2012).

A indisponibilidade do fósforo deve-se a quantidade de fósforo que está ligada à molécula de ácido fítico (Figura 1). O fitato além de não disponibilizar o fósforo, pode quelatar cátions bivalentes como o cálcio (Ca), ferro (Fe), magnésio (Mg), sódio (Na), cobre (Cu), interferindo na absorção de aminoácidos (CAMPESTRINI et al., 2005) (Figura 2). Além de quelatar esses minerais no trato gastrointestinal, o ácido fítico também inibe a ação de enzimas proteolíticas, como a pepsina e tripsina (ROCHA et al., 2008).

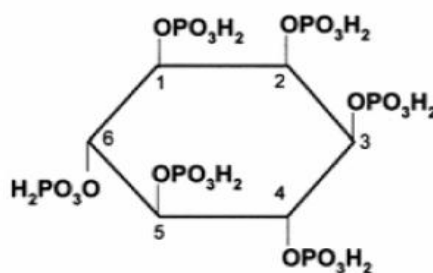


Figura 1- Estrutura do ácido fítico. Fonte: PAULA et al. (2009)

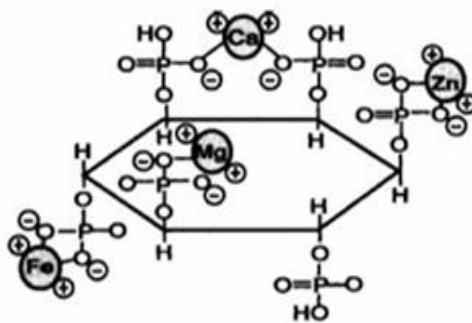


Figura 2 - Esquema do ácido fítico quelatado com vários minerais bivalentes. Fonte: COUSINS (1999).

O milho e o farelo de soja, ingredientes base das dietas de monogástricos, apresentam respectivamente somente 33% e 46% de fósforo biodisponível (NRC, 1994). Como o fitato presente nos ingredientes de origem vegetal está na forma indisponível, a solução comumente encontrada para suprir as necessidades desse mineral é a suplementação com uma fonte inorgânica de fósforo, geralmente, o mais utilizado é o fosfato bicálcico. Entretanto, para garantir uma margem de segurança as dietas são formuladas com excesso de fósforo. A presença do fitato e o excesso de fósforo suplementado são as principais fontes responsáveis pelos altos níveis desse mineral excretados para o meio ambiente (VIEIRA, 2010).

Vale ressaltar que a suplementação com fontes inorgânicas de minerais eleva o custo das dietas, por isso a utilização de enzimas exógenas tem sido uma alternativa para melhorar a eficiência da utilização do fósforo presente nos alimentos de origem vegetal, assim como para eliminar a suplementação inorgânica, diminuindo o custo da formulação.

A suplementação enzimática, em geral, tem como principais objetivos destruir e remover fatores antinutricionais dos grãos utilizados nas formulações das dietas, aumentar a digestibilidade das rações, potencializar a ação de enzimas endógenas ou suprir a ausência de enzimas exógenas e contribuir com a diminuição da contaminação ambiental causada pelo excesso de nutrientes excretados pelo metabolismo animal (CAMPESTRINI et al., 2005). A utilização de enzimas exógenas, como a fítase, permite empregar ingredientes com valor nutricional menos adequado para determinada

espécie animal, melhorando o desempenho dos animais e reduzindo a excreção de fósforo (FURUYA et al., 2001).

Uma alternativa viável encontrada para limitar as propriedades antinutricionais do fitato é a utilização da fitase, uma enzima exógena que possui a capacidade de disponibilizar o fósforo, assim como outros nutrientes que estão complexados nas moléculas de ácido fítico, contribuindo assim para a redução da suplementação das dietas com fósforo inorgânico (fosfato bicálcico) (CAMPESTRINI et al., 2005).

Estudos com fitases produzidas por fungos iniciaram em 1962, mas somente a partir de 1991 é que a fitase de *Aspergillus niger* foi comercialmente produzida (SELLE e RAVINDRAN, 2008). Atualmente, a fitase industrial é obtida através da recombinação gênica dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficum* (PAULA et al., 2009), apresentando uma atividade de 5000 unidades de fitase ativa (UFA/g). A UF pode ser definida como a quantidade de enzima que libera 1μmol de ortofosfato por minuto de uma solução a 0,0051 mol/l de fitato de sódio a uma temperatura de 37°C e pH 5,5 (CAMPESTRINI et al., 2005).

Sua ação consiste no mecanismo de transferência do grupo fosfato do substrato para a enzima e da enzima para a água. O fitato ao ser hidrolisado produz cinco classes de produtos intermediários (mio-inositol penta, tetra, tri, bi e monofosfato) e libera o fosfato inorgânico juntamente com o nutriente preso a sua estrutura para possível absorção (CAMPESTRINI et al., 2005) (Figura 3).

