

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

JOÃO ANTÔNIO GALIOTTO MIRANDA

UMA VISÃO SISTEMÁTICA SOBRE FITASE EM DIETAS PARA TILÁPIAS

PONTA GROSSA

2024

JOÃO ANTÔNIO GALIOTTO MIRANDA

UMA VISÃO SISTEMÁTICA SOBRE FITASE EM DIETAS PARA TILÁPIAS

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Zootecnia (Produção animal).

Orientadora: Prof^a Dr^a. Dr. Valéria Rosseto Barriviera

Coorientadora: Prof^a Dr^a Cheila Roberta Lehn

PONTA GROSSA

2024

M672 Miranda, João Antônio Galiotto
 Uma visão sistemática sobre fitase em dietas para tilápias / João Antônio
 Galiotto Miranda. Ponta Grossa, 2024.
 131 f.

 Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção
 Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

 Orientadora: Profa. Dra. Valéria Rosseto Barriviera.
 Coorientadora: Profa. Dra. Cheila Roberta Lehnem.

 1. Peixes. 2. Fitato. 3. Fósforo. 4. Metanálise. 5. Fator antinutricional. I.
 Barriviera, Valéria Rosseto. II. Lehnem, Cheila Roberta. III. Universidade Estadual
 de Ponta Grossa. Produção Animal. IV.T.

CDD: 636



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR -
<https://uepg.br>

TERMO

TERMO DE APROVAÇÃO

João Antônio Galiotto Miranda

“UMA VISÃO SISTEMÁTICA SOBRE FITASE EM DIETAS PARA TILÁPIAS”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 27 de maio de 2024.

Documento assinado digitalmente



VALERIA ROSSETTO BARRIVIERA
Data: 04/06/2024 08:18:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Valéria Rossetto Barriviera - (UEPG) Presidente

Documento assinado digitalmente



KATIA KALKO SCHWARZ
Data: 05/06/2024 14:12:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Kátia Kalko Schwarz - (UNESPAR) Membro Externo

Profa. Dra. Mariana Michelato Kawakami - (Hubbs SeaWorld Research Institute) Membro Externo

Dedico ao meu pai que esteve comigo durante toda a minha trajetória sempre apoiando e demonstrando todo seu amor e carinho. Tenho muito orgulho de ter você como meu pai. Infelizmente esse ano nossos caminhos se separaram e você não poderá estar presente nessa conquista. Isso é por você. Para você. **Te amarei eternamente**, sou muito grato por tudo, meus pensamentos sempre estarão com você.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Lindamar de Fátima Galiotto Miranda e Robson Orlando Miranda †, por todo apoio e amor incondicional que tornaram tudo isso possível, eu não conseguiria sem a dedicação e carinho de vocês. Obrigado por tornarem tudo isso possível, a minha conquista também é a de vocês. Amo muito vocês.

Agradeço a minha noiva, Layla de Fátima Gonçalves, por sempre estar ao meu lado aconselhando, prestando apoio e nunca desistir de mim. Seu amor me deu forças para continuar nos momentos mais difíceis, quando achei que não seria mais possível, meu mais sincero obrigado. Te amo.

Agradeço aos meus irmãos, Pedro Augusto Galiotto Miranda e Abel Vinícius Galiotto Miranda e meu sobrinho, Eduardo Vinícius Galiotto Miranda, por tornarem esse trajeto mais leve e sempre estarem ao meu lado, apoiando e ajudando de todas as formas possíveis. Amo vocês.

Agradeço a minha orientadora, Valéria Rosseto Barriviera, por aceitar esse desafio e sempre estar me apoiando e auxiliando durante a realização desse estudo. Agradeço também a minha coorientadora Cheila Roberta Lehnen pela paciência e dedicação em me auxiliar durante essa etapa.

Agradeço ao corpo docente e funcionários do Departamento de Zootecnia que contribuíram para minha formação e ensinamento.

Agradeço a todos que de alguma forma me auxiliaram durante essa etapa de minha formação.

“Nothing makes any sense

But I still try my hardest

**(...) I need some courage to
find my weakness”**

(Dee Dee Ramone)

RESUMO

Ingredientes de origem vegetal utilizados em rações para peixes possuem fatores antinutricionais em sua composição, como o fitato. Esse fator é responsável por reduzir a digestibilidade do fósforo, energia e outros nutrientes, como proteína, amido e minerais. A fitase surge como uma ferramenta para catalisar a hidrólise do fitato e melhorar a biodisponibilidade desses nutrientes indisponíveis. Devido à grande variedade de fitases e níveis de inclusão presentes comercialmente bem como diversos resultados encontrados na literatura, a técnica da meta-análise pode ser aplicada como uma forma de integrar os resultados publicados ao longo dos anos. O objetivo desse trabalho foi avaliar, por meio da meta-análise associada com a análise sistemática, os efeitos da adição da fitase sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes e energia, além de aspectos e impactos ambientais em dietas para tilápias. Os critérios estabelecidos para a seleção de artigos foram experimentos com a utilização de fitase em dietas para tilápias e os efeitos no desempenho, digestibilidade de nutrientes, e respostas ambientais. Assim, foram compilados 40 artigos entre os anos de 2000 a 2023, totalizando 269 tratamentos. A análise de dados foi explorada a partir de gráficos de dispersão, variação individual, variância e *forest plot*. A análise de variância indicou que a fitase melhorou a conversão alimentar (CA) ($P = 0,014$) e coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo (CDA P) ($P = 0,00$) de alevinos, e ganho de peso (GP) ($P = 0,015$), CA ($P = 0,045$) e CDA P ($P = 0,029$) de juvenis de tilápia. Os gráficos de dispersão e variação individual corroboram com o achado. A fitase foi responsável por reproduzir resultados semelhantes em dietas com restrição de P quando comparadas a dietas com inclusão de P inorgânico. Em relação aos níveis de inclusão, níveis de 1500 a 2000 FTU/kg são eficientes para trazer resultados positivos de desempenho e digestibilidade. A inclusão de fitase é eficaz em melhorar GP, CA e reduzir o consumo de ração total de alevinos e juvenis de tilápias, bem como melhorar o CDA P de dietas com ingredientes de origem vegetal. Em dietas com restrição de P, a fitase melhorou parâmetros de desempenho e digestibilidade, substituindo a inclusão de P na forma inorgânica, reduzindo o custo de produção e os impactos ambientais causados pela liberação desse mineral para o meio externo.

Palavras chave: Peixes; fitato; fósforo; meta-análise; fator antinutricional.

ABSTRACT

Ingredients of vegetable source used in fish' feed contain antinutritional factors in your composition, such as the phytato. This factor is responsible for reducing the digestibility of the phosphorus, energy and other nutrients, such as the protein, the starch and minerals. The phytase came as a tool to catalyse the phytato's hydrolysis and improve the bioavailability of these unavailable nutrients. Because of the variety of phytases and inclusion levels existing commercially, as well of the diversity of results to be found in the literature, the meta-analysis can be used as a way to reunite the results published among the years. This paper aims to evaluate, using meta-analysis combined with systematic analysis, the effects of the addition of phytase over the performance, the digestibility of the nutrients and the energy, furthermore, the environmental aspects and impacts in tilapias' diets. The criteria established for the selection of the articles were experiments with the use of phytase in tilapias' diets and the effects in performance, nutrients digestibility and environmental response. Hereby, there were 40 articles complied, between the years of 2000 to 2023, totalizing 269 treatments. The data analysis was explored by scatter plots, individual variation, variance and forest plot. The variance analysis indicated that the phytase improved the feed conversion ratio (FCR) ($P = 0,014$) and the apparent digestibility coefficient of phosphorus (ADC P) ($P = 0,00$) of fingerlings and weight gain (WG) ($P = 0,015$), FCR ($P = 0,045$) and ADC P ($P = 0,029$) of tilapias' juveniles. The scatter plots and individual variation plots corroborate with the results. The phytase was responsible for reproducing the same results in diets with P restriction when compared with diets with inclusion of inorganic P. As the inclusion levels, levels between 1500 a 2000 FTU/kg are enough to create positive results in performance and digestibility. The inclusion of phytase is efficient in improving WG, FCR and reducing the levels of total feed consumption of tilapias' fingerlings and juveniles, as well as improving the ADC P of diets with ingredients from vegetable source. In diets with P restriction, the phytase will improve digestibility and performance parameters, replacing the addition of P in inorganic form, reducing the production cost and the environmental impacts caused by the liberation of this mineral to the external environment.

Keywords: Fish; phyato; phosphorus; meta-analysis; antinutritional factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do ácido fítico	19
Figura 2 - Fitato complexando mineral (A), proteína (B) e amido (C).....	21
Figura 3 - Desfosforilação completa do fitato a partir da fitase, e liberação de mio-inositol e fósforo inorgânico.	23
Figura 4 - Diferentes fontes de fitase	26
Figura 5 - Estrutura tridimensional de uma fitase isolada a partir de <i>Triticum aestivum</i>	27
Figura 6 - Efeito do pH na atividade da fitase bacteriana.....	28
Figura 7 - Estrutura tridimensional de uma fitase isolada de <i>Escherinchia coli</i>	29
Figura 8 - Estrutura tridimensional de uma fitase isolada de <i>Aspergillus niger</i>	30
Figura 9 - Atividades de fitases derivadas de <i>Aspergillus oryzae</i> e <i>A. niger</i> , em função das alterações de pH (A), e atividade da fitase de <i>A. niger</i> em função da temperatura (B).....	31
Figura 10 - Reação da hidrólise do fitato por uma 3-fitase, resultando em uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,4,5,6-pentaquisfosfato e uma de fosfato	32
Figura 11 - Reação da hidrólise do fitato por uma 5-fitase, resultando em uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,3,4,6-pentaquisfosfato e uma de fosfato	33
Figura 12 - Reação da hidrólise do fitato por uma 6-fitase, resultando em uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,3,4,5-pentaquisfosfato e uma de fosfato	33
Figura 13 - Estruturas gerais das enzimas HFA. As vistas frontal e posterior das estruturas HFA de (a) <i>A. niger</i> e (b) <i>E. coli</i> . Os domínios α , domínios α/β e região N-terminal são coloridos em rosa, ciano e azul, respectivamente. Os sítios RHGXRXR e HD são indicados e coloridos em vermelho	35
Figura 14 - a) Diagrama de fita; b) topologia de dobramento das fitases β -hélice. Cada lâmina é mostrada em uma cor diferente. Ca1, Ca2 e Ca3 (mostrados em cinza) são os três íons de cálcio que são responsáveis principalmente pela alta estabilidade térmica do FBH e ocupam os sítios de cálcio de alta afinidade.....	36
Figura 15 - Representação da estrutura complexa de PTP de <i>Selenomonas ruminantium</i> . Os domínios grande e pequeno da enzima são coloridos em cinza e ciano respectivamente. As alças que acomodam os resíduos catalíticos são indicadas e coloridas em roxo.....	37
Figura 16 - Fluxograma produção da enzima fitase	39
Figura 17 - Processos <i>upstream</i> para produção de enzimas.....	41
Figura 18 - Esquema de uma fermentação em estado sólido utilizando resíduos florestais para formação de enzimas	42

Figura 19 - Esquema da fermentação submersa utilizando resíduos florestais para formação de enzimas.....	44
Figura 20 - Comparação da liberação de fosfato com hidrólise enzimática (●) e sem inclusão de fitase (○).....	47
Figura 21 - Comparativo da excreção e retenção de P e N pelas tilápias do Nilo alimentadas com dietas a base de ingredientes vegetais, sem (A) e com (B) inclusão de 1500 FTU/kg de fitase.....	51
Figura 22 - Formas de ação das carboidrases.....	59
Figura 23 - Fluxograma PRISMA descrevendo o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fitase em dietas de tilápias.....	82
Figura 24 - Número de estudos da base de dados divididos pelos anos de publicação (A); continentes onde o estudo foi realizado (B); idioma em que o artigo foi publicado (C) e o delineamento experimental utilizado(D).	84
Figura 25 - Tipos de experimentos realizados nos artigos selecionados (A). Variáveis exploradas nos artigos da base de dados (B). Proporção de dietas (%) em que os peixes foram submetidos a desafio nutricional de fósforo (C), e número de dietas em que houve a adição de fósforo inorgânico (D).	85
Figura 26 - Forma de processamento das dietas encontradas nos artigos selecionados (A) e processamento das dietas de artigos a partir de 2013 (B). Número de dietas com inclusão de fitase (C); dietas com inclusão de fitase de forma individual e de combinada com outras fontes enzimáticas (D).....	92
Figura 27 - Tipos de combinações enzimáticas com fitase (A); tipos de fitase incluídas (B) e a inclusão da fitase líquida nas últimas décadas (C); fontes de produção da fitase (D)	93
Figura 28 - Estruturas das fitases incluídas (A) e níveis de inclusão da fitase, dividido em inclusão baixa (> 0 e < 1000 FTU/kg), média (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alta (≥ 2000 FTU/kg) (B). Espécies de tilápias utilizadas nos estudos da base de dados (C) e fase de desenvolvimento dos peixes utilizados, dividido em alevino (≤ 10 g), juvenil (>10 e < 100 g) e adulto (≥ 100 g) (D).....	94
Figura 29 - Relação do consumo de ração total (CRT) versus ganho de peso (GP) em tratamentos sem inclusão de fitase, com fitase de forma individual e com fitase combinada com outras enzimas. Cada forma no gráfico representa um tratamento. Cada símbolo no gráfico representa um tratamento	102
Figura 30 - Variação do ganho de peso (Δ GP) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9	103
Figura 31 - Variação da conversão alimentar (Δ CA) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico	

representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9..... 104

Figura 32 - Dispersão da variação entre consumo de ração total (ΔCRT) e variação do ganho de peso (ΔGP) entre tratamentos com inclusão de fitase de forma individual e combinada com outras enzimas e seu respectivo controle. Cada símbolo representa um tratamento comparado com seu respectivo controle 105

Figura 33 - Variação ganho de peso (ΔGP) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9..... 106

Figura 34 - Variação da conversão alimentar (ΔCA) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9 107

Figura 35 - Dispersão da variação entre consumo de ração total (ΔCRT) e variação do ganho de peso (ΔGP) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (F - CN) e com fósforo atendendo as exigências (F - CP). Cada símbolo no gráfico representa um tratamento teste comparado com seu respectivo controle..... 108

Figura 36 - Variação do consumo de ração total (ΔCRT), variação do ganho de peso (ΔGP) e variação do coeficiente de digestibilidade aparente do P entre seu controle e tratamentos com inclusão de fitase de forma isolada ou combinada, considerando seu nível de inclusão dividido entre baixo (> 0 e < 1000 FTU/kg), médio (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alto (≥ 2000 FTU/kg). 109

Figura 37 - Variação do consumo de ração total (ΔCRT), variação do ganho de peso (ΔGP) e variação do coeficiente de digestibilidade aparente do P entre seu controle e tratamentos com inclusão de fitase em dietas com restrição de fósforo (C-FN) e dietas com inclusão de fósforo inorgânico (C-FP), considerando seu nível de inclusão dividido entre baixo (> 0 e < 1000 FTU/kg), médio (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alto (≥ 2000 FTU/kg)..... 110

Figura 38 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo ($\Delta CDA P$) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9..... 111

Figura 39 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo ($\Delta CDA P$) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (controle negativo – F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (controle positivo – F-CP). Cada símbolo no gráfico

representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9..... 112

Figura 40 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (Δ CDA PB) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9..... 113

Figura 41 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (Δ CDA PB) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (controle negativo – F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (controle positivo – F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9 114