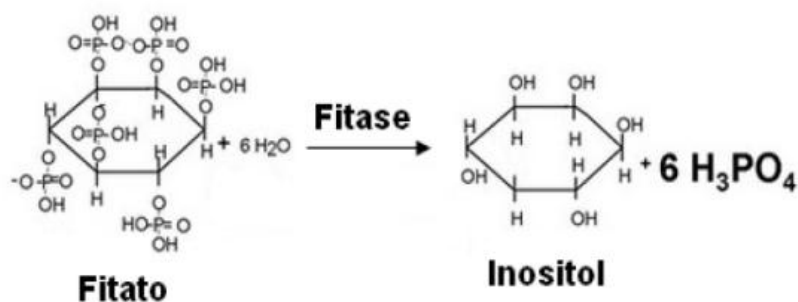


Figura 3 - Reação de hidrolise do fitato pela fitase. Fonte: (ENVIROPIG, 2011 – modificado por ALVES, 2014).

O fósforo e o nitrogênio são dois nutrientes que limitam o crescimento dos organismos autotróficos como o fitoplâncton e algas, quando esses nutrientes alcançam rios, lagos e reservatórios aceleram o processo de eutrofização e com isso a poluição da água. Com a morte e a deterioração das algas a quantidade de oxigênio na água diminui, dificultando ou impedindo a vida nesse ambiente. Uma alternativa bastante viável para amenizar esse problema é o uso de estratégias nutricionais, dentre elas a utilização de enzimas exógenas (CAMPESTRINI et al., 2005). Portanto, estudos utilizando essas enzimas na nutrição animal têm sido amplamente realizados no intuito de averiguar sua viabilidade e o melhor nível de inclusão em dietas para diferentes espécies de animais monogástricos.

Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com 8,88 g de peso inicial, suplementadas com fitase (700 UF/kg de ração) apresentaram aumento no desempenho, na retenção de minerais no tecido ósseo, assim como na disponibilidade de cálcio e fósforo (FURUYA et al., 2001). Em outro experimento com tilápias do Nilo, pesando de 175 a 350g, a suplementação de 1.100 UF/kg de ração resultou na melhora do desempenho dos animais e diminuiu a excreção de fósforo e nitrogênio para o ambiente aquático (FURUYA et al., 2006). Silva et al. (2007) observaram que a suplementação de fitase (500 UF/kg) melhorou o desempenho de juvenis de tilápia do Nilo com 45,84g de peso inicial, melhorando o crescimento, a eficiência alimentar e a retenção de fósforo nos ossos dos animais.

Para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com 16,42g de peso inicial, alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de fitase (0, 500, 1000 e 2000 UF/kg) não se observou efeito sobre as variáveis de sobrevivência, umidade, proteína bruta e gordura na carcaça. Entretanto, foi observado um aumento linear do ganho de peso, cinzas na carcaça e nos ossos com o aumento dos níveis de fitase, concluindo que o ótimo nível de suplementação em dietas para juvenis de pacu é de 433 UF/kg (FURUYA et al., 2008).

Em frangos de corte, a suplementação de 750 UF/kg de ração proporcionou os melhores resultados de mineralização e resistência óssea, possibilitando o máximo desempenho dos animais (FUKAYAMA et al., 2008).

Verificando o efeito da suplementação da enzima fitase (0, 300, 600 e 900 UF/kg da dieta), adicionada em dietas para suínos em fase de crescimento com dois

níveis de proteína bruta (18% e 16%), foi observado que os animais que consumiram as dietas suplementadas com fitase tiveram maior peso ao abate, entretanto não houve efeito da enzima sobre as características de carcaça. Também houve melhora no aproveitamento do nitrogênio e na composição óssea nos animais que ingeriram as dietas contendo 16% de PB e suplementadas com níveis entre 297 e 560 UF/kg. Entretanto tal efeito não foi observado nos suínos que se alimentaram de dietas com 18% de PB mais a suplementação de fitase (LUDKE et al., 2002).

CAPÍTULO II

FITASE NA DIETA DE GIRINOS DE RÃ-TOURO

RESUMO

Aumentar a biodisponibilidade do fósforo dos ingredientes de origem vegetal, melhorar o desempenho zootécnico animal, gerar menos efluentes com alta carga orgânica e diminuir o custo com a alimentação representam os principais desafios enfrentados por vários setores da agropecuária, inclusive a ranicultura. Dessa forma este estudo teve por objetivo avaliar a suplementação da enzima fitase para girinos de rã-touro, verificando seu efeito no desempenho destes animais até o início do clímax metamórfico. Foram utilizados 2040 girinos de rã-touro no estágio 25, distribuídos em 24 aquários experimentais de 150 litros cada. As dietas experimentais utilizadas eram isoenergéticas (3600 kcal/kg de ED) e isoproteicas (27% de PD). Foram testados seis tratamentos, um controle positivo, ou seja, a dieta com suplementação de fósforo em forma de fosfato bicálcico e cinco sem suplementação de fósforo, mas com inclusão de diferentes níveis de fitase (0, 500, 1.000, 1.500 e 2.000 UF/kg) num delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Pode-se verificar que a inclusão de fitase melhorou o ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e eficiência de retenção de proteína, não ocorrendo diferença entre os níveis de fitase. A pior conversão alimentar foi observada nos girinos alimentados com a dieta controle. Para o consumo da dieta, de proteína e fósforo, bem como a sobrevivência não foi observado diferença entre os tratamentos. A deposição corporal de água e proteína aumentou e a concentração de nitrogênio e fósforo da água dos aquários diminuiu com a inclusão da fitase. Conclui-se que a enzima fitase melhorou o desempenho dos girinos de rã-touro, já com o primeiro nível de inclusão, não sendo necessário níveis mais altos. Portanto, recomenda-se o uso de 500 UF/ kg de ração para girinos de rã-touro.

Palavras-chave: Fósforo, desempenho, deposição de nutrientes, ranicultura, *Lithobates catesbeianus*.

ABSTRACT

Increase the phosphorus bioavailability of plant ingredients, improve animal performance, generate less effluent with high organic load and reduce the cost of feed represent the main challenges faced of every sectors in agriculture, including frog farming. Thus, this study aimed to evaluate the phytase enzyme supplementation for bullfrog tadpoles, verifying their effect on the growth performance of these animals until the beginning of the metamorphic climax. A total of 2,040 bullfrog tadpoles in stage 25 were distributed in 24 experimental aquariums of 150 liters each. The experimental diets used were isoenergetic (3,600 kcal/kg digestible energy) and isoproteic (27% digestible protein). Six treatments were used, a positive control with phosphorus supplementation in the form of dicalcium phosphate and five other treatments without phosphorus supplementation with different levels of phytase (0; 500; 1,000; 1,500 and 2,000 UF / kg) in a completely randomized design with six treatments and four replicates. It can be verified that inclusion of phytase improved the weight gain, specific growth rate, protein efficiency ratio and protein efficiency retention, with no difference between phytase levels. The worst feed conversion was observed in tadpoles fed with the control diet. No difference was observed between treatments for diet, protein and phosphorus consumption, as well as survival rate. Water and protein body deposition increased and the concentration of nitrogen and phosphorus in aquarium water decreased with the inclusion of phytase. Can be concluded that the phytase enzyme improved the performance of bullfrog tadpoles from the first level of inclusion, not requiring higher levels. Therefore, it is recommended to use 500 UF/kg animal feed of for bullfrog tadpoles.

Key words: Phosphorus, performance, nutrient deposition, frog farming, *Lithobates catesbeianus*.

1 - INTRODUÇÃO

A fase mais importante da criação de rãs é a produção de girinos comumente chamada pelos produtores de “girinagem”, o sucesso nessa etapa garantirá ao produtor imagos com qualidade e em quantidade necessária para sustentar a fase de engorda. Nesta fase, principalmente nas primeiras semanas, a taxa de mortalidade máxima esperada é de 30%, podendo estar associada a diversos fatores como deficiência alimentar, dificuldades de manejo, má qualidade da água e a sanidade dos animais (CRIBB et al., 2013).

Girinos de rã-touro são onívoros (OLIVEIRA-BAHIA, 2007), e se alimentam tanto de proteína de origem vegetal como animal, sendo que a alimentação de origem vegetal retarda o processo de metamorfose, promovendo assim um maior crescimento (VEIGA, 1989).

Os alimentos de origem vegetal podem conter até 81% dos fosfatos presente na forma de fósforo fítico (fitato), inviabilizando sua utilização pelos monogástricos devido à ausência da enzima fitase no organismo desses animais (RICHE e BROWN, 1996). Sendo assim, torna-se necessário a suplementação das dietas com fontes inorgânicas de fósforo, elevando o custo das dietas e agravando os problemas de contaminação ambiental dos corpos d'água, uma vez que animais alimentados com quantidade de fósforo acima do requerido eliminam o excesso através dos dejetos como fezes e urina, além dos restos alimentares, causando eutrofização nos corpos receptores como lagos, lagoas e reservatórios (PAULA et al., 2009).

A ausência de informações sobre as necessidades nutricionais das rãs levou os produtores a utilizarem rações comerciais de peixes carnívoros (STÉFANI, 2001). 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 (BOCK et al., 2006), tornando-se uma alternativa para aumentar a sustentabilidade da produção.

Contudo, não há trabalhos que tenham testado a utilização da enzima fitase na alimentação de girinos de rã-touro, tornando-se importante a busca por informações nutricionais relativas a esta espécie animal, pois somente a partir de dietas economicamente viáveis e capazes de atender suas exigências nutricionais será possível

aumentar a eficiência alimentar, obtendo melhores respostas de desempenho zootécnico na produção da rã-touro.

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a suplementação com diferentes níveis da enzima fitase em dietas para girinos de rã-touro, verificando seu efeito no desempenho destes animais até o início do clímax metamórfico.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no período de janeiro a março de 2014, totalizando 57 dias, na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), Jaboticabal, de acordo com as normas exigidas pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal da FCAV/Unesp.

2.1 - Condições Experimentais e Animais Utilizados

Foram utilizados 2040 girinos de rã touro (*Lithobates catesbeianus*) no estágio 25 da tabela de Gosner (1960), oriundos de uma mesma desova, distribuídos em 24 aquários experimentais com capacidade de 150 litros cada. Os aquários foram mantidos sob aeração e abastecimento contínuos por água proveniente de mina, com taxa de renovação de aproximadamente uma vez ao dia.

Durante o ensaio foram monitorados quinzenalmente o pH e o oxigênio dissolvido da água, utilizando-se peagômetro da marca Corning pH-30 e oxímetro YSI 55, respectivamente e diariamente a temperatura. A concentração de amônia, nitrato e nitrito médio e fósforo total foram determinados pelo método colorimétrico, com leitura no espectrofotômetro, de acordo com método de Golterman et al. (1978). A cada dois dias eram realizadas a sifonagem dos aquários para a retirada dos resíduos de alimento e fezes, a fim de evitar o entupimento do tanque e a queda na oxigenação da água.