Figura 42 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase no ganho de peso de tilápias. Artigos acompanhados de números após o ano de publicação apresentam controle positivo (1), com fósforo atendendo as exigências, e controle negativo (2), com restrição de fósforo na dieta..... 116

Figura 43 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase combinada com outras enzimas no ganho de peso de tilápias 117

Figura 44 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase no coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo em tilápias. Artigos acompanhados de números após o ano de publicação apresentam controle positivo (1), com fósforo atendendo as exigências, e/ou controle negativo (2), com restrição de fósforo na dieta..... 118

Figura 45 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase combinada com outras enzimas, no coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo em tilápias..... 119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem de P disponível e fítico (indisponível) nos principais ingredientes de origem vegetal utilizados em dietas para peixes.....	22
Tabela 2 - Propriedades das fitases	38
Tabela 3 - Níveis recomendados e origem de fitase utilizada em dietas para diferentes espécies de peixes.....	47
Tabela 4 - Suplementação de fitase sobre o desempenho, a biodisponibilidade de minerais e digestibilidade de nutrientes em dietas para peixes.....	52
Tabela 5 - Combinação de enzimas e seus efeitos sobre o desempenho, a biodisponibilidade de minerais e digestibilidade de nutrientes em dietas para peixes	62
Tabela 6 - Composição nutricional de dietas de alevinos de tilápias (peso > 0 a ≤ 10g), número de observações, média da composição e seu desvio padrão.....	86
Tabela 7 - Composição nutricional de dietas de juvenis de tilápias (peso > 10 a < 100g), número de observações, média da composição e seu desvio padrão.....	87
Tabela 8 - Composição nutricional de dietas de adultos de tilápias (peso ≥ 100g), número de observações, média da composição e seu desvio padrão.....	88
Tabela 9 – Níveis de inclusão dos ingredientes das dietas para tilápias.....	89
Tabela 10 - Pontuações para cada critério científico estabelecido dos artigos sobre a suplementação de fitase para tilápias presentes na base de dados.....	96
Tabela 11 - Pontuações para cada critério científico estabelecido dos artigos de digestibilidade sobre a suplementação de fitase para tilápias presentes na base de dados.....	98
Tabela 12 - Desempenho e digestibilidade do fósforo de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo fitase.....	101

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	15
1.1 INTRODUÇÃO.....	15
1.2 PANORAMA MUNDIAL DA PESCA E AQUICULTURA	16
1.3 TILÁPIA DO NILO.....	17
1.4 FITATO.....	18
1.4.1 Fitato e a nutrição de peixes.....	20
1.5 ENZIMAS EXÓGENAS.....	23
1.6 FITASE	24
1.6.1 Fontes.....	25
1.6.1.1 Plantas.....	26
1.6.1.2 Microrganismos.....	27
1.6.1.2.1 Bactérias.....	28
1.6.1.2.2 Fungos.....	30
1.6.2 Classificação.....	31
1.6.2.1 Local do substrato da hidrólise	32
1.6.2.2 Diferenças estruturais e catalíticas	33
1.6.2.2.1 <i>Histidina Fosfatase Ácida (HFA)</i>	34
1.6.2.2.2 <i>Fitases β-hélice (FBH)</i>	35
1.6.2.2.3 <i>Fosfatases ácida púrpura (FAP)</i>	36
1.6.2.2.4 <i>Fitase tipo proteína tirosina fosfatase (PTP)</i>	37
1.6.2.3 Em relação ao pH ideal de ação.....	38
1.6.3 Produção de Fitase.....	38
1.6.3.1 Fermentação em estado sólido (FES)	40
1.6.3.1.1 <i>Etapas da Fermentação em estado sólido (FES)</i>	40
1.6.3.1.2 <i>Vantagens da fermentação em estado sólido</i>	42
1.6.3.1.3 <i>Desvantagens da fermentação em estado sólido</i>	42
1.6.3.2 Fermentação submersa (FS)	43
1.6.3.2.1 <i>Etapas da fermentação submersa</i>	43
1.6.3.2.2 <i>Vantagens da fermentação submersa</i>	44
1.6.3.2.3 <i>Desvantagens da fermentação submersa</i>	44
1.6.4 Aspectos da fitase comercial	45
1.6.5 Aplicações da fitase na dieta de peixes	45
1.6.5.1 Fitase na digestibilidade de nutrientes em peixes.....	48
1.6.5.2 Efeitos da fitase no desempenho.....	49

1.6.5.3 Sustentabilidade ambiental.....	50
1.7 COMBINAÇÃO DE ENZIMAS	56
1.7.1 Fitases e carboidrases.....	56
1.7.1.1 Polissacarídeos não amiláceos.....	56
1.7.1.2 Carboidrases	57
1.7.1.3 Combinação de fitase e carboidrases	60
1.7.2 Fitases e proteases.....	60
1.7.2.1 Proteases.....	60
1.7.2.2 Combinação de fitase e protease	61
1.8 POR QUE INTEGRAR OS RESULTADOS DO USO DE FITASE POR MEIO DA META-ANÁLISE?	64
REFERÊNCIAS	65
CAPÍTULO 2: ABORDAGEM SISTEMÁTICA E META-ANALÍTICA SOBRE A INCLUSÃO DE FITASE EM DIETAS PARA TILÁPIAS.....	76
2.1 INTRODUÇÃO.....	76
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	77
2.2.1 Identificação e seleção de artigos.....	77
2.2.2 Gerenciamento do banco de dados	78
2.2.3 Caracterização e classificação da base de dados	79
2.2.4 Análise estatística.....	81
2.3 RESULTADOS	81
2.3.1 Resultados da busca de literatura.....	81
2.3.2 Descrição da base de dados	82
2.3.3 Avaliação crítica da base de dados	95
2.3.4 Respostas de desempenho e digestibilidade	100
2.3.4.1 Desempenho	102
2.3.4.2 Digestibilidade.....	110
2.3.5 Meta-análise por <i>forest plot</i>	114
2.4 DISCUSSÃO	120
2.4.1 Revisão Sistemática	120
2.4.2 Desempenho	121
2.4.3 Digestibilidade.....	124
2.5 CONCLUSÃO	125
REFERÊNCIAS	127

CAPÍTULO 1: ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

1.1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande destaque na produção de tilápias, sendo o peixe mais cultivado no país e o quarto maior produtor mundial, produzindo 579.080 toneladas (2024). Com grande destaque para o estado do Paraná, o maior produtor de tilápia com 209.500 toneladas (Peixe BR, 2024). A tilápia se destaca pelo rápido crescimento, apresentar uma boa conversão alimentar e possuir carne com características sensoriais desejáveis, indicada para processamento industrial para obtenção de filé sem espinhas (El-Sayed, 2019).

Com o crescimento da piscicultura a busca por tecnologias que reduzam a custo total de produção tem se intensificado, com o principal foco sendo a alimentação, devido o seu custo representar cerca de 30 a 70% do custo total de produção (Hodar *et al.*, 2020). Dietas a base de ingredientes vegetais têm se tornado uma forma eficiente de reduzir entraves quanto a disponibilidade de ingredientes vegetais e assim reduzir o custo da alimentação (Hodar *et al.*, 2020).

O fitato, reserva de fósforo presente naturalmente em ingredientes vegetais, (Kumar *et al.*, 2012) representam um fator antinutricional para peixes, devido a sua capacidade de quelar minerais, proteínas e amido atrelado ao fato de peixes não possuírem enzimas capazes de digerir a estrutura. Que é excretada para o meio externo, responsável por causar danos ao meio ambiente devido a seu potencial de eutrofizar a água. Assim, a fitase surge como uma ferramenta para hidrolisar o fitato e liberar os nutrientes complexados a essa estrutura (Cowieson *et al.*, 2016; Rizwanuddin *et al.*, 2023).

A fitase possui capacidade de hidrolisar as ligações do fitato, aumentando a biodisponibilidade do fósforo e de outros minerais complexados, como o cálcio e magnésio, como consequência, melhora a digestibilidade desses nutrientes. Peixes suplementados com fitase melhoram seu desempenho além de reduzir o custo total e o impacto ambiental da produção (Gomes *et al.*, 2016; Pontes *et al.*, 2021).

Comercialmente há uma grande variedade de fitases no mercado, originadas de diferentes fontes, com estruturas e formas distintas, além disso na bibliografia encontra-se grande gama de informações em relação aos níveis recomendados de

suplementação, tornando desafiador a tomada de decisão a respeito da inclusão da fitase na dieta para tilápias.

1.2 PANORAMA MUNDIAL DA PESCA E AQUICULTURA

Segundo relatórios da FAO (2022) sobre o Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (SOFIA), em 2020, a produção de peixes foi de 178 milhões de toneladas. A China foi líder global de produção, alcançando 83,9 milhões de toneladas, seguido pela Indonésia com 21,8 milhões, na sequência, Índia (14 milhões), Vietnã (8 milhões) e Peru (5,8 milhões). Ainda segundo a FAO (2022), estima-se, que em 2020 o Brasil produziu 1,3 milhão de toneladas, ocupando a 21ª posição no ranking mundial de produção (Peixe BR, 2024).

Apesar disso, em 2020 houve redução na produção pesqueira de captura devido a pandemia de COVID-19, que interrompeu atividades de pesca e acesso a mercados. Em contrapartida a aquicultura mundial de cultivo teve sua produção impulsionada, alcançando 87,5 milhões de toneladas, 6% a mais que em 2018, esses dados relatam a importância da aquicultura para a produção global (FAO, 2022).

Já a nível nacional, a produção de peixes de cultivo em 2022 alcançou valores de 887.029 toneladas, tendo um crescimento de 3,1% em relação ao ano anterior, de acordo com dados da Peixe BR (2024). A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi o peixe mais cultivado em território brasileiro, sendo produzidas 579.080 toneladas, ou seja, 65,3% da produção total (Peixe BR, 2024), demonstrando a importância dessa espécie para o mercado nacional.

O crescimento da pesca e aquicultura é extremamente importante para a diminuição da fome e desnutrição a nível mundial, visto que o mundo possui uma enorme capacidade aquícola para produção, ademais, alimentos aquáticos contribuem para a segurança alimentar e nutricional. Dados da FAO consolidam essa afirmação, pois o consumo global está aumentando a uma taxa média anual de 3% desde 1961, atingindo 20,2 kg per capita, o dobro de consumo na década de 1960. Em 2019, os alimentos aquáticos contribuíram com cerca de 17% do consumo de proteína de origem animal (FAO, 2022).

De acordo com projeções da FAO, em 2030, o consumo de alimentos aquáticos aumentará em 15%, alcançando 21,4 kg per capita, com uma produção mundial de 202 milhões de toneladas, devido ao crescimento da aquicultura, que chegará em 100 milhões de toneladas em 2027. Além disso o consumo será impulsionado pelo aumento de renda e urbanização, bem como mudanças nas práticas de pós colheita e novas tendências alimentares, com o consumidor buscando alimentos mais saudáveis e nutritivos. Ademais um dos fatores que favorece o crescimento de criações e consumo de peixes é a busca cada vez mais frequente de ferramentas para tornar a criação de peixes mais sustentável e diminuindo a agressão ao meio ambiente. Para garantir isso, o governo deve-se atentar a criação de projetos que promovam a propagação de informações sobre esse alimento bem como facilitar a comercialização desse produto.

1.3 TILÁPIA DO NILO

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é um ciclídeo originário da bacia do rio Nilo, na região leste da África e amplamente disseminada em regiões tropicais e subtropicais, como no sudeste asiático, e por toda América do Sul (FAO, 2022a). Se destaca pelo rápido crescimento, apresenta boa conversão alimentar e possui carne com características sensoriais desejáveis, sendo indicada para processamento industrial para obtenção de filé sem espinhas (El-Sayed, 2019).

Segundo dados da FAO (2022), em 2020 foram produzidos 6,5 milhões toneladas de tilápia, tendo um crescimento de 4% em relação a dados do ano anterior, com estimativas de crescimento de 3,1% para 2023, sendo o segundo peixe mais produzido no mundo. A China lidera essa lista, com uma produção de 2,1 milhões de toneladas, seguida de Indonésia (1,5 milhão), Egito (1,1 milhão) e Brasil, com cerca de 550 mil toneladas, apresentando crescimento de 3% em relação a dados do ano anterior.

Entre os maiores estados produtores de tilápia no Brasil estão o Paraná (209.500 toneladas), São Paulo (75.700 toneladas), Minas Gerais (58.200 toneladas), Santa Catarina (44.600 toneladas), e Mato Grosso do Sul (32.000 toneladas), respectivamente. O crescimento da tilapicultura no Paraná se deve aos constantes

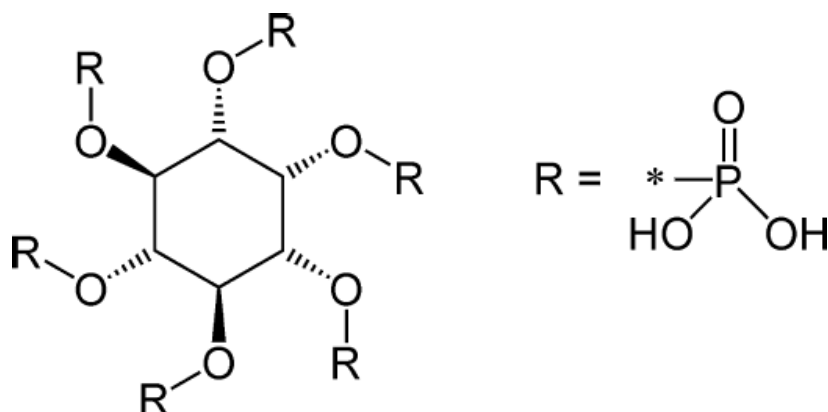
investimentos da agroindústria, além de uma maior demanda por parte dos consumidores (Peixe BR, 2024).

A grande importância e propagação da criação de tilápias a nível mundial levou a inúmeras pesquisas relacionadas a nutrição e alimentação desses peixes, buscando intensificar a produção e baratear o custo de alimentação na criação, visto que ela representa cerca de 30 a 70% do custo total de produção (Hodar *et al.*, 2020). Com avanços tecnológicos da nutrição de precisão é imprescindível conhecer as exigências da espécie bem como entender os efeitos e aplicações dos ingredientes utilizados em rações para tilápias. Assim, a substituição de ingredientes onerosos ou de disponibilidade limitada, como a farinha de peixe, por ingredientes de origem vegetal, tornou-se recorrente em rações para peixes, com o objetivo de baratear o custo e manter a dieta com níveis semelhantes de valor nutricional, ou até mesmo melhorar. Ingredientes vegetais possuem naturalmente estruturas consideradas fatores antinutricionais para peixes, que afetam negativamente a disponibilidade e aproveitamento dos ingredientes, sendo o fitato o mais importante (Castillo; Gatlin, 2015; Kumar; Sinha, 2018).

1.4 FITATO

Há três terminologias utilizadas para o substrato da fitase na literatura, ácido fítico, o ácido livre na forma de hexafosfato de mio-inositol (IP6) e fitato, o termo mais utilizado, se referindo ao ácido fítico na forma de sal misto; fitina, que ocorre quando há presença de íons metálicos, como o potássio, magnésio e cálcio, associado ao ácido fítico (Selle *et al.*, 2012). O fitato é formado naturalmente durante a fase de maturação da semente, sendo a principal forma de armazenamento de fósforo na planta (Kumar *et al.*, 2012). A Figura 1 apresenta a forma estrutural do ácido fítico.

Figura 2 - Fórmula estrutural do ácido fítico.



Fonte: KUMAR, V. *et al.* Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2010, p. 945–959, 2010.