2.2 - Dietas Experimentais

A dieta experimental utilizada durante o ensaio era isoenergética (3600 kcal/kg de energia digestível) e isoproteica (27% de proteína digestível) (Tabela1). Foram testados seis tratamentos, um controle positivo, ou seja, a dieta basal com

suplementação de fósforo em forma de fosfato bicálcico e cinco sem suplementação de fósforo, mas com inclusão de diferentes níveis de fitase (0, 500, 1.000, 1.500 e 2.000 UF/kg) (Natuphos®5000, BASF, Brasil) (Tabela 2).

Tabela 1 - Fórmula e Composição Nutricional da Dieta Basal.

Ingredientes	% Inclusão	PD (%)	EE (%)	FB (%)	ED (kcal/kg)	Ca (%)	P (%)
Farelo de Soja	50,4	22,64	1,45	3,02	2011,72	0,017	0,156
Milho	26,6	2,62	0,96	2,28	893,97	0,005	0,006
Farelo de trigo	9,75	1,73	0,39	1,27	284,73	0,001	0,03
Amido	0,9	-	-	-	30,93	-	-
Óleo de Soja	5,94	-	5,94	-	379,46	-	-
Suplemento							
Vitamínico e Mineral	0,5	-	-	-	-	-	-
Bht	0,02	-	-	-	-	-	-
Calcário	1,74	-	-	-	-	0,959	-
Fosfato Bicálcico	4,15	-	-	-	-	1,015	0,812
TOTAL	100,00	27,00	8,74	6,57	3600,81	2,00	1,00

(PD = Proteína Digestível, EE = Extrato Etéreo, FB = Fibra Bruta, ED = Energia Digestível, Ca = Cálcio, P = fósforo e Bht = Hidroxitolueno butilado).

Tabela 2 - Dietas Experimentais.

UF/kg de Ração	Dieta Basal (g)	Caulim* (g)	Fitase (g)
0	4792,5	207,5	0
500	4792,5	205,0	2,5
1000	4792,5	202,5	5,0
1500	4792,5	200,0	7,5
2000	4792,5	197,5	10,0
Controle	5000,0	-	-

(UF- Unidade de Fitase). * Minério composto de silicatos hidratados de alumínio.

As dietas foram elaboradas com ingredientes energéticos e proteicos de origem vegetal, com o objetivo de torná-las deficientes em fósforo. Os ingredientes foram moídos (granulometria de 0,45 mm) e após, homogeneizados manualmente. A fitase utilizada apresentava-se em forma de pó, sendo primeiramente misturada ao caulim e depois incorporada manualmente à dieta. As dietas foram mantidas em refrigeração a 4°C durante todo o período experimental.

Os girinos foram alimentados à vontade três vezes ao dia (7:00hrs, 12:00hrs e às 17:00hrs). O arraçãoamento foi realizado evitando-se sobras, de modo que a quantidade oferecida foi considerada a consumida pelos animais (SOLOMON e TARUWA, 2011).

2.3 - Delineamento Experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos (controle positivo, 0, 500, 1000, 1500 e 2000 UF/kg) e quatro repetições.

2.4 - Parâmetros de Desempenho Produtivo

Para avaliar o desempenho produtivo foram realizadas uma biometria inicial de 20 girinos e, outras quinzenalmente, de 10% dos animais de cada parcela, sendo pesados individualmente em balança eletrônica (0,01g). No final do período experimental todos os animais foram pesados individualmente.

O ensaio foi interrompido quando os animais atingiram o início do clímax metamórfico (estágio 42 de Gosner, 1960), uma vez que nesta fase os girinos param de se alimentar.

Foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho produtivo: ganho em peso (GP), consumo da dieta (CD), conversão alimentar (CA), sobrevivência (S), taxa de eficiência proteica (TEP) e taxa de crescimento específico (TCE), de acordo com as seguintes equações:

ganho em peso () $\frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{tempo}}$

conversão alimentar () $\frac{\text{consumo de alimento}}{\text{ganho em peso total}}$

$$\text{taxa de crescimento específico ()} = \frac{\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}}{\text{tempo (dias)}}$$

$$\text{taxa de eficiência proteica ()} = \frac{\text{ganho em peso vivo}}{\text{proteína ração consumida}}$$

consumo de proteína ração

onde: CDA = consumo de alimento

TPB = Teor de proteína bruta

$$\text{consumo de fósforo ()} = (\text{consumo de alimento} \times \text{teor de fósforo})$$

$$\text{eficiência de retenção de } () = \frac{(\text{PBf} - \text{PBi})}{\text{CPB}} \times 100$$

onde: PBf e PBi = nível de proteína bruta corporal final e inicial

Pf e Pi = peso médio final e inicial

CPB = consumo de proteína bruta

A avaliação da composição corporal inicial dos girinos (matéria seca, proteína, gordura, cinzas) foi realizada com uma amostra de 150 girinos do mesmo grupo de animais. Ao final do experimento, 10 girinos de cada parcela experimental foram submetidos a jejum de seis horas para a eliminação do conteúdo do trato gastrointestinal. Posteriormente, foram insensibilizados por imersão em gelo, sacrificados e armazenados em freezer (-20°C) para análises posteriores.

2.5 - Processamento das Amostras e Análises Laboratoriais

As amostras foram moídas em processador de alimentos, acondicionadas em placas de Petri e posteriormente liofilizadas a -50°C para obtenção da matéria pré-seca. Após as amostras foram moídas em moinho de bola e encaminhadas ao laboratório para análise de proteína bruta pelo Método de Dumas (ETHERIDGE et al., 1998). A matéria

seca foi determinada em estufa com circulação de ar forçado a 105°C por 12 horas, as cinzas em mufla a 550°C e a gordura pelo método Soxhlet (AOAC, 2016).

2.6 - Análise Estatística

Os parâmetros de desempenho produtivo (GP, CD, CA, TCE, TEP, CPB, CF, ERPB e S) e os parâmetros de qualidade de água (fósforo total, amônia, nitrito e nitrato), foram analisados pelo programa SAS (2014), por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando a ferramenta PROC ANOVA. Quando observado significância estatística, foi aplicado o teste de Duncan ($p < 0,05$), para comparação entre as médias.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os nutrientes analisados na água de cultivo dos aquários experimentais apresentaram diminuição significativa ($p < 0,05$) de suas concentrações com a inclusão da fitase em suas dietas (Tabela 3).

Tabela 3 - Nutrientes analisados na água de cultivo de girinos de rãs-touro alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase.

Tratamentos (UF/kg de ração)	Fósforo total (µg/L)	Amônia (µg/L)	Nitrito (µg/L)	Nitrato (µg/L)
Controle positivo	63,9 ± 37,4	5 9,8 ± 39,3	,35 ± , 7	5,8 ± 7,45 ^c
0	7 ,82 ± 29,8 ^c	624, ± 59,5 ^c	,43 ± ,32	5,5 ± 8,49 ^c
500	25,22 ± 25,5 ^a	423,2 ± 8 ,8 ^a	, 4 ± , 3 ^a	82,3 ± 2, ^a
1000	26,62 ± 8,3 ^a	487,5 ± 28,8 ^a	, 7 ± , 8 ^a	93,7 ± ,8
1500	28,34 ± 3 ,2 ^a	494, ± 58,5 ^a	, ± , 9 ^a	94, ± 3,35
2000	33,52 ± 26, ^a	5 ,3 ± 5 ,3 ^a	, 2 ± , ^a	99, ± ,2 ^c
Valor de p	, 5	, 6	, 42	,

*Letras minúsculas diferenciam médias na mesma coluna pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Observa-se que a inclusão de 500 UF/kg de ração demonstrou sua ação na diminuição da excreção do fósforo e nitrogênio na água, comparando-se com o controle positivo e zero de fitase (Tabela 3). A adição dessa enzima permite a utilização de ingredientes de origem vegetal nas dietas, diminuindo seu custo e a excreção de fósforo

e nitrogênio no meio ambiente (FURUYA et al., 2001, 2006) e, conseqüentemente a eutrofização dos corpos d'água. M. S. INI et al., 2015. Brandão et al. (2015) também encontraram diminuição do teor de fósforo da água dos aquários de tambaquis suplementados com fitase (0 a 2000 UF/kg de ração).

As dietas controle e sem adição de fitase apresentaram maior quantidade de nitrito, demonstrando início de poluição orgânica do meio aquático, que pode ocasionar menor desempenho nos animais, demonstrando que a adoção de novas tecnologias é de extrema importância na aquicultura atual.

Os valores médios dos parâmetros de qualidade de água observados durante o período experimental, pH (8,2) e oxigênio dissolvido (5,8 mg/l) foram adequados para o desenvolvimento dos girinos (CRIBB et al, 2013). Entretanto, as temperaturas mínima e máxima da água (30,1 e 31,7°C, respectivamente) foram superiores à recomendada por Seixas Filho et al. (2017) de 22 a 28°C. Esse fato pode ter acelerado o processo de metamorfose dos girinos, que são ectotérmicos, encurtando o período experimental e conseqüentemente, interferindo no peso final dos girinos.

A tabela 4 mostra que, com o primeiro nível de inclusão de fitase (500 UF/kg) já se obteve melhora ($p < 0,01$) no ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e eficiência de retenção de proteína bruta dos girinos, não ocorrendo diferença significativa entre os diferentes níveis de inclusão da fitase. Silva et al. (2007) também observaram melhor desempenho em juvenis de tilápias do Nilo com peso médio igual a 45,84g, suplementadas com 500 UF/kg de ração e Furuya et al. (2001) com 700 UF/kg de ração. Para juvenis de pacu com peso médio de 16,42g, utilizando quatro níveis de suplementação (0; 500; 1000 e 2000 UF/Kg de ração) o melhor ganho de peso foi obtido com a adição de 433 UF/kg de ração (FURUYA et al., 2008), valores próximos ao do presente estudo.

Para o consumo da dieta, consumo de proteína bruta, consumo de fósforo e sobrevivência não se observou diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Os valores de sobrevivência dos girinos que receberam fitase foram superiores a 94%, valores próximos ao obtido por Pinto et al. (2015) de 96,8% em girinos de rã-touro alimentados com dieta contendo 27% de proteína digestível, quando determinou a exigência de proteína digestível.

Tabela 4 – Desempenho dos girinos de rã-touro alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase.