O fitato nas plantas, é formado a partir da fosforilação completa do mio-inositol, que possui a glicose como precursora (Almeida *et al.*, 2003). Durante o processo de amadurecimento, as sementes de cereais e de leguminosas, acumulam quantidades consideráveis de fitato em sua composição, nesses ingredientes é provável encontrar o IP6 ligado a minerais como o cálcio e o magnésio (Baruah *et al.*, 2007).

1.4.1 Fitato e a nutrição de peixes

Para a nutrição animal, o fitato, presente nos ingredientes vegetais das rações, é considerado um fator antinutricional. Isso se deve ao fato da sua capacidade de quelar minerais, proteína e energia na forma de sais mistos insolúveis, diminuindo sua disponibilidade e reduzindo a digestibilidade de energia e nutrientes da dieta, resultando numa piora na conversão alimentar e no desempenho dos animais (Kryukov; Glebova; Zinoviev, 2021; Kumar *et al.*, 2012). Esses ingredientes de origem vegetal, além de complexar os nutrientes e energia, acabam sendo uma fonte de baixa disponibilidade de fósforo para animais monogástricos, devido à ausência de fitase endógena com capacidade de hidrolisar o fitato (Kumar *et al.*, 2012).

Sua ação quelante vem do fato do fitato ter grande capacidade de perder seus íons fosfatos, ligado ao anel de IP6, formando assim uma molécula com íon negativo, desse modo, para se tornar novamente uma molécula neutra, essa molécula aniônica

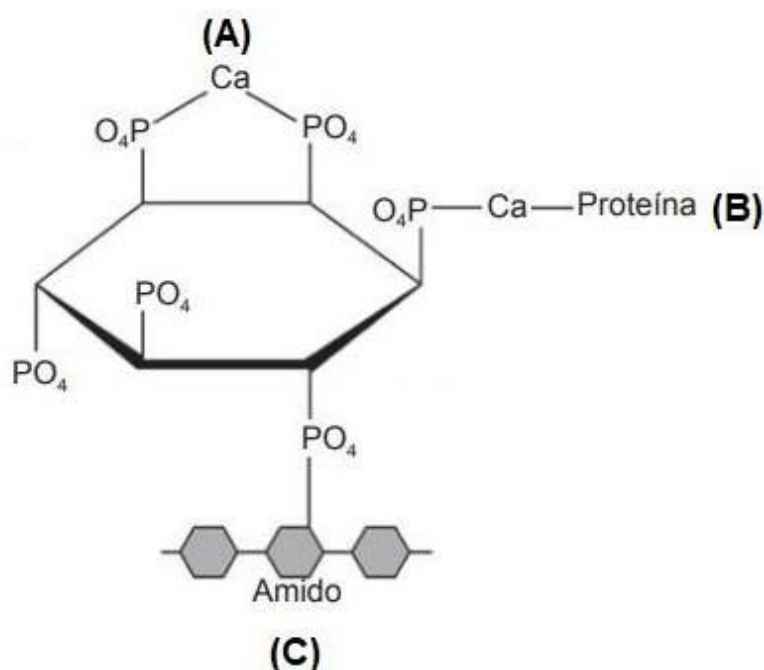
se liga a cátions, como os minerais com carga positiva, formando um complexo de solubilidade variável (Cowieson *et al.*, 2016). Devido a sua estrutura polianiônica, há mais suscetibilidade de interação com minerais divalentes (Figura 2), como o zinco (Zn^{2+}), cobre (Cu^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), ferro (Fe^{2+}) e manganês (Mn^{2+}) (Liu; Cheng; Zhang, 2005; Maas *et al.*, 2018; Rizwanuddin *et al.*, 2023). Um mineral muito afetado pela formação do complexo íon-fitato é o zinco, devido a formação de um complexo altamente estável e insolúvel (Kumar *et al.*, 2012), reduzindo a reabsorção endógena de zinco pelos peixes (Cowieson *et al.*, 2016).

O fitato também é responsável pela formação do complexo proteína-fitato (Figura 2), que afeta a solubilidade das proteínas dietéticas e reduz a atividade de proteases endógenas nos peixes (Selle *et al.*, 2012). Em pH próximos a 1, o ácido fítico encontra-se totalmente protonado, ou seja, com carga neutra, em pH entre a 3 - 4, o IP6 apresenta carga iônica de -4, à medida que o pH chega perto na neutralidade, próximo de 6 - 7, o ácido fítico adquire carga -6, e em pH superior a 13, o IP6 estará completamente desprotonado (Cowieson *et al.*, 2016). Como o estômago dos peixes possui pH ácido, entre 2,4 e 4,2 (Rotta, 2003), o ácido fítico se encontra parcialmente desprotonado, o que favorece a formação de complexos com minerais, formando uma estrutura estável e insolúvel, além de contribuir para ligações eletrostáticas entre fitato e proteínas solúveis em grupos amino na lisina, grupos de imidazol na histidina e grupos guanidil na arginina, resultando na formação de complexos secundários de proteína-fitato (Selle *et al.*, 2012). Devido ao aumento do pH na passagem do alimento pelo intestino (pH 8,5 a 8,8), complexos ternários são favorecidos pelos cátions de Ca e Mg, levando a interação proteína-proteína e agregando-as, esses complexos aumentam de tamanho e se precipitam quando atingem tamanhos críticos, não sendo absorvidos pelo trato gastrointestinal, ocasionando a diminuição da biodisponibilidade desses minerais (Pinheiro; Gomes; Baltazar, 2020; Selle *et al.*, 2012). Esses complexos afetam negativamente a digestão das proteínas da dieta e consequentemente a formação e absorção de aminoácidos pelo intestino dos peixes (Kumar *et al.*, 2010).

Além disso, o fitato possui a capacidade de quelar amido (Figura 2) devido a ligação entre o amido e os grupos fosfato a partir de ligações de hidrogênio, e de reduzir a atividade da amilase endógena. Isso ocorre devido a complexação do Ca, que atua como um cofator para a formação da amilase (Kumar *et al.*, 2020). Os

lipídeos também são afetados pela presença de fitatos nos ingredientes, isso se deve a formação das lipofitinas, que são estruturas compostas de Ca/Mg-fitato, lipídeos e peptídeos. As lipofitinas formam um sabão metálico no lúmen intestinal que impede a utilização desses nutrientes, restringindo a utilização derivada dos lipídeos (Kumar *et al.*, 2012).

Figura 2 - Fitato complexando mineral (A), proteína (B) e amido (C)



Fonte: GODOY, M. G. *et al.* Agricultural Residues as Animal Feed: Protein Enrichment and Detoxification Using Solid-State Fermentation. Em: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Amsterdã: Elsevier, 2018. p. 235–256.

O fitato está naturalmente presente em rações de peixes, pois há ingredientes vegetais em sua composição, com destaque para o milho, farelo de soja, farelo de arroz e de trigo. Cerca de 40 a 90% do fósforo total dos ingredientes estão presentes na forma de fósforo fítico, ou seja, indisponíveis; conforme mostra a Tabela 1.

O processamento desses ingredientes a partir da peletização e extrusão não tem a capacidade de inativar a molécula de fitato, assim, devido a essa baixa disponibilidade de P nos ingredientes vegetais para os peixes, uma das alternativas encontradas foi a suplementação de P inorgânico, como o fosfato bicálcico, para atender as exigências nutricionais dos peixes (Adeshina *et al.*, 2023; Dias; Santigosa,

2023; Pontes *et al.*, 2021; Rizwanuddin *et al.*, 2023). Porém essa alternativa possui empecilhos; a suplementação dessa fonte inorgânica aumenta os custos da ração, que para tilápia representa cerca de 30 a 70% do custo total da produção (Hodar *et al.*, 2020), um acréscimo a esse valor não seria pertinente. Do ponto de vista ambiental, a extração de fontes inorgânicas de P, leva ao esgotamento de jazidas fosfáticas naturais, em razão de ser um recurso natural não renovável (Obersteiner *et al.*, 2013). Os minerais não absorvidos atrelados ao fitato além de contribuir para a deficiência nutricional nos peixes, são excretados nos efluentes aquícolas, sendo responsáveis por causar a eutrofização do ambiente aquático afetando negativamente o nicho ecológico dos peixes (Jain; Sapna; Singh, 2016).

Tabela 1 - Porcentagem de P disponível e fítico (indisponível) nos principais ingredientes de origem vegetal utilizados em dietas para peixes.

Ingrediente	% de fósforo (P)*			% P fítico
	P total	P fítico	P disponível ¹	
Farelo de soja (45% PB ²)	0,55	0,36	0,19	65,45
Farelo de arroz	1,71	1,37	0,35	80,12
Farelo de girassol	0,98	0,66	0,32	67,35
Glúten de milho	0,52	0,47	0,05	90,39
Farelo de canola	1,14	0,75	0,39	65,79
Farelo de amendoim	0,63	0,42	0,21	66,67
Farelo de algodão	1,03	0,65	0,38	63,11
Farelo de trigo	0,94	0,45	0,49	47,87
Milho	0,43	0,19	0,24	44,18
Concentrado de soja	0,73	0,45	0,27	61,64
Aveia	0,38	0,16	0,22	42,10
Trigo	0,32	0,22	0,10	68,75
Sorgo	0,26	0,18	0,08	69,23

*Em matéria natural. ¹Pdisponível = Ptotal – Pfítico. ²PB = Proteína bruta

Fonte: Adaptado de Rostagno *et al.* (2017)

Em vista de todos esses pontos negativos, uma abordagem prática encontrada para reduzir esses efeitos antinutricionais e aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes, além de reduzir a carga mineral excretada no ambiente aquático é a utilização de enzimas exógenas, como a fitase, que catalisa a hidrólise do fitato, disponibilizando os nutrientes complexados (Adeshina *et al.*, 2023; Dias; Santigosa, 2023; Nakamura *et al.*, 2022; Rizwanuddin *et al.*, 2023). Inúmeros estudos já foram realizados buscando aprimorar o uso das fitases, para ampliar e melhorar sua adição nas rações de peixes, até mesmo testando combinações com outras enzimas, como xilanases, amilases e glucanases (Maas *et al.*, 2021; Nakamura *et al.*, 2022).

1.5 ENZIMAS EXÓGENAS

Enzimas são biocatalisadores indispensáveis para a realização de processos metabólicos, aumentando a velocidade de reações químicas e diminuindo a energia necessária para a ativação, mantendo o equilíbrio da reação. As enzimas atuam por meio de sítios ativos em determinados substratos e são suscetíveis a mudanças de pH e temperatura, o que implica na existência de um limiar ótimo para atividade (Ashkan *et al.*, 2021; Nelson; Cox, 2022).

O uso de enzimas na nutrição animal vem sendo realizado desde a década de 1990, com o avanço na nutrição de precisão. Nos dias de hoje essa tecnologia já está mais avançada no quesito de níveis de inclusão, eficiência e substratos específicos (Boyd *et al.*, 2020). As enzimas são consideradas aditivos alimentares devido a capacidade de melhorarem a eficiência de ingredientes de baixa qualidade (Castillo; Gatlin, 2015; Hassaan *et al.*, 2019).

A presença de enzimas nas paredes e lúmen do trato digestório dos peixes permite a utilização dos nutrientes ingeridos. A presença e intensidade de enzimas disponíveis variam em função da espécie e hábito alimentar. Assim, o uso de enzimas exógenas nas dietas de peixes beneficia nutrientes que possuem baixa digestibilidade, devido à baixa qualidade ou a ausência de enzimas específicas, além de auxiliar enzimas endógenas, tornando esses nutrientes mais disponíveis (Campestrini; Silva; Appelt, 2005; Gomes *et al.*, 2016).

A adição de enzimas via dieta possui duas categorias: enzimas endógenas, ou seja, produzidas pelos peixes, porém adicionadas com o objetivo de potencializar a ação dessas enzimas, como a amilase, protease, lipase, entre outras; e enzimas exógenas que não são sintetizadas pelos peixes, como fitases e carboidrases (Gomes *et al.*, 2016).

1.6 FITASE

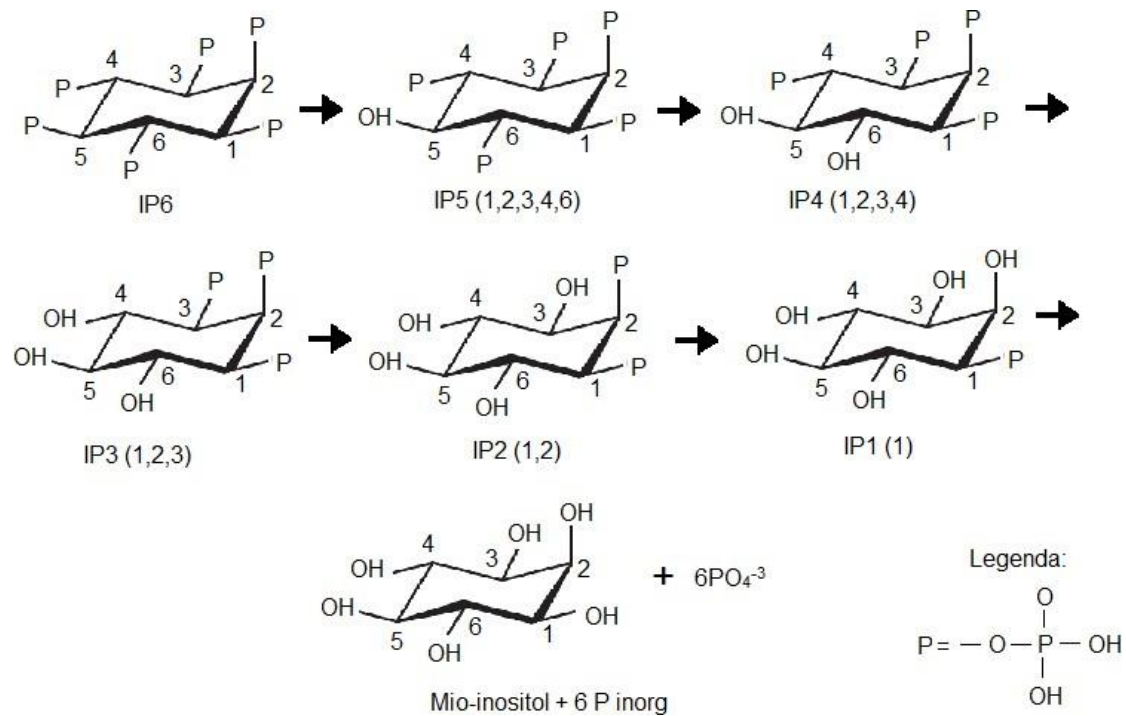
Devido aos fatores antinutricionais conhecidos como fitato, pesquisas foram realizadas buscando a obtenção de fosfatases que pudessem degradar o fitato e disponibilizar o fósforo complexado. Sabe-se que a fitase está amplamente distribuída na natureza, podendo ser encontrada em diversas fontes vegetais, como sementes de plantas, e animais, como fungos, bactérias e leveduras (Balwani; Chakravarty; Gaur, 2017). Sendo que as primeiras fitases isoladas foram encontradas em farelo de arroz (Suzuki; Yoshimura; Takaishi, 1907) e no sangue de bezerros (McCollum; Hart, 1908). A atividade das fitases normalmente é expressa em unidades de atividade de fitase (FTU), sendo que 1 FTU equivale a quantidade de fósforo inorgânico (μmol) durante um minuto de reação em uma solução de fitato de sódio 5,1 mmol/L em pH de 5,5 e a 37°C (Engelen *et al.*, 1994).

A hidrólise enzimática completa do fitato gera grupos menores de ésteres de fosfatos de mio-inositol ($\text{IP6} \rightarrow \text{IP5} \rightarrow \text{IP4} \rightarrow \text{IP3} \rightarrow \text{IP2} \rightarrow \text{IP1}$) por meio da reação de desfosforilação, resultando em uma molécula de mio-inositol e seis de P inorgânico, conforme mostra a Figura 3. Entretanto o grau de desfosforilação do fitato é variável e depende do tipo de fitase utilizada e da fonte utilizada para sua produção (Abbasi *et al.*, 2019; Adeola; Cowieson, 2011).

Na nutrição animal alguns fatores devem ser observados para atuação de forma efetiva, como o pH e temperatura ideal de atividade, bem como a resistência a proteólises (Chen *et al.*, 2015). Assim, a suplementação da fitase tem como objetivo reduzir os impactos negativos causados pelos fatores antinutricionais presentes nos ingredientes vegetais, devido sua capacidade de hidrolisar o fitato, liberando

nutrientes complexados e auxiliando a ação de enzimas digestivas (Adeshina *et al.*, 2023).

Figura 3 - Desfosforilação completa do fitato a partir da fitase, e liberação de mio-inositol e fósforo inorgânico.



Fonte: O autor

1.6.1 Fontes

Há várias fontes com potencial para extração e produção de fitase, elas podem ser encontradas em plantas, bactérias, fungos e leveduras, conforme ilustrado na Figura 4.

Figura 4 - Diferentes fontes de fitase.



Fonte: Adaptado de (Handa *et al.*, 2020; Rizwanuddin *et al.*, 2023).

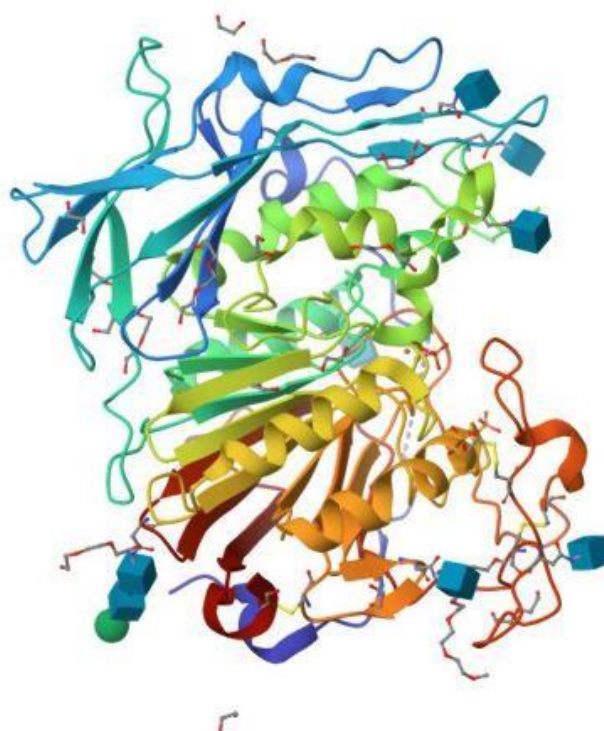
1.6.1.1 Plantas

A identificação da primeira fitase foi realizada inicialmente no farelo de arroz, posteriormente, em plantas, ela foi identificada em grãos, sementes oleaginosas e legumes (Jatuwong *et al.*, 2020). Durante a etapa de germinação é possível identificar o processo de desfitinização através de fitases endógenas, porém sua atividade varia em função da espécie. Milho, milheto e sorgo, por exemplo, apresentam inicialmente baixa atividade enzimática, que aumenta após a germinação, já o trigo, cevada e

centeio apresentam maior atividade da fitase no grão (Gupta; Gangoliya; Singh, 2015). A Figura 5 demonstra a estrutura de uma fitase isolada a partir do trigo.

A grande desvantagem das fitases vegetais é a falta de uma técnica menos trabalhosa, economicamente viável e mais rápida para sintetização, o que impossibilita sua utilização de forma comercial (Gupta; Gangoliya; Singh, 2015).

Figura 5 - Estrutura tridimensional de uma fitase isolada a partir de *Triticum aestivum*.



Fonte: FEBA-RODRIGUEZ, R. *et al.* Structure of a cereal purple acid phytase provides new insights to phytate degradation in plants. **Plant Communications**, v. 3, p. 1–10, 2022.

1.6.1.2 Microrganismos

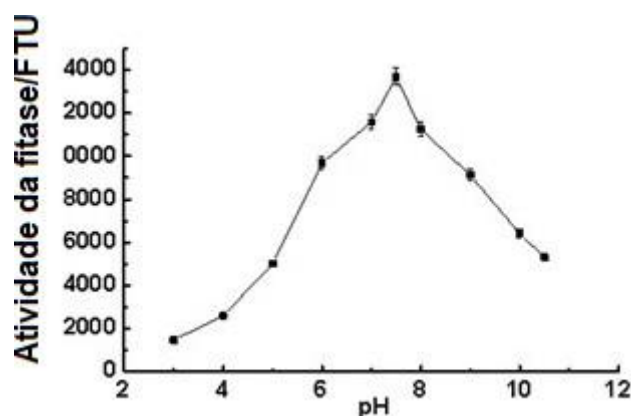
As fitases microbianas podem ser isoladas a partir de bactérias, fungos e leveduras. São mais eficazes quando comparadas com as fitases vegetais, devido ao seu amplo espectro de atividade de pH, conseguindo serem estáveis em pH baixo, como 3,0 e pH alto como 8,0. Já as fitases vegetais tem sua atividade reduzida em pH menor que 4,0 e maior que 7,5, além de terem uma boa resistência ao calor, restando sua atividade. Sendo assim, as fitases microbianas, do ponto de vista biotecnológico, tem se mostrado eficazes para diminuir a poluição ambiental causada pelo fósforo de forma efetiva (Lei *et al.*, 2013).

1.6.1.2.1 Bactérias

Grande parte das bactérias produzem enzimas associadas a células, porém em alguns casos como *Bacillus* e *Enterobacter*, as fitases têm atividade extracelular (Lei *et al.*, 2013). Bactérias como: *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Prevotella* sp., *Mitsuokella multiacidus*, *Aerobacter aerogenes*, *Citrobacter braakii*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* spp., *Bifidobacterium* sp., *Megasphaera elsdenii* e *Escherichia coli* são produtoras de fitase (BRENDA, 2023; Handa *et al.*, 2020; Rizwanuddin *et al.*, 2023).

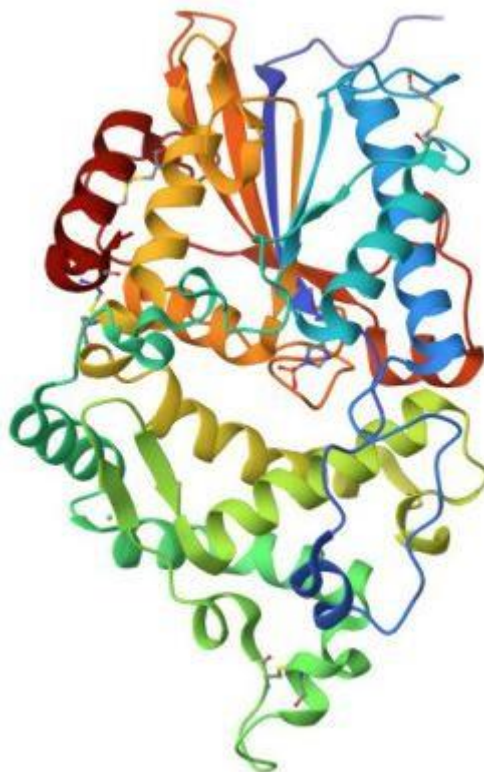
As fitases bacterianas possuem boa resistência a proteólise, grande especificidade de substrato, atividade em pH ácido para alcalino, como mostra a Figura 6 e uma dependência de íons de cálcio. Quando comparadas com as fitases endógenas, as fitases bacterianas degradam de 73 a 80% mais fitato (Rizwanuddin *et al.*, 2023). As fitases bacterianas, assim como as fúngicas, em sua maioria são do tipo 3-fitase, quebrando o terceiro grupo fosfato ligado ao mio-inositol, com exceção da fitase produzida pela bactéria *E.coli*, que quebra preferencialmente o sexto grupo fosfato, sendo classificada como uma 6-fitase (Ranjan; Singh; Satyanarayana, 2015). Para a produção das fitases bacterianas, o método mais eficaz e mais utilizado é o de fermentação submersa, a Figura 7 mostra uma estrutura tridimensional de uma fitase produzida a partir de *E.coli*.

Figura 6 - Efeito do pH na atividade da fitase bacteriana.



Fonte: YU, P.; CHEN, Y. Purification and characterization of a novel neutral and heat-tolerant phytase from a newly isolated strain *Bacillus nealsonii* ZJ0702. **BMC Biotechnology**, v. 13, 28 set. 2013.

Figura 7 - Estrutura tridimensional de uma fitase isolada de *Escherinchia coli*.



Fonte: ACQUISTAPACE, I. M. *et al.* Insights to the Structural Basis for the Stereospecificity of the *Escherichia coli* Phytase, AppA. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, 1 jun. 2022.

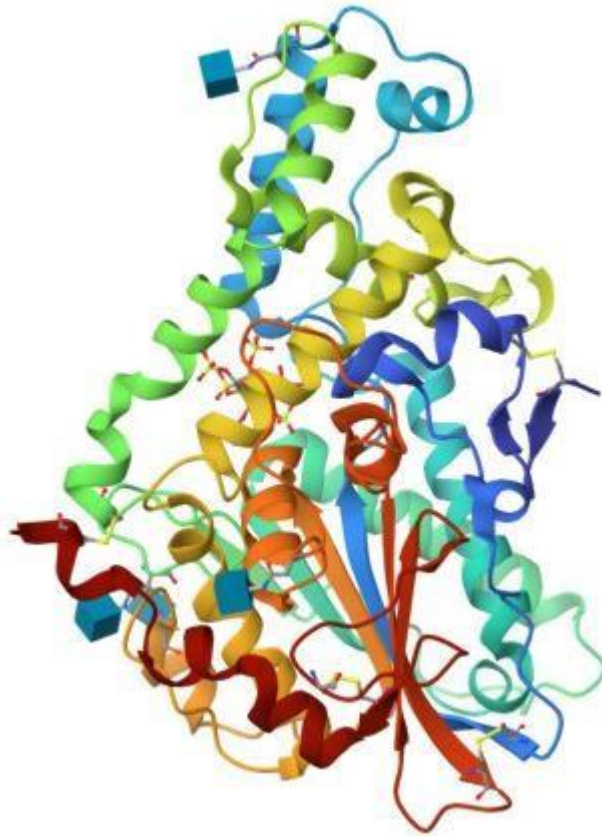
1.6.1.2.2 Fungos

As primeiras fitases comerciais a entrarem no mercado foram as fúngicas, derivadas do *Aspergillus niger* em 1991 (Selle; Ravindran, 2007). Os fungos filamentosos como *Trichoderma*, *Penicillium*, *Myceliophthora*, *Rhizopus*, *Mucor* e *Aspergillus* possuem grande destaque a nível comercial e em pesquisas de fitases, sendo os mais utilizados, devido à alta atividade de quitinase e maior termoestabilidade (Song; El Sheikha; Hu, 2019).

Atualmente as pesquisas se voltam para a produção de fitases mais eficientes de *Aspergillus* por meio da clonagem de genes por tecnologia recombinante (Puppala *et al.*, 2021), a Figura 8 ilustra uma fitase isolada de um fungo *Aspergillus*. Para a produção de fitases fúngicas comerciais, o método mais utilizado é o de fermentação em estado sólido, pois dessa forma leva a uma maior produção do produto, quando comparado com outros métodos, além de possuírem maior estabilidade e menor custo

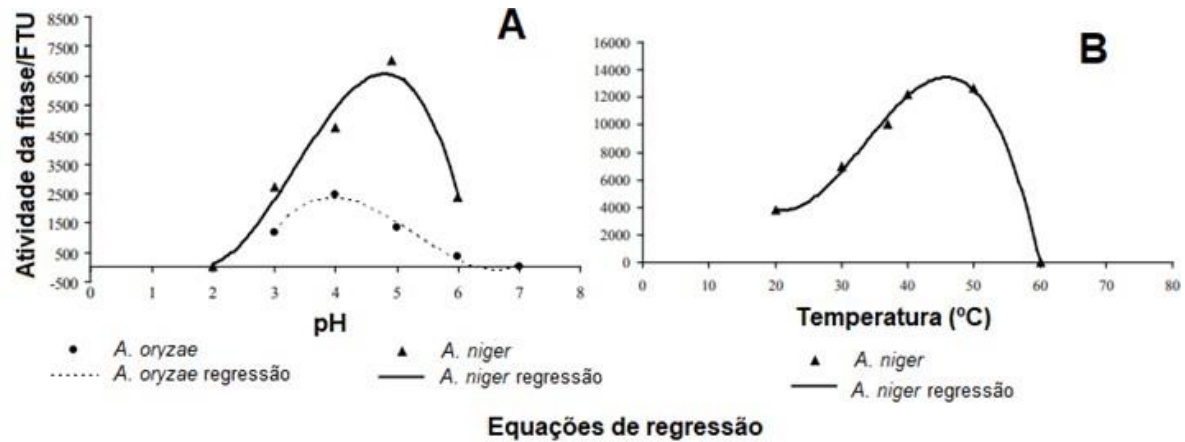
de produção (McKinney *et al.*, 2015). As fitases fúngicas são de natureza ácida, e possuem temperatura ótima entre 50 e 80°C, como mostra a Figura 9 (Ranjan; Singh; Satyanarayana, 2015).

Figura 8 - Estrutura tridimensional de uma fitase isolada de *Aspergillus niger*.



Fonte: OAKLEY, A. J. The structure of *Aspergillus niger* phytase PhyA in complex with a phytate mimetic. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 397, n. 4, p. 745–749, jul. 2010.

Figura 9 - Atividades de fitases derivadas de *Aspergillus oryzae* e *A. niger*, em função das alterações de pH (A), e atividade da fitase de *A. niger* em função da temperatura (B).



Fonte: NAVES, L. DE P. *et al.* Effect of pH and Temperature on the Activity of Phytase Products Used in Broiler Nutrition. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 14, n. 3, p. 159–232, 2012.

As fitases utilizadas comercialmente na nutrição animal devem atender certas condições, como serem termicamente estáveis, e possuírem alta atividade específica (Fernandes, 2010). As cepas fúngicas produzem fitases estáveis em temperaturas que variam de 37 a 67 °C e com ampla faixa de pH de 2,5 a 9,5 (Kaur; Vohra; Satyanarayana, 2021). Devido ao estômago das tilápias apresentar pH extremamente ácido, variando de pH 1 a 4,5, ocorre a ativação da fitase, o que também é benéfico para a inibição da pepsina, pois nesse pH não há ação dessa enzima proteolítica, o que possibilita a ação da fitase antes de ser digerida (Barreto *et al.*, 2020).