Tratamentos	GP (g)	CD (g)	CA	TCE (%/dia)	TEP	CPB (g)	CF (mg)	ERP (%)	S (%)
Controle	4,53±0,09 ^c	4,70±0,06	1,03±0,03 ^b	1,59±0,03 ^c	3,20±0,16 ^b	1,52±0,01	47,54±0,36	145,8±4,1 ^c	94,71±4,3
Positivo									
0 UF/kg	5,02±0,10 ^b	4,59±0,04	0,91±0,01 ^a	1,70±0,05 ^b	3,47±0,13 ^{ab}	1,51±0,01	47,32±0,26	162,9±7,4 ^b	95,59±2,6
500 UF/kg	5,48±0,19 ^a	4,61±0,07	0,84±0,04 ^a	1,77±0,08 ^a	3,70±0,24 ^a	1,51±0,01	47,25±0,04	182,3±9,7 ^a	96,18±3,8
1000 UF/kg	5,46±0,14 ^a	4,61±0,05	0,84±0,02 ^a	1,75±0,06 ^a	3,61±0,14 ^a	1,52±0,01	47,48±0,42	175,0±11,1 ^{ab}	96,76±2,4
1500 UF/kg	5,52±0,02 ^a	4,64±0,04	0,83±0,03 ^a	1,77±0,01 ^a	3,67±0,02 ^a	1,53±0,01	47,66±0,09	175,7±2,7 ^{ab}	95,88±1,5
2000 UF/kg	5,54±0,16 ^a	4,58±0,09	0,82±0,03 ^a	1,78±0,05 ^a	3,71±0,15 ^a	1,52±0,01	47,50±0,17	180,2±8,6 ^a	94,12±5,6
Valor de p	0,0002	0,8548	0,0003	0,0036	0,0169	0,4187	0,633	0,0004	0,9143

GP = ganho de peso, CD = consumo da dieta, CA = conversão alimentar, TCE = taxa de crescimento específico, TEP = taxa de eficiência proteica, CPB = consumo de proteína bruta, CF = consumo de fósforo, ERP = eficiência retenção de proteína, S = sobrevivência. *Letras minúsculas diferenciam médias na mesma coluna pelo teste de Duncan (p<0,05).

A conversão alimentar dos girinos que receberam a dieta controle positivo apresentou o pior índice (1,03), diferindo ($p < 0,01$) dos demais tratamentos (Tabela 4). Nos girinos que receberam a fitase os índices de conversão variaram entre 0,82 a 0,84 (Tabela 4), resultados que evidenciam melhora de produtividade, quando comparados aos valores obtidos por Seixas Filho et al. (2012) de 1,35 e por Pinto et al. (2015) de 1,5 para girinos de rã-touro alimentados com dietas contendo 27% de proteína digestível, mesmo teor do presente estudo. Esse resultado pode apresentar uma diminuição no custo de produção, onde a alimentação representa 57% do custo total (LIMA e AGOSTINHO, 1992).

Em peixes, de uma forma geral, melhores resultados de desempenho foram observados quando a fitase foi incluída em dietas sem produtos de origem animal (SILVA et al., 2007). De acordo com Sajjadi e Carter (2004), quando se utiliza produtos de origem animal, os níveis de fósforo encontram-se próximos às exigências dos animais, resultando, portanto, em pequeno benefício quando se utiliza fitase. No presente estudo, somente foi utilizado alimentos de origem vegetal nas dietas dos girinos, fato que pode ter contribuído para os bons resultados obtidos no desempenho dos animais. Outro fator que pode ter contribuído é a temperatura da água dos aquários, pois de acordo com Sugiura et al. (2001) a temperatura ideal para a hidrólise da fitase é superior aos 30°C.

Houve aumento ($p < 0,01$) da deposição de água e proteína nos girinos com inclusão de fitase, não ocorrendo diferença significativa entre os níveis de inclusão (Tabela 5). Os valores de deposição de água corporal estão intimamente ligados à taxa de deposição de proteína corporal de girinos (MANSANO, 2012), que se acumula principalmente na sua cauda, sendo necessária durante o clímax da metamorfose, quando o animal para de se alimentar e ocorre a apoptose da cauda e relocação da proteína (MANSANO et al., 2013). Furuya et al. (2008) não observaram efeito da fitase (0 a 2000 UF/kg de ração) na composição corporal (água, proteína e gordura) de pacu.

Tabela 5 – Composição corporal de girinos de rãs-touro alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase.

Tratamentos	Água (g)	Proteína (g)	Cinzas (g)	Gordura (g)
Controle	2,67±0,05 ^c	0,88±0,03 ^b	0,13±0,006 ^b	0,48±0,03 ^b
Positivo				
0 UF/kg	3,05±0,07 ^b	0,93±0,02 ^b	0,15±0,003 ^a	0,51±0,01 ^b
500 UF/kg	3,35±0,10 ^a	1,05±0,03 ^a	0,16±0,007 ^a	0,52±0,01 ^b
1000 UF/kg	3,28±0,04 ^a	1,04±0,05 ^a	0,17±0,010 ^a	0,59±0,04 ^a
1500 UF/kg	3,35±0,04 ^a	1,05±0,02 ^a	0,18±0,008 ^a	0,52±0,01 ^b
2000 UF/kg	3,25±0,12 ^a	1,09±0,03 ^a	0,17±0,003 ^a	0,58±0,01 ^a
Valor de p	0,000054	0,004125	0,001033	0,039705

*Letras minúsculas diferenciam médias na mesma coluna pelo teste de Duncan (p<0,05).