1.6.2 Classificação

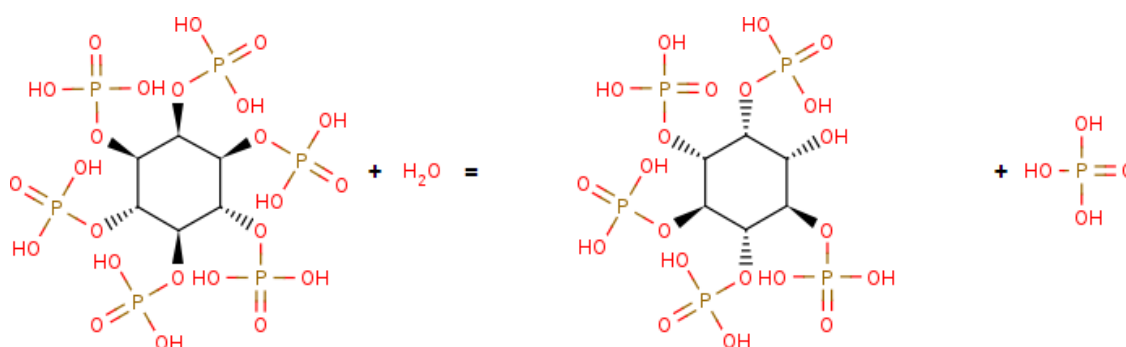
Desde o isolamento e obtenção das primeiras fitases, estudos e discussão sobre classificações dos tipos de fitase são feitas, hoje entende-se que há três formas de classificações possíveis para essas enzimas. Podendo ser dividida de acordo com o local do substrato onde a hidrólise se inicia, diferenças estruturais e catalíticas e segundo o pH ideal de ação (Balwani; Chakravarty; Gaur, 2017).

1.6.2.1 Local do substrato da hidrólise

Segundo o sistema de classificação enzimática do banco de dados BRENDA (Braunschweig Enzyme Database) (Schomburg *et al.*, 2017), as fitases podem ser subdivididas em 3-fitase (mio-inositol hexakisfosfato-3-fosfohidrolase), 5-fitase (mio-inositol hexakisfosfato-5-fosfohidrolase) e 6-fitase (mio-inositol hexakisfosfato-6-fosfohidrolase).

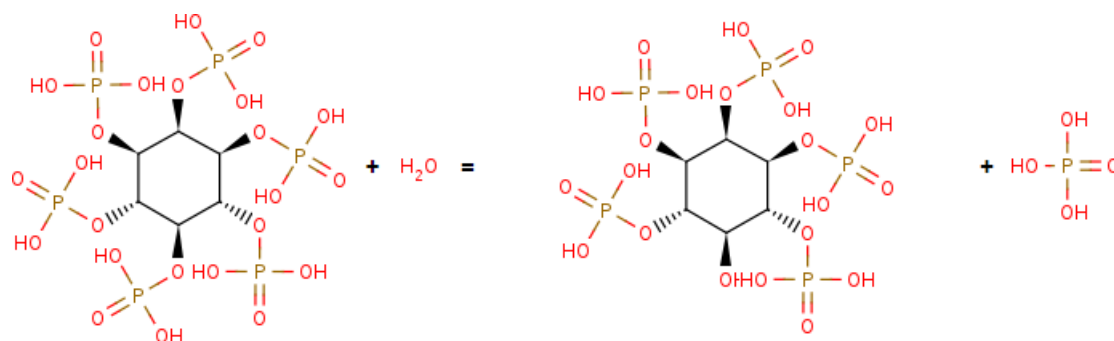
A 3-fitase inicia preferencialmente a hidrólise no terceiro grupo fosfato, gerando uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,4,5,6-pentaquisfosfato e uma de fosfato, conforme mostra a Figura 10; podendo ser isolada a partir de *Aspergillus niger*, *Neurospora crassa*, *Pseudomonas*, e *Klebsiella* sp. ASR1 (Balwani; Chakravarty; Gaur, 2017; Lima, 2018). Já a 5-fitase, realiza a hidrólise inicialmente no quinto grupo fosfato, gerando uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,3,4,6-pentaquisfosfato e uma molécula de fosfato, conforme mostra a Figura 11; podendo ser isolada a partir de *Medicago sativa*, *Phaseolus vulgaris*, e *Pisum sativum*. E a 6-fitase hidroliza o sexto grupo fosfato, formando uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,3,4,5-pentaquisfosfato e uma de fosfato, de acordo com o ilustrado na Figura 12; e é extraído a partir de *Escherichia coli* e *Paramecium* (BRENDA, 2023; Greiner; Konietzny, 2011).

Figura 10 - Reação da hidrólise do fitato por uma 3-fitase, resultando em uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,4,5,6-pentaquisfosfato e uma de fosfato.



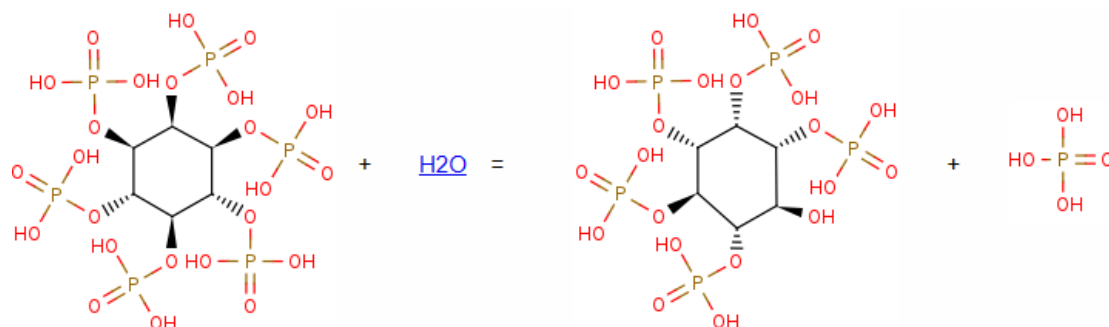
Fonte: INFORMATION on EC 3.1.3.8 - 3-phytase. **BRENDA**, 2023. Disponível em: <<https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.8>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023.

Figura 11 - Reação da hidrólise do fitato por uma 5-fitase, resultando em uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,3,4,6-pentaquisfosfato e uma de fosfato.



Fonte: INFORMATION on EC 3.1.3.72 - 5-phytase. **BRENDA**, 2023. Disponível em: <<https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.72>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023.

Figura 12 - Reação da hidrólise do fitato por uma 6-fitase, resultando em uma molécula de 1L-mio-inositol 1,2,3,4,5-pentaquisfosfato e uma de fosfato.



Fonte: INFORMATION on EC 3.1.3.26 - 4-phytase. **BRENDA**, 2023. Disponível em: <<https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.26>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023.

1.6.2.2 Diferenças estruturais e catalíticas

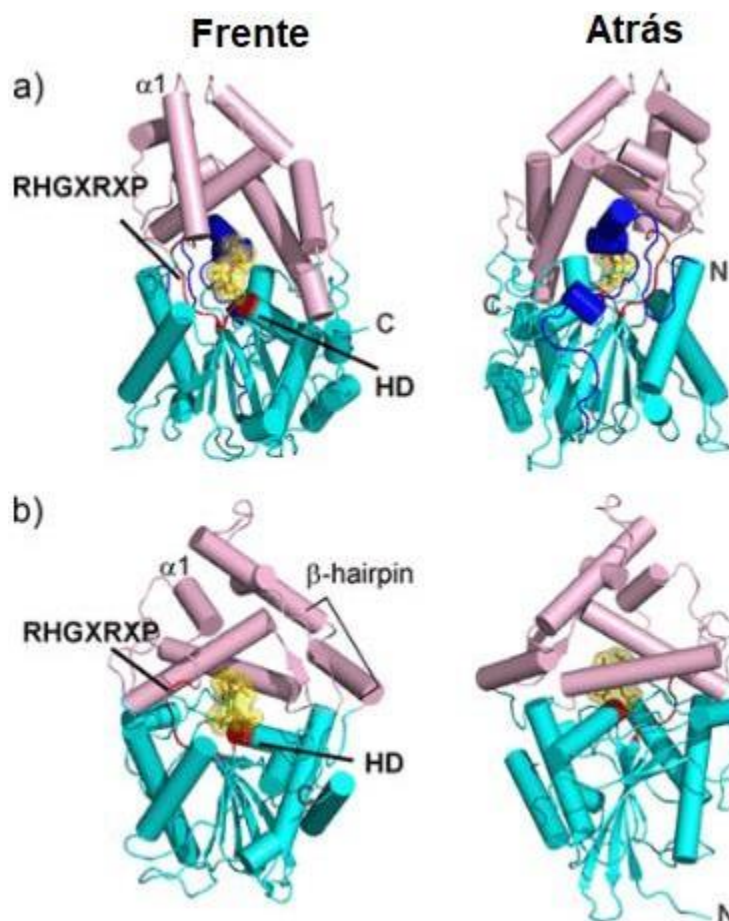
Conforme as propriedades estruturais e catalíticas das fitases, elas podem ser subdivididas em quatro subgrupos: histidina fosfatase ácida (HFA), fitases β -hélice (FBH), as fosfatases ácidas púrpuras (FAP) e proteína tirosina fosfatase (PTP) (Li et al., 2010).

1.6.2.2.1 Histidina Fosfatase Ácida (HFA)

As fitases da classe HFA são as mais conhecidas e estudadas e com os maiores números de representantes, são caracterizadas pelo compartilhamento de um sítio ativo em comum (N-terminal RHGxRxP) e um dipeptídeo cataliticamente ativo (C-terminal HD) (Flores, 2022; Lima, 2018), como ilustrado na Figura 13. A primeira fitase comercial produzida, a Natuphos®, é uma HFA originária de *Aspergillus niger*, até hoje, há conhecimento de 25 estruturas HFA de nove organismos diferentes. Sendo que nove em cada dez estruturas HFA fúngicas são do gênero *Aspergillus*, a estrutura de *Debaryomyces castellii* é a única estrutura HFA fúngica diferente da *Aspergillus*. Já para fontes bacterianas, há maior variedade de organismos, como *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter braakii*, *Yersinia kristenii* e *Klebsiella* sp. ASR1 (Chen *et al.*, 2015).

Apesar das estruturas HFAs apresentarem um sítio ativo comum, há diferenças entre as fúngicas e as bacterianas. As estruturas fúngicas apresentam uma região N-terminal extra antes da primeira fita β do domínio α/β que se dobra em alças e várias hélices curtas (Figura 13). Um outro ponto é em relação a hélice $\alpha 1$ no C-terminal, em HFAs bacterianos ela é mais curta, deixando o loop entre a hélice $\alpha 1$ e o sítio RHGxRxP, mais longo (Figura 13). Além disso, as estruturas bacterianas também possuem um gancho β adicional no domínio α (Figura 13). Essas diferenças nas estruturas bacterianas são responsáveis por permitir que as enzimas bacterianas formem uma bolsa de ligação com o fitato de maior plasticidade, formando um sítio ativo mais flexível (Chen *et al.*, 2015), tornando-o mais acessível e melhorando a velocidade catalítica da reação (Kokkinidis; Glykos; Fadoulglou, 2012).

Figura 13 - Estruturas gerais das enzimas HFA. As vistas frontal e posterior das estruturas HFA de (a) *A. niger* e (b) *E. coli*. Os domínios α , domínios α/β e região N-terminal são coloridos em rosa, ciano e azul, respectivamente. Os sítios RHGXRXP e HD são indicados e coloridos em vermelho.



Fonte: CHEN, C. C. *et al.* Current Progresses in Phytase Research: Three-Dimensional Structure and Protein Engineering. **ChemBioEng Reviews**, v. 2, n. 2, p. 76–86, 1 abr. 2015.

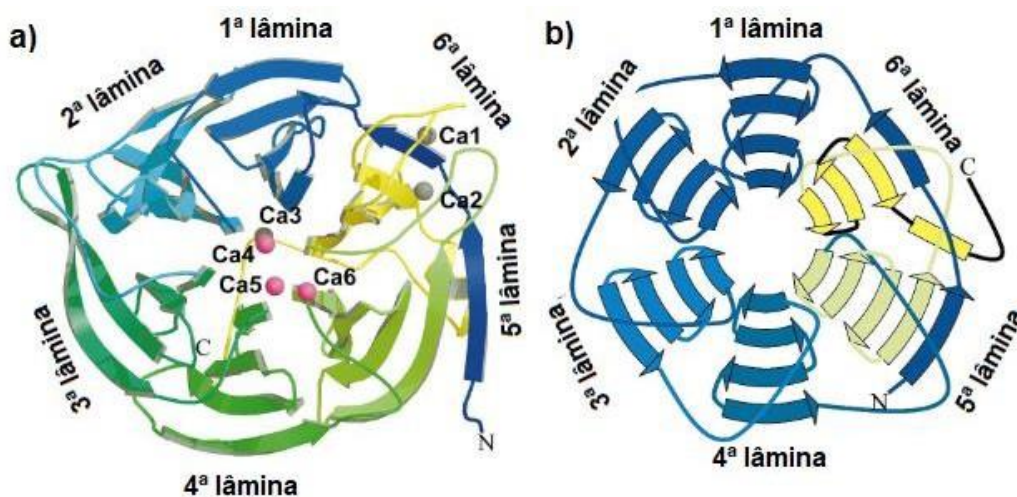
1.6.2.2 Fitases β -hélice (FBH)

As fitases dessa classe também são conhecidas como fitases alcalinas, e receberam essa nomenclatura devido a sua estrutura tridimensional se assemelhar a uma hélice com seis lâminas β , que consiste em cinco folhas β antiparalelas de quatro fitas e uma de cinco fitas (Chen *et al.*, 2015; Ha *et al.*, 2000) (Figura 14), sendo normalmente encontradas em bactérias do gênero *Bacillus* spp. As FBHs possuem alta atividade em pH neutro e têm alta termoestabilidade, quando comparadas com as HFAs e FAPs, que possuem pH ótimo mais ácido (Yao *et al.*, 2014). Desta forma as FBHs são fortemente recomendadas para a aquicultura, principalmente em águas de

lago ou tanques (pH próximo a 7,0) e água do mar (pH 8,0) (Chen *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2017).

As FBH são estritamente específicas para ácido fítico, em especial para o fitato de cálcio, mesmo com variadas concentrações de ácido fítico, foi relatado que a hidrólise do fitato é quase inexistente sem a presença do Ca^{2+} (Oh *et al.*, 2001). O sítio ativo presente nas FBHs é carregado negativamente, favorecendo substratos carregados positivamente, ou seja, o fitato de cálcio (Ha *et al.*, 2000). Há diferentes efeitos com relação a concentração de cálcio, em baixa concentração, o ácido fítico é hidrolisado pela fitase e não consegue quelar com o cálcio presente do sítio ativo da fitase; já em altas concentrações de cálcio, o ácido fítico quela com o cálcio presente no sítio ativo, resultando em uma diminuição da atividade enzimática (Oh *et al.*, 2001).

Figura 14 - a) Diagrama de fita; b) topologia de dobramento das fitases β -hélice. Cada lâmina é mostrada em uma cor diferente. Ca1, Ca2 e Ca3 (mostrados em cinza) são os três íons de cálcio que são responsáveis principalmente pela alta estabilidade térmica do FBH e ocupam os sítios de cálcio de alta afinidade.



Fonte: HA, N.-C. *et al.* Crystal structures of a novel, thermostable phytase in partially and fully calcium-loaded states. **Nature America Inc**, v. 7, n. 2, p. 147–153, 2000.

1.6.2.2.3 Fosfatases ácida púrpura (FAP)

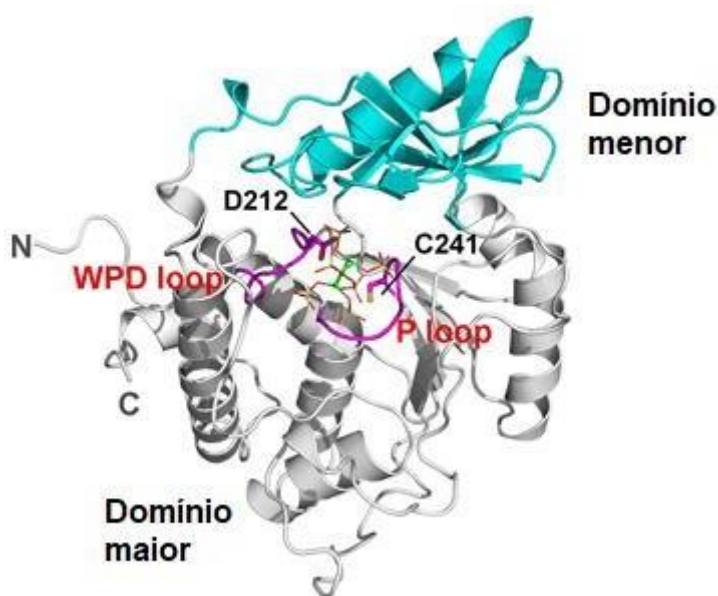
As fitases do tipo FAPs são exclusivamente associadas a plantas, principalmente no período de germinação, essa classe apresenta baixa atividade catalítica sobre o fitato, e seus efeitos ainda não são bem conhecidos, não sendo

utilizada comercialmente. Atualmente há pesquisas sendo feitas para entender melhor os mecanismos das FAPS (Feba-Rodriguez *et al.*, 2022).

1.6.2.2.4 Fitase tipo proteína tirosina fosfatase (PTP)

É a classificação mais recente de fitases, sendo também chamada de cisteínas fosfatases, observadas em bactérias ruminais (Sharma *et al.*, 2018). Elas possuem alta capacidade hidrolítica do fitato, com pH ideal variando de 4 a 6. As PTPs se estruturam de forma a se dobrar em um domínio grande e outro menor (Figura 15). O maior domínio apresenta uma folha β de 4 fitas que é compactada por várias α -hélices e a menor consiste principalmente em uma folha β de 5 fitas. Sendo o sítio de ligação do fitato na interface entre os dois domínios (Chen *et al.*, 2015). Apesar de possuírem um perfil favorável de pH e boa eficiência catalítica, as aplicações comerciais das PTPs são restritivas, devido à natureza do mecanismo catalítico, podendo oxidar *in vitro* o tiolato da cisteína catalítica, levando a uma inativação da enzima (Gruninger; Brent Selinger; Mosimann, 2008).

Figura 15 - Representação da estrutura complexa de PTP de *Selenomonas ruminantium*. Os domínios grande e pequeno da enzima são coloridos em cinza e ciano respectivamente. As alças que acomodam os resíduos catalíticos são indicadas e coloridas em roxo.



Fonte: CHEN, C. C. *et al.* Current Progresses in Phytase Research: Three-Dimensional Structure and Protein Engineering. **ChemBioEng Reviews**, v. 2, n. 2, p. 76–86, 1 abr. 2015.

1.6.2.3 Em relação ao pH ideal de ação

Em relação ao pH ótimo para ação, as fitases podem ser divididas em fitases ácidas e alcalinas. Em geral, as fitases ácidas possuem seu pH ótimo variando em média de 2,0 a 6, nessa classe entram as fitases do tipo HFA, FAP e PTP, e as alcalinas possuem sua estabilidade em torno de 8, as FBH (Priya *et al.*, 2023; Singh; Satyanarayana, 2015).

Fitases originadas de fungos são classificadas como ácidas em sua maioria, sendo que fitases de *Aspergillus* spp apresentam pH ótimo de 2,5 e 5,5 (Sapna; Singh, 2017). A Tabela 2 mostra alguns microrganismos utilizados para obtenção da fitase e o pH em que essas fitases chegam à estabilidade.

Tabela 2 - Propriedades das fitases.

Fonte	pH ótimo	Temperatura (°C)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5,0 – 6,0	60
<i>Aspergillus oryzae</i>	2,5; 5,0 – 6,0	50
<i>Aspergillus niger</i>	2,5; 5,0 – 5,5	55 – 58
<i>Aspergillus terreus</i>	5,0 – 5,5	70
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	7,0 – 8,0	70
<i>Bacillus subtilis</i>	6,5 – 7,5	55 – 60
<i>Citrobacter braakii</i>	4	50
<i>Escherichia coli</i>	4,5	55 – 60
<i>Pichia anomala</i>	4	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,5	50; 60

Fonte: Adaptado de Kumar; Sinha (2018)

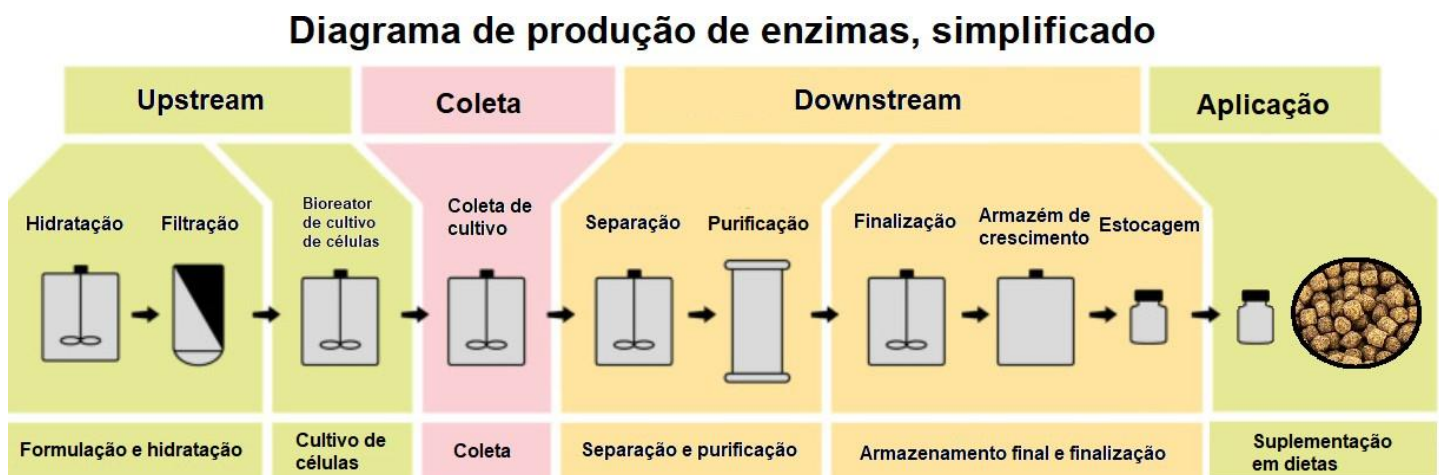
1.6.3 Produção de fitase

Para a produção e obtenção da enzima fitase, o método mais eficiente e sustentável é através da fermentação. Podendo ser a partir de dois procedimentos distintos, fermentação em estado sólido (FES) ou fermentação em estado semi-sólido (FESS) e fermentação submersa (FS) (Huang; Chen; Tsai, 2018; Shivanna; Venkateswaran, 2014; Tanruean *et al.*, 2021). A produção a partir da fermentação

pode ser dividida em três etapas, a *upstream*, que é o preparo do inóculo e do microrganismo; a fermentação propriamente dita, no reator; e a *downstream*, que é a fase de extração, isolamento e purificação da enzima para comercialização (Perilli *et al.*, 2023). A Figura 16 mostra um fluxograma da produção de fitase.

A síntese da fitase a partir da membrana celular de microrganismos é a forma mais comercialmente utilizada, e apesar da possibilidade da produção de fitase a partir de bactérias e leveduras, os fungos são os mais utilizados, devido principalmente à sua maior estabilidade térmica. Na produção a partir da fermentação sólida a enzima é produzida diretamente sobre um substrato sólido, normalmente em resíduos agrícolas ou substratos naturais baratos (Huang; Chen; Tsaii, 2018; Kumar; Kanwar, 2012). Já na FS o microrganismo é cultivado em um estado líquido rico em nutrientes, para assim estimular a produção de enzimas, que são excretadas no meio líquido (LIMA, 2018). Na FS as principais fitases produzidas são de bactérias e leveduras, com a possibilidade da utilização de alguns fungos, porém para esses recomenda-se a utilização da FES (Lima, 2018).

Figura 16 - Fluxograma produção da enzima fitase,



Fonte: Adaptado de Clapp; Castan; Lindskog (2018)

1.6.3.1 Fermentação em estado sólido (FES)

A fermentação em estado sólido é o processo em que os microrganismos crescem em um material em estado sólido, com pouca ou na ausência de água livre, porém com umidade suficiente para o crescimento eficiente dos microrganismos.

Como substrato desse processo, resíduos agrícolas, como cereais e grãos além de recursos naturais de baixo custo podem ser utilizados. As bactérias e leveduras crescem se aderindo na superfície do substrato, já fungos filamentosos têm capacidade de penetrar no material sólido. (Awad *et al.*, 2014; Rizwanuddin *et al.*, 2023).

Os substratos são responsáveis por fornecer carbono e fontes de energia para crescimento do microrganismo. Esses substratos podem ser divididos de três formas: os que apresentam amido como fonte de carbono, como por exemplo a batata, arroz, mandioca e milho; celulose ou lignina como fonte de carbono principal, nesse grupo estão inclusos recursos florestais, como madeira e palha; e os substratos que apresentam açúcares solúveis como fonte de carbono, podendo citar as forragens e polpas de frutas (Paris, 2008).

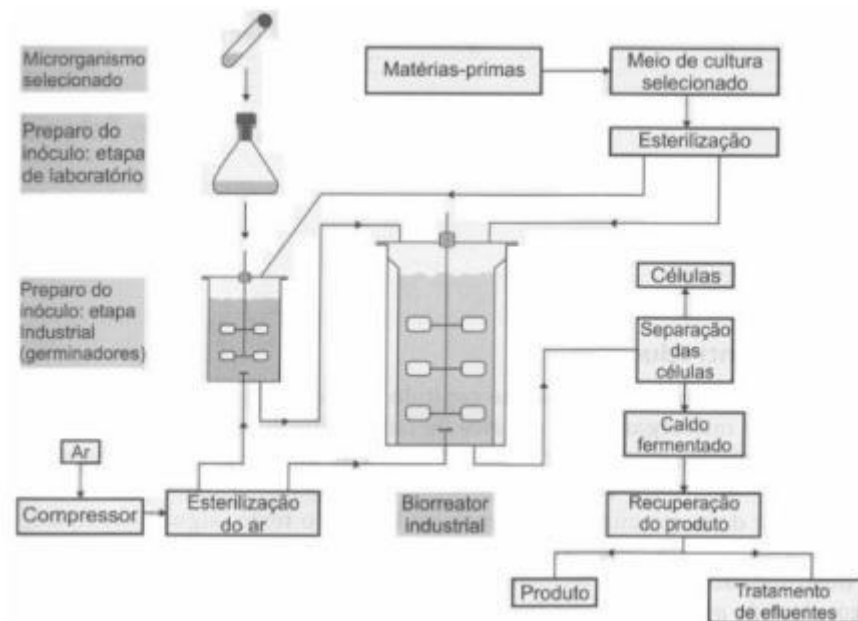
Inicialmente a FES era limitada, e a produção em grande escala utilizando essa fermentação era difícil, devido principalmente à sua incapacidade de padronizar os processos, e a dificuldade do controle da temperatura, que com seu aumento ocorre a desnaturação das enzimas (Ravindran; Jaiswal, 2016). Com os avanços tecnológicos, a aeração junto com uma membrana permeável para impedir a evaporação passou a ser utilizada, de forma que o vapor escapa e mantém o substrato seco, resultando em uma produção uniforme e rápida (Ito *et al.*, 2011)

1.6.3.1.1 Etapas da Fermentação em estado sólido (FES)

Para a produção de fitase a partir da FES inicialmente deve-se realizar o *upstream*, processo de preparo do reator, cultivo do microrganismo e pré-tratamento do substrato a ser utilizado com o objetivo de aumentar a disponibilidade dos nutrientes para os microrganismos e reduzir o tamanho dos componentes (Perilli *et al.*, 2023). No entanto essa etapa deve ser planejada cuidadosamente, o pré-tratamento deve ter um custo equilibrado com o valor final do produto. Os processos de *upstream* estão ilustrados com mais detalhes na Figura 17. A segunda etapa é a hidrólise, já no reator, de nutrientes poliméricos, como polissacarídeos e proteínas, para crescimento e consequentemente produção das enzimas, os microrganismos fazem a utilização desses nutrientes, a fermentação propriamente dita. Na FES a agitação do reator para a manutenção dos microrganismos pode ser ocasional ou

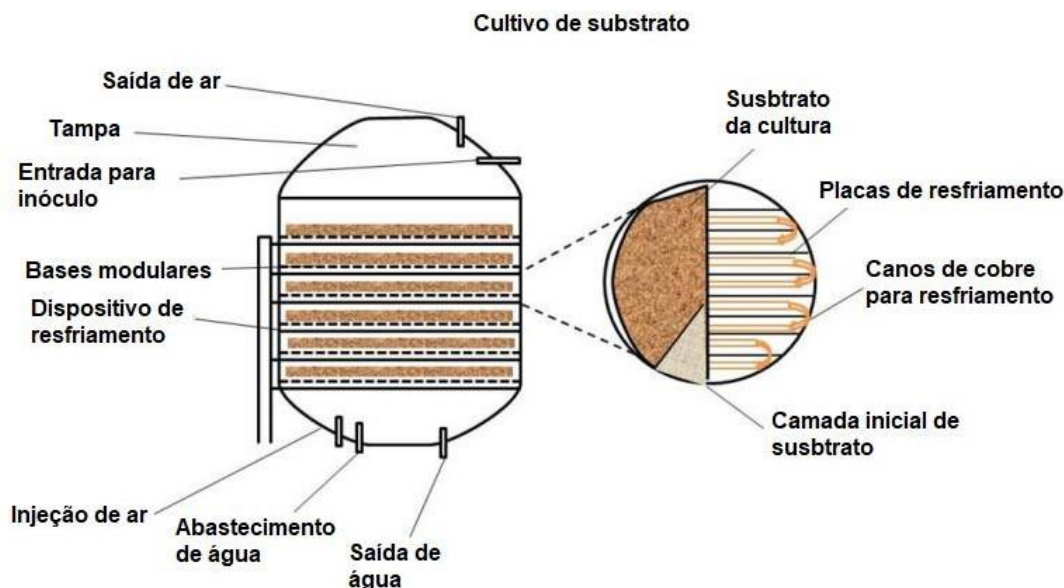
contínua, agitação mecânica ou em colunas com líquido. Outros parâmetros como pH e temperatura devem ser monitorados com a utilização de sensores adequados (Lizardi-Jiménez; Hernández-Martínez, 2017; Parmar *et al.*, 2019; Ravindran; Jaiswal, 2016). A Figura 18 mostra um diagrama de um reator para fermentação em estado sólido.

Figura 17 - Processos *upstream* para produção de enzimas.



Fonte: SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2021. v. 2

Figura 18 - Esquema de uma fermentação em estado sólido utilizando resíduos florestais para formação de enzimas.



Fonte: RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K. Microbial enzyme production using lignocellulosic food industry wastes as feedstock: A review. **Bioengineering**, v. 3, n. 4, 1 dez. 2016.

1.6.3.1.2 Vantagens da fermentação em estado sólido

A ausência da água proporciona um ambiente com maior controle de contaminação, bem como uma menor formação de espuma, levando a menor produção de efluentes, o que reduz a contaminação ao meio ambiente. Na FES a enzima pode facilmente ser extraída com água, sendo um processo mais fácil, rápido, barato e oferecendo uma alta produtividade volumétrica e melhor rendimento da produção de enzimas. Ademais, há a possibilidade de utilizar resíduos insolúveis, como resíduos agroindustriais, proporcionando maior valor agregado a esses resíduos (Bhargav *et al.*, 2008; Lima, 2018; Parmar *et al.*, 2019; Ravindran; Jaiswal, 2016).