A deposição de proteína foi maior do que a de gordura, fato também observado por Mansano et al. (2013) na carcaça de girinos de rã-touro, o que pode ser atribuído à exigência maior deste nutriente pelos girinos. Observou-se maior deposição de gordura nos girinos que receberam as dietas com 1000 e 2000 UF/kg (0,59 e 0,58g, respectivamente). Entre os demais tratamentos não houve diferença significativa (Tabela 5). O tecido adiposo nos girinos pode ocorrer na forma de depósitos individualizados e também nos corpos adiposos, ou distribuídos de forma menos difusa nos músculos, fígado, pele, rins, pulmões, ossos e tecido conjuntivo (WRIGHT et al., 2011).

A menor deposição de cinzas (0,13g) ocorreu nos girinos que receberam a dieta controle contendo fosfato bicálcico; entre os níveis crescentes de fitase, não foi observado diferença significativa (Tabela 5). Rocha et al. (2008) também não encontraram diferenças nas porcentagens de cinza dos ossos de juvenis de jundiá com níveis crescentes de fitase (de 0 a 1500 UF/kg de ração), evidenciando que os níveis de fósforo e cálcio na ração referência, sem a suplementação de enzima, atenderam as exigências de manutenção do jundiá. Entretanto, Furuya et al. (2008) observaram aumento linear das cinzas na carcaça de juvenis de pacu com os níveis crescentes de fitase, concluindo que o ideal foi 433 UF/kg de ração.

4 – CONCLUSÃO

A inclusão da fitase em dietas para girinos de rã-touro melhorou o desempenho dos animais, aumentou a deposição de nutrientes essenciais para o período de metamorfose como proteína, água e gordura, e também melhorou a qualidade de água dos aquários. Portanto, recomenda-se o uso de 500 UF/ kg de ração para girinos de rã-touro.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBINATI, R.C.B.; LIMA, S.L.; TAFURI, M.L.; DONZELE, J.L. Digestibilidade aparente de dois alimentos proteicos e três energéticos para girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.2151-2156, 2000.
- ALVES, N.M. **Produção de fitase por fungo endofítico**. 2014. 60f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais - MG. 2014.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 20 ed., Gaithersburg: AOAC, 2016.
- BOCK, C.L.; PEZZATO, L.E.; CANTELMO, O.A.; BARROS, M.M. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2197-2202, 2006.
- BRANDÃO, L.V.; TENÓRIO, G.L.O.; BRANDÃO, V.M.D.; COSTA, L.C.O.; PEREIRA JUNIOR, G.P.; ROUBACH, R. Influência da adição de fitase em dietas para tambaqui. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.41, n.4, p.1025-1032, 2015.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.259-272, 2005.
- CARRARO, K.C. Ranicultura: um bom negócio que contribui para a saúde. **Revista FAE**, v.11, n.1, p.113-118, 2008.
- COUSINS, B. **Enzimas na nutrição de aves**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL ACAV- Embrapa sobre Nutrição de Aves e Suínos, 1., 1999, Concórdia. **Anais...** Concórdia, 1999. 15 p.
- CRIBB, A.Y.; AFONSO, A.M.; FERREIRA, C.M. **Manual Técnico de Ranicultura**, Brasília - DF: Embrapa, 2013. 73p.
- ETHERIDGE, R.D.; PESTI, G.M.; FOSTER, E.H. A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. **Animal Feed Science and Technology**, v.73, n.1, p.21-28, 1998.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture. 2009.

- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture. 2016.
- FEIX, R.D.; ABDALLAH, P.L.; FIGUEIREDO, M.R.C. Resultado econômico da criação de rã em regiões de clima temperado, Brasil. **Informações Econômicas**, v.36, n.3. p.70-80, 2006.
- FERREIRA, A.H.C.; LOPES, J.B. Uso da fitase na alimentação de frangos de corte - revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.9, n.4, p.1854-1860, 2012.
- FIGUEIREDO, R.B. A ranicultura no Brasil é renda certa para o produtor. Revista Eletrônica Nordeste Rural, 12 de abr.2005. Disponível em: <http://nordeste rural.com.br/nordeste rural/matler.asp?newsld=2291>. Acesso em: 10 dez. 2017.
- FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO, L.R.B.; NEME, R.; FERNANDES, J.B.K.; MARCATO, S.M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.629-635, 2008.
- FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; DA SILVA, L.C.R.; DOS SANTOS, V.G.; SILVA, T.S.C.; DOS SANTOS, L.D.; FURUYA, V.R.B. Fitase em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (175 a 327 g). **Archivos de Zootecnia**, v.55, n.210, p.161-170, 2006.
- FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.924-929, 2001.
- 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. Fitase em rações para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, n.4, p.489-496, 2008.
- GOLTERMANN, H.L., CLYMO, R.S., OHNSTAD, M.A.M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwaters**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, London, IBP Handbook, v.8, 1978. 214p.
- GOSNER, K.L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v.16, p.183-190, 1960.