1.6.3.1.3 Desvantagens da fermentação em estado sólido

Devido à falta de água durante o processo há uma menor utilização dos nutrientes e baixa produção de biomassa. Sendo difícil de controlar o nível da umidade, já parâmetros como pH, temperatura e oxigênio precisam de um controle extremamente precisos. O reator deve estar em constante agitação para controle dos parâmetros, porém isso pode levar a danificação de micélios, retardando o

crescimento. Um outro ponto também é a necessidade de um pré-tratamento dos substratos, o que pode aumentar o custo final de produção (Bhargav *et al.*, 2008; Lima, 2018; Ravindran; Jaiswal, 2016)

1.6.3.2 Fermentação submersa (FS)

A fermentação submersa é o método mais utilizado para produção de enzimas em grande escala, necessitando de reatores com grande volume. A FS envolve um meio líquido dentro do reator, e o crescimento do microrganismo ocorre no meio da cultura que está em agitação. O meio líquido auxilia na manutenção do pH, da temperatura, aeração e agitação do reator. Sendo assim, a FS é ideal para a fermentação aeróbica, uma vez que as bolhas de ar no líquido produzidas pela agitação, fornecem oxigênio para o processo (Lima, 2018; Ravindran; Jaiswal, 2016).

Sendo assim, a FS tem a capacidade de manter um ambiente homogêneo, tornando os parâmetros do processo mais fáceis de controlar, fornecendo melhor otimização e distribuição uniforme dos nutrientes. A FS não é um processo tão econômico igual a FES devido à necessidade de grandes equipamentos (Ravindran; Jaiswal, 2016).

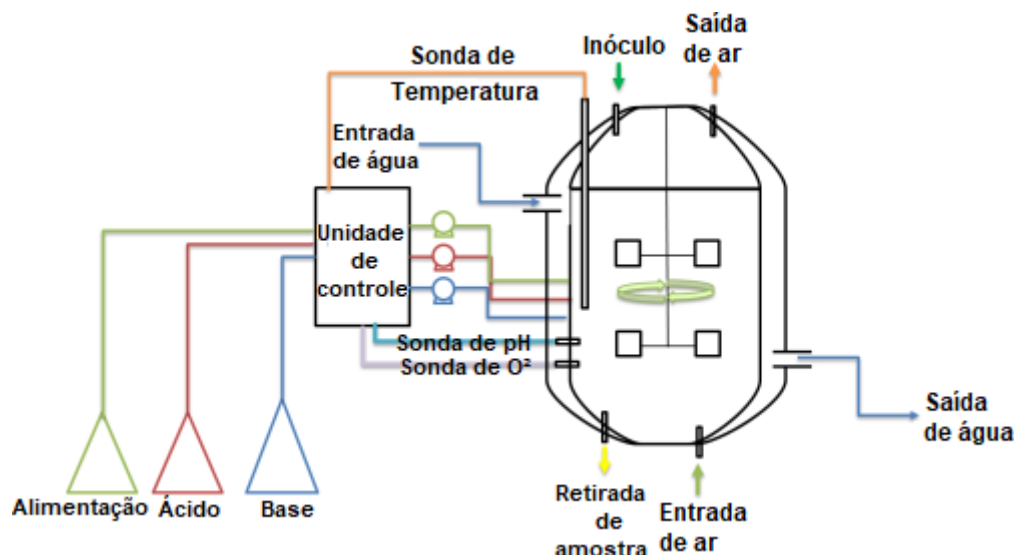
1.6.3.2.1 Etapas da fermentação submersa

A FS inicia com um processo de *upstream*, onde é realizado o cultivo do microrganismo que será usado como pré-inóculo até a fase de crescimento. Após isso os microrganismos são transferidos para fermentadores com o meio de cultivo específico para a produção de fitase, após o período de crescimento, o conteúdo é transferido para o fermentador principal. Os fermentadores possuem serpentinas responsáveis pelo aquecimento e resfriamento, bem como sensores de pH, temperatura, oxigênio e espuma (Orlandelli *et al.*, 2012; Ravindran; Jaiswal, 2016).

Após a fermentação o próximo procedimento é o *downstream*, com o objetivo de recuperar a enzima produzida, as separando e purificando. Os fungos são separados através da filtração, já as bactérias necessitam de um processo de filtração

mais avançado (Orlandelli *et al.*, 2012; Ravindran; Jaiswal, 2016). A Figura 19 apresenta um esquema de processo de produção por FS.

Figura 19 - Esquema da fermentação submersa utilizando resíduos florestais para formação de enzimas.



Fonte: RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K. Microbial enzyme production using lignocellulosic food industry wastes as feedstock: A review. **Bioengineering**, v. 3, n. 4, 1 dez. 2016.

1.6.3.2.2 Vantagens da fermentação submersa

A maior vantagem da FS é a possibilidade de sua utilização para produção em larga escala, devido a garantia da homogeneidade do meio bem como um melhor controle dos parâmetros físico-químicos. Permitindo assim aumentar a produtividade e a eficiência dos processos, permitindo um maior nível de produção. Um outro fato é que a FS possui uma melhor absorção e aproveitamento dos nutrientes, melhor recuperação dos metabólitos e redução na possibilidade de degradar o produto (Castro; Junior, 2010; Perilli *et al.*, 2023).

1.6.3.2.3 Desvantagens da fermentação submersa

A FS é um processo mais custoso quando comparado ao FES, necessitando de mais energia, equipamentos maiores e mais caros, bem como maiores custos durante o processo. Devido ao elevado nível de líquido, esse processo torna-se

prejudicial ao meio ambiente em função da liberação de grande volume de efluentes, sendo necessário possuir um sistema apropriado para tratamento, aumentando o custo final da operação (Doriya *et al.*, 2016).

1.6.4 Aspectos da fitase comercial

Devido à instabilidade da fitase em altas temperaturas (Tabela 2), ela deve passar por um manejo adequado para evitar sua destruição. A fitase deve ser adicionada pós-peletização ou pós-tratamento, pois processos de peletização (>80°C) e extrusão (180°) inativam e destroem a enzima (Cao *et al.*, 2007; Priya *et al.*, 2023).

A fitase está disponível comercialmente em três formas, podendo ser incluída em dietas para peixes na forma de pó, granulada ou líquida. Atualmente, a forma líquida vem sendo utilizada cada vez mais devido a sua maior capacidade de se manter termicamente estável em temperaturas maiores (Pontes *et al.*, 2021). Um estudo realizado por Pontes *et al.* (2019) com tilápias do Nilo suplementando fitase de 1500 e 3000 FTU/kg nas formas granulada, no pré processamento, e líquida após a extrusão, demonstrou que a forma líquida apresentou uma eficiência superior nos dois níveis, concluindo que a forma líquida pode ser adicionada em menores níveis obtendo uma melhor eficiência enzimática.

1.6.5 Aplicações da fitase na dieta de peixes

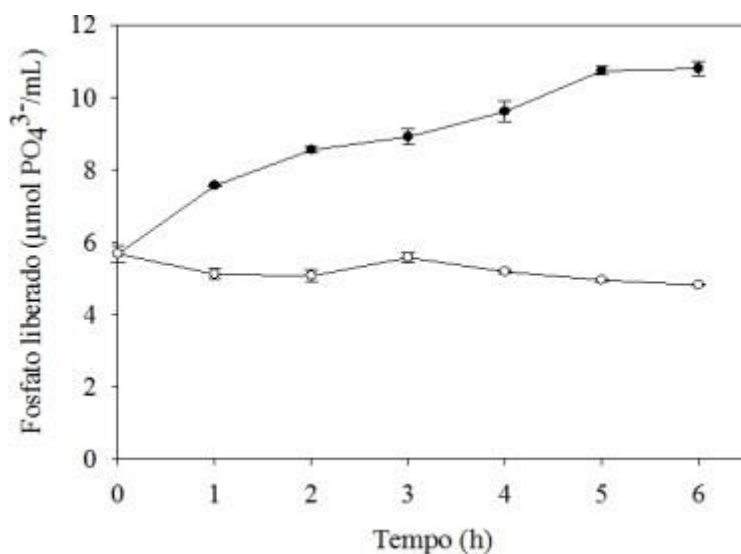
Com a crescente expansão da piscicultura, a substituição da farinha de peixe tornou-se uma preocupação, devido à instabilidade de seu preço bem como a competição com outros segmentos tais como aves, suínos e pets (Hardy, 2010). Uma alternativa encontrada foi a inclusão de ingredientes de origem vegetal, pela maior disponibilidade e menor custo, principalmente o farelo de soja, devido a seu alto valor proteico e bom balanço de aminoácidos (Castillo; Gatlin, 2015; Hodar *et al.*, 2020). Pelo fato do farelo de soja ser mais oneroso do que outras fontes proteicas, ele passou a ser substituído totalmente ou parcialmente por outros ingredientes mais baratos, como farelo de girassol (Hlophe-Ginindza *et al.*, 2015) e mandioca (Wallace; Murray; Little, 2016). Mesmo sendo viável a inclusão de ingredientes vegetais nas dietas de

peixes, os fatores antinutricionais presentes nos mesmos reduzem seu valor nutricional, indisponibilizando energia e nutrientes (Kumar; Sinha, 2018).

A adição da fitase apresenta resultados positivos em reduzir os efeitos causados pelos fatores antinutricionais, hidrolisando o fitato e liberando o fósforo ligado aos ingredientes. Além disso a fitase também é responsável por aumentar a biodisponibilidade de cálcio, magnésio, proteínas e lipídios (Kumar; Sinha, 2018). A figura 20 mostra a comparação da inclusão da fitase sobre a liberação do fosfato complexado. Como consequência a fitase melhora o crescimento dos peixes e reduz a excreção de P e N para o meio externo, diminuindo a poluição ambiental (Maas *et al.*, 2021; Pontes *et al.*, 2021).

O entendimento dos efeitos da fitase em peixes ainda não é de total compreensão, isso se deve a diferenças entre as espécies produzidas na piscicultura, algo que não acontece com outros animais monogástricos como suínos e aves. Os peixes possuem diferenças fisiológicas e anatômicas além de hábitos alimentares distintos, o que pode diferenciar os efeitos da fitase nesses animais. Além disso há aspectos que afetam os efeitos e eficiência, como o nível e fonte de mineral na dieta, a fonte de fitase, forma de aplicação e nível de suplementação. O que resulta em vários níveis diferentes de recomendação de fitase (El-Hack *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2010; Lemos; Tacon, 2015). A Tabela 3 mostra alguns níveis de recomendação encontrados na literatura.

Figura 20 - Comparação da liberação de fosfato com hidrólise enzimática (●) e sem inclusão de fitase (○).



Fonte: MONTEIRO, P. S. *et al.* Otimização da produção, caracterização e avaliação da fitase de *Rhizopus stolonifer* na hidrólise de fitato em ração animal. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 18, p. 117–132, 2012.

Tabela 3 - Níveis recomendados e origem de fitase utilizada em dietas para diferentes espécies de peixes.

Referência	Espécie	Origem	Nível (FTU/kg)
Akpoilih <i>et al.</i> , 2023	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	1000
Von Danwitz <i>et al.</i> , 2016	<i>Psetta máxima</i>	<i>Aspergillus niger</i>	1000 e 2000
Pontes <i>et al.</i> , 2021	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	1500
Biswas <i>et al.</i> , 2019	<i>Pagrus major</i>	<i>Aspergillus niger</i>	2000
Sardar <i>et al.</i> , 2007	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	500
Rodrigues <i>et al.</i> , 2023	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	1500 e 2000
Verlhac-Trichet <i>et al.</i> , 2014	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2000
Hussain <i>et al.</i> , 2015	<i>Labeo rohita</i>	<i>Buttiauxella</i> sp	750
Chu <i>et al.</i> , 2016	<i>Myxocyprinus asiaticus</i>	<i>Pedobacter</i> sp	1500
Morales <i>et al.</i> , 2015	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Escherichia coli</i>	4000

Fonte: O autor

A suplementação de fitase na piscicultura já é amplamente utilizada para otimizar o crescimento e melhorar taxas de conversão e eficiência alimentar (Khaled, 2019; Rodrigues *et al.*, 2023), melhorar o aproveitamento e disponibilidade de

proteína, energia (Hussain *et al.*, 2015), minerais como P (Biswas *et al.*, 2019) e N, alguns aminoácidos essenciais e não essenciais, além de reduzir o impacto ambiental causado pela liberação de P e N para o meio aquático (Maas *et al.*, 2018; Nakamura *et al.*, 2022; Pontes *et al.*, 2021). Espera-se um maior potencial de melhoria da digestibilidade e crescimento em peixes que recebem dieta com menor carga nutricional, ou seja, de menor digestibilidade (Maas *et al.*, 2020b).

1.6.5.1 Fitase na digestibilidade de nutrientes em peixes

Devido as diferenças nas espécies de peixes, pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de encontrar o melhor nível de suplementação para determinada espécie bem como compreender os efeitos da fitase na digestibilidade de nutrientes e energia. Conforme evidenciado na Tabela 4, já é comprovado os efeitos positivos da fitase nos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia. Com a quebra do complexo fitato-proteína há maior atividade de proteases endógenas sobre o alimento, proporcionando uma maior biodisponibilidade dessas proteínas dietéticas para o peixe; aumentando o CDA da proteína e dos aminoácidos essenciais e não essenciais (Biswas *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2013; Pontes *et al.*, 2021; Selle *et al.*, 2012).

A ação da fitase beneficia a digestibilidade dos minerais, que ficam disponíveis com a hidrólise do fitato, afetando principalmente o P, Ca, Zn, Mg e Mn. Há diversos estudos comprovando a eficiência da fitase para melhorar o CDA do Ca e P em carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*) (Liu *et al.*, 2013); Ca, P, Zn, e Mg em trutas arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Morales *et al.*, 2015; Verlhac-Trichet *et al.*, 2014) e Ca, P, Zn, Mg, Mn e Fe em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Nakamura *et al.*, 2022; Pontes *et al.*, 2021).

A fitase também proporciona um aumento da digestibilidade da energia (Rodrigues *et al.*, 2023), o que está associado com a liberação do complexo formado entre amido e fitato, assim o peixe consegue aumentar a absorção de amido e utilizá-lo para a obtenção de energia (Nakamura *et al.*, 2022). O aumento do CDA da energia também ocorre devido a maior atividade da amilase endógena sobre o amido, pois o

Ca utilizado como cofator para produção de amilase não será complexado com o fitato e aumentará a produção da amilase (Kumar *et al.*, 2020).

Apesar de haver controvérsias sobre a existência de lipofitinas em peixes (Kumar *et al.*, 2012), a adição de fitase proporcionou aumento da digestibilidade de lipídeos totais em carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*), (Liu *et al.*, 2013) o que sugere que a presença de fitase hidrolisou o complexo formado com os lipídeos, tornando-os mais disponíveis para digestão. Corroborando com esses dados, Shahzad *et al.* (2021), em experimento com carpa comum (*Cyprinus carpio*) utilizando dietas suplementadas com fitase encontrou valores superiores de CDA para extrato etéreo em peixes que receberam dietas com presença da enzima.

1.6.5.2 Efeitos da fitase no desempenho

A suplementação de fitase em dietas a base de ingredientes vegetais para peixes leva a quebra do fitato e consequentemente maior disponibilidade de nutrientes antes complexados e indisponíveis, melhorando o valor nutricional da dieta. O maior aproveitamento dos nutrientes resulta em menor consumo, visto que sua exigência nutricional será atendida mais facilmente, melhorando sua conversão e eficiência alimentar, levando a otimização dos parâmetros de crescimento (Tabela 4).