- IQBAL, T.H.; LEWIS, K.O.; COOPER, B.T. Phytase activity in the human and rat small intestine. **Gut**, v.35, p.133-1236, 1994.
- JUNIOR, V.R.; RIBEIRO, C.L.N.; MESSIAS, R.K.G.; ROCHA, T. C. Importância da enzima fitase na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.12, n.4, p.4127 - 4139, 2015.
- LIMA, S.L.; AGOSTINHO, C.A. **A tecnologia de criação de rãs**. UFV, Viçosa. 1992.168p.
- LUDKE, M.C.M.M.; LOPEZ, J.; LUDKE, J.V. Fitase em dietas para suínos em crescimento: (ii) parâmetros de carcaça e ossos. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.103-108, 2002.
- MANSANO, C.F.M. **Características do crescimento morfométrico e composição corporal de girinos de rã-touro em cativeiro**. 2012. 74f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal, 2012.
- MANSANO, C.F.M.; STÉFANI, M.V.; PEREIRA, M.M.; MACENTE, B.I. Deposição de nutrientes na carcaça de girinos de rã-touro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.8, p.885-891, 2013.
- NASCIMENTO, R.; MELLO, S.C.R.P.; SEIXAS FILHO, J.T. **Manual prático para criação de rãs com reuso da água: girinagem e metamorfose**. Rio de Janeiro: SUAM, 2013, 82p.
- NOLL, I.B.; LINDAU, C.P. Aspectos da composição em nutrientes da carne de rã touro-gigante (*Rana catesbiana*). **Caderno de Farmácia**, v.3, n.1/2, p.29-36, 1987.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement of poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1994. 156 p.
- OLIVEIRA, E.G. **Ranicultura: novos desafios e perspectivas do mercado**. In: CONGRESSO ESTUDANTIL DE MEDICINA VETERINÁRIA DA UECE, 3., 2015, Fortaleza. **Ciência Animal (UECE)**, v.25, p.173-186, 2015.
- OLIVEIRA-BAHIA, V.R.L. **Morfologia e enzimologia do sistema digestório dos girinos da rã-touro (*Rana catesbeiana*) durante o desenvolvimento e metamorfose**. 2007. 130f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.
- PAULA, E.F.E.; CHEN, R.F.F.; MAIA, F.P. Enzimas exógenas na nutrição de animais monogástricos. **PUBVET**, n.14, 2009.

- PINTO, D.F.H.; MANSANO, C.F.M.; STÉFANI, M.V.; PEREIRA, M.M. Optimal digestible protein level for bullfrog tadpoles. **Aquaculture**, v.440, p.12-16, 2015.
- RICHE, M.; BROWN, P.B. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.142, p.269-282. 199~
-]6.
- ROCHA, C.B.; POUEY, J.L.O.F.; LOPES, P.R.S.; ENKE, D.B.S.; XAVIER, E.G. Suplementação da enzima fitase e o desempenho e retenção mineral em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, n.1, p.151-157, 2008.
- SAJJADI, M.; CARTER, C.G. Dietary phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. **Aquaculture**, v.240, p.417-431, 2004.
- SEIXAS FILHO, J.T.; MELO, S.C.R.P.; SILVA, J.M.F.; THOMAS, J.E.; MELO, C.M.S. Efeito de níveis de energia e proteína bruta no desempenho de girinos (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.664-669, 1998.
- SEIXAS FILHO, J.T.; NAVARRO, R.D.; PEREIRA, M.M.; MELLO, S.C.R.P.; LANNA, E.A.T.; LIMA, J.L.P. Desempenho zootécnico de girinos de rã-touro com diferentes níveis de proteína e energia digestíveis. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.14, p.1112-1120, 2012.
- SEIXAS FILHO, J.T.; PEREIRA, M.M.; MELLO, S.C.R.P. **Manual de Ranicultura para o Produtor**. Rio de Janeiro, Ed. H.P. Comunicação, 2017. 155p.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, v.133, p.9, 2008.
- SILVA, T. S. C.; FURUYA, W. M.; SANTOS, L. D.; FUJII, K. M.; MICHELATO, M.; IWAMOTO, B. S. Fitase líquida em dieta extrusada para juvenis de tilápia- do - Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.29, n.4, p.449-455, 2007.
- SOLOMON, R.J.; TARUWA, S.M. The growth comparison of two catfishes (*C. gariepinus* e *heteroclarias*). **Nature and Science**, v.9, p.138-148, 2011.
- STÉFANI, M.V. **Alimentação e Nutrição**. In: FERREIRA, C.M. I CICLO DE PALESTRA SOBRE RANICULTURA DO INSTITUTO DE PESCA. **Boletim Técnico do Instituto de Pesca**, v.31, p.18-20, 2001.

- SUGIURA, S.H.; GABAUDAN, J.; DONG, F.M.; HARDY, R.W. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. **Aquaculture Research**, v.32, p.583-591, 2001.
- VEIGA, N. **Importância da alimentação e nutrição em ranicultura**. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2., 1989, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 1989. p.45-69.
- VIERA, M.S. **Bioquímica do fósforo**. In: SEMINÁRIO DA DISCIPLINA BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, 2010, Porto Alegre, 9 p.
- WRIGHT, M.L.; RICHARDSON, S.E.; BIGOS, J.M. The fat body of bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) tadpoles during metamorphosis: changes in mass, histology and melatonin content and effect of food deprivation. **Comparative Biochemistry and Physiology, part A**, v.160, p.498-503, 2011.