A inclusão de 3000 FTU/kg de fitase em rações para tilápias do Nilo proporcionou aumento do ganho de peso e melhor conversão alimentar, bem como melhor taxa de eficiência proteica (Adeoye *et al.*, 2016). Resultados semelhantes foram encontrados para carpa comum (*Cyprinus carpio*), onde a suplementação de 950 FTU/kg de fitase foi responsável por melhorar taxas de crescimento e conversão alimentar (Shahzad *et al.*, 2021).

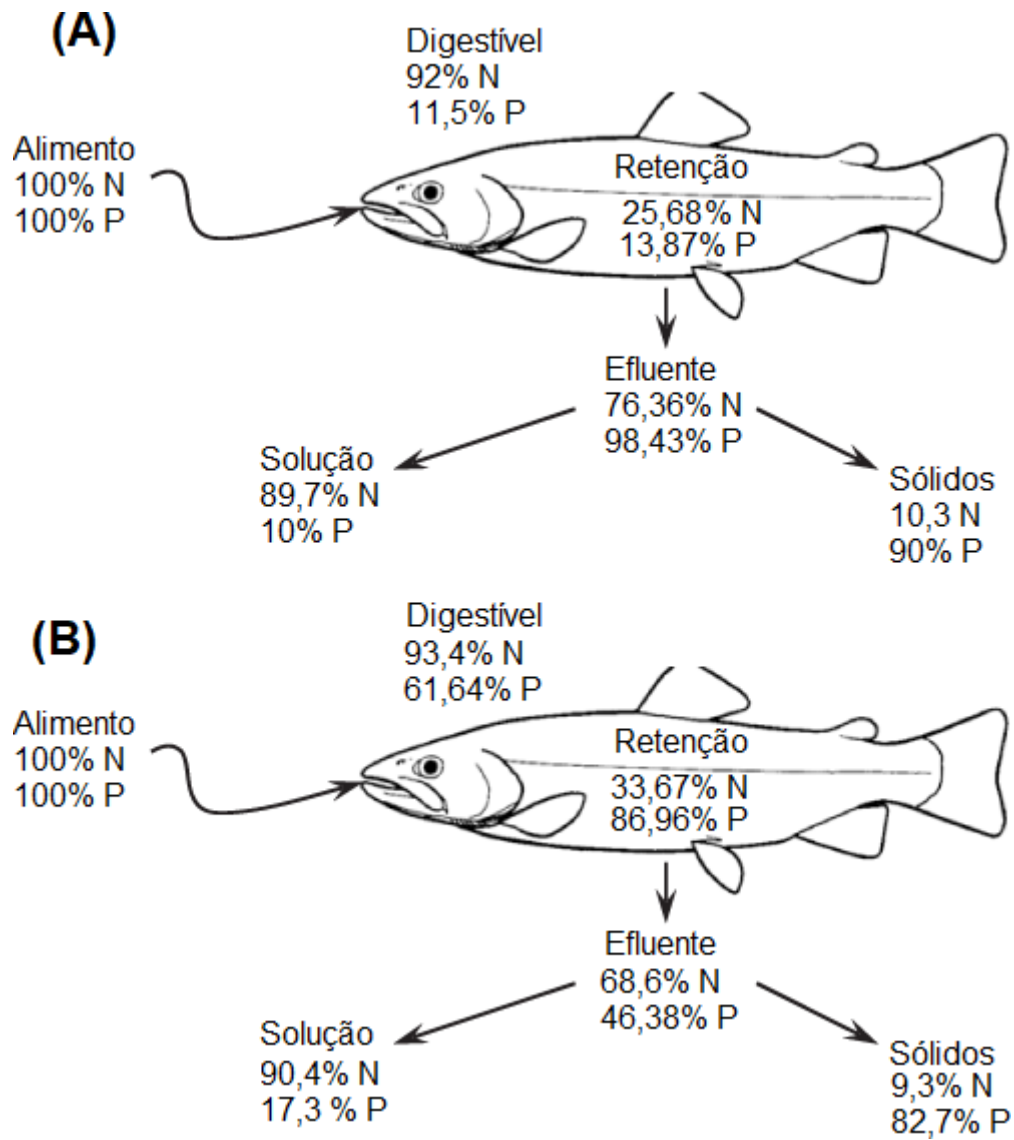
1.6.5.3 Sustentabilidade ambiental

As dietas para peixes podem ser potencialmente impactantes, em razão de seu elevado teor proteico e suplementação de fontes inorgânicas de P, devido à baixa disponibilidade de P nos ingredientes vegetais (Maas *et al.*, 2020b). Um estudo realizado por Pontes *et al.*, (2021) com a adição de fitase para *Oreochromis niloticus*

(tilápia do Nilo) demonstrou a eficiência da fitase em reduzir os efluentes aquícolas de P e N, aumentando sua retenção e reduzindo os efeitos negativos causados no ambiente aquático (Figura 21).

Assim, a fitase se mostra uma importante ferramenta para aumentar a sustentabilidade ambiental das criações de peixes, reduzindo os impactos causados pela excreção de P e compostos nitrogenados no ambiente aquático. Do ponto de vista ambiental, a inclusão de fitase também é responsável pela redução da utilização de reservas naturais não renováveis de P e Ca (Maas *et al.*, 2020b; Selle *et al.*, 2012)

Figura 21 - Comparativo da excreção e retenção de P e N pelas tilápias do Nilo alimentadas com dietas a base de ingredientes vegetais, sem (A) e com (B) inclusão de 1500 FTU/kg de fitase



Fonte: Adaptado de Pontes *et al.*, 2021.

Tabela 4 - Suplementação de fitase sobre o desempenho, a biodisponibilidade de minerais e digestibilidade de nutrientes em dietas para peixes.

(continua)

Espécie/Peso	Composição vegetal da dieta	Fonte de fitase e forma de aplicação	Nível suplementação (FTU/kg)	Resultados ¹	Referência
<i>Colossoma macropomum</i> (tambaqui) – 70g	Farelo de soja (40%); nozes (14,6%); e de leucena (10%); milho (37%). PB: 43,4%	NE ² ; Adicionado à mistura.	4000	Melhoria CDA LT (7%), PB (8,5%). GP (12%), CA (12,4%).	Nwanna; Oishi; Pereira-Filho (2008)
<i>Ctenopharyngodon idella</i> (carpa-capim) – 20,92g	Farelo de soja (35%) e de algodão (18%), colza (22%), trigo (17%). PB: 36,61%	<i>Pedobacter</i> sp.; Pulverização	1500	Melhoria CDA PB (12%), LT (65,8%), P (>100%) e Ca (9,6%)	Liu <i>et al.</i> (2013)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (truta arco-íris) – 41,7g	Soja (21%) farelo de girassol (10%) colza (10%); trigo (22,7%). PB: 38,3%	<i>Aspergillus oryzae</i> ; Pulverização	2000	Melhoria CDA P (43%)	Verlhac-Trichet <i>et al.</i> (2014)

(continuação)

Espécie/Peso	Composição vegetal da dieta	Fonte de fitase e forma de aplicação	Nível suplementação (FTU/kg)	Resultados	Referência
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (truta arco-íris) – 41,4g	Proteína de soja (16%); farelo de colza (16%); e de girassol (14%); trigo (23%). PB: 39,8%	<i>Aspergillus oryzae</i> ; Pulverização	2000	Melhoria CDA P (100%)	Verlhac-Trichet <i>et al.</i> (2014)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (truta arco-íris) – 120g	Proteína de soja (37%); girassol (20%). PB: 43,03%	<i>Escherichia coli</i> ; Pulverização	4000	Melhoria CDA: Ca (>100%), P (93%), Zn (59%), Mg (39%); e fitato (>100%). GP (8%); CA (6%)	Morales <i>et al.</i> (2015)
<i>Clarias gariepinus</i> (bagre africano) – 25,29g	Farelo de soja (5,9%); farelo de feijão (17,6%); torta de amendoim (23,5%); milho (24%). PB: 39,98%	<i>Aspergillus niger</i> Pulverização	2000	GP (19,6%), CA (11,2%), TCE (10,9%) e de EP (10,4%). Melhor CDA de PB (7%) e P (22,1%). Lucro (10,63%).	Orisasona <i>et al.</i> (2017)

(continuação)

Espécie/Peso	Composição vegetal da dieta	Fonte de fitase e forma de aplicação	Nível suplementação (FTU/kg)	Resultados	Referência
<i>Pangasius hypothalamus</i> (panga) – 1,81g	Farelo de soja (20%); farelo de milho (16%); farelo de arroz (12%); farinha de trigo (17%). PB: 30,29%	<i>Aspergillus niger</i> ; Adicionado à mistura.	300	Melhoria CDA da PB (9%) e P (5%); e EA (29%)	Rachmawati; Samidjan (2018)
<i>Labeo rohita</i> (carpa rohu) – 3,4g	Farelo de girassol (15%); farinha de trigo (10%); arroz (16%) PB: 32,43%	NE ² Pulverização	1000	GP (16%), CA (12,7%) e TCE (28,3%). Melhor CDA PB (3,5%), EB (6,1%), P (10,7%), Ca (18,7%), Zn (>100%), Mn (>100%), Fe (85,9%) e K (76,7%).	Bano; Afzal (2018)
<i>Salmo salar</i> L. (salmão do Atlântico) – 243g	Proteína de soja (30%); glúten de trigo (20%); fava (12%); glúten de milho (10%); farelo de girassol (5%). PB: 52,9%	<i>Aspergillus oryzae</i> ; Pulverização	2800	Controle positivo (suplementa P): degradação fitato (>100%) e CDA P (26%). Controle negativo: degradação fitato (>100%) e CDA P (45%)	Greiling <i>et al.</i> (2019)

					(conclusão)
Espécie/Peso	Composição vegetal da dieta	Fonte de fitase e forma de aplicação	Nível suplementação (FTU/kg)	Resultados	Referência
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo) – 36g	Farelo de soja (33%); farelo de trigo (17,3); farinha de trigo (15%); milho (13,6%); farelo de arroz (10%); glúten de milho (8%). PB: 32,03%	<i>Aspergillus niger</i> ; Pulverização	1500	Melhoria CDA EB (4%), PB (2%); Ca (>100%), P (>100%), Zn (43%), Mg (32%), Mn (49%). Retenção de P (>100%) e N (7%); reduz excreção de P (62%) e N (27%)	Pontes <i>et al.</i> (2021)
<i>Cyprinus carpio</i> (carpa comum) – 5,63g	Farinha de trigo (16%); glúten de milho (13%), arroz (7,5%). PB: 31,56%	NE ² ; Pulverização	950	GP (54,8%) e CA (27,63%). CDA PB (39,2%), EE (42%) e EB (39%)	Shahzad <i>et al.</i> (2021)
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo) – 57,48g	Farelo de soja (60%); milho (24%); farelo de arroz (12%). PB: 34,25%	<i>Aspergillus oryzae</i> ; Pulverização	2000	Melhoria GP (13%); CA (14%); CDA EB (12%) e PB (5%)	Rodrigues <i>et al.</i> (2023)

Fonte: O autor. ¹CDA: coeficiente de digestibilidade aparente; LT: lipídios totais; PB: proteína bruta; GP: ganho de peso; CA: conversão alimentar; P: fósforo; Ca: cálcio; Zn: zinco; Mg: magnésio; TCE: taxa de crescimento específico; EA: eficiência alimentar; EP: eficiência proteica; EB: energia bruta; Fe: ferro; K: potássio; Mn: manganês; N: nitrogênio; EE: extrato etéreo. ²NE: Não especificado

1.7 COMBINAÇÃO DE ENZIMAS

A combinação de enzimas exógenas vem sendo estudada e aplicada cada vez mais, devido a ação combinada das enzimas potencializarem seus efeitos. Além do fitato há outros fatores antinutricionais que reduzem o aproveitamento de nutrientes, como por exemplo os polissacarídeos não amiláceos, presentes em todos os ingredientes de origem vegetal. A utilização de outras enzimas exógenas como as carboidrases reduzem esses efeitos negativos, de forma que uma combinação com a fitase pode proporcionar resultados ainda melhores (Maas *et al.*, 2021; Nakamura *et al.*, 2022).

Assim, se busca estudar cada vez mais níveis recomendados e efeitos da combinação enzimática na dieta de peixes. Fitases podem ser combinadas com carboidrases e proteases para promover efeito sinérgico entre as enzimas, alcançando resultados superiores à sua utilização isolada. A Tabela 5 mostra algumas pesquisas utilizando a combinação de enzimas e seus resultados.

1.7.1 Fitases e carboidrases

1.7.1.1 Polissacarídeos não amiláceos

A presença de carboidratos em dietas para tilápias do Nilo é extremamente desejável, visto que a sua inclusão é uma estratégia para diminuir os custos da dieta, substituindo ingrediente proteicos mais onerosos e adicionando fontes de energia não proteicas mais baratas (Kamalam; Medale; Panserat, 2017). O aproveitamento desses carboidratos depende do hábito e características fisiológicas, estudos já demonstraram que a tilápia do Nilo é capaz de utilizar o carboidrato como principal fonte de energia, porém, devido à presença de carboidratos mais complexos na estrutura dos ingredientes vegetais da ração, sua utilização é muito prejudicada, devido principalmente a presença de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) (Maas *et al.*, 2020a).

Os PNAs estão presentes em todos os ingredientes de origem vegetal, e fazem parte da região não digestível das fibras. Os PNAs se definem como uma cadeia de açúcares ligados por ligações betas, as quais tornam os polissacarídeos não

digeríveis, constituindo os principais componentes da parede celular de células vegetais, incluindo celulose, hemicelulose e pectinas (Rizzoli, 2009; Sinha *et al.*, 2011)

Na nutrição de não ruminantes, os PNAs são classificados de acordo com sua solubilidade, os solúveis sendo a hemicelulose, composta pelos arabinoxilanos e pelos β -glucanos de ligação mista, e a celulose como fração insolúvel. Os PNAs são classificados como fatores antinutricionais, devido a capacidade que possuem de se ligar a moléculas de água, o que resulta num aumento da viscosidade da digesta, impedindo o acesso por outras enzimas digestivas, prejudicando a digestibilidade dos nutrientes e energia (Souza de Brito *et al.*, 2008). Os peixes não produzem enzimas capazes de digerir eficientemente esses PNAs, o que resulta na diminuição da disponibilidade e utilização de nutrientes, interferindo negativamente no desempenho e saúde dos peixes, além de causar prejuízos econômicos (Alemayehu; Geremew; Getahun, 2018). Assim uma ferramenta encontrada para reduzir esses efeitos é a inclusão de carboidrases.

1.7.1.2 Carboidrases

Carboidrases são enzimas que catalisam e reduzem o peso molecular dos carboidratos, gerando oligossacarídeos ou polissacarídeos de menor peso. Cerca de 80% das carboidrases comercializadas são xilanases e β -glucanases, porém há outras de importância, como α -amilases, β -mananases, α -galactosidades e pectinases (Castillo; Gatlin, 2015). A função das carboidrases é a degradação dos PNAs, fazendo a hidrólise dos arabinoxilanos, celulose e β -glucanos, com exceção das α -amilases que atuam sobre o amido. Além disso, as carboidrases melhoram a biodisponibilidade dos minerais e digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta, fazendo com que esses ingredientes ricos em PNAs possuam melhor valor nutricional (Brito, 2019; Maas *et al.*, 2021).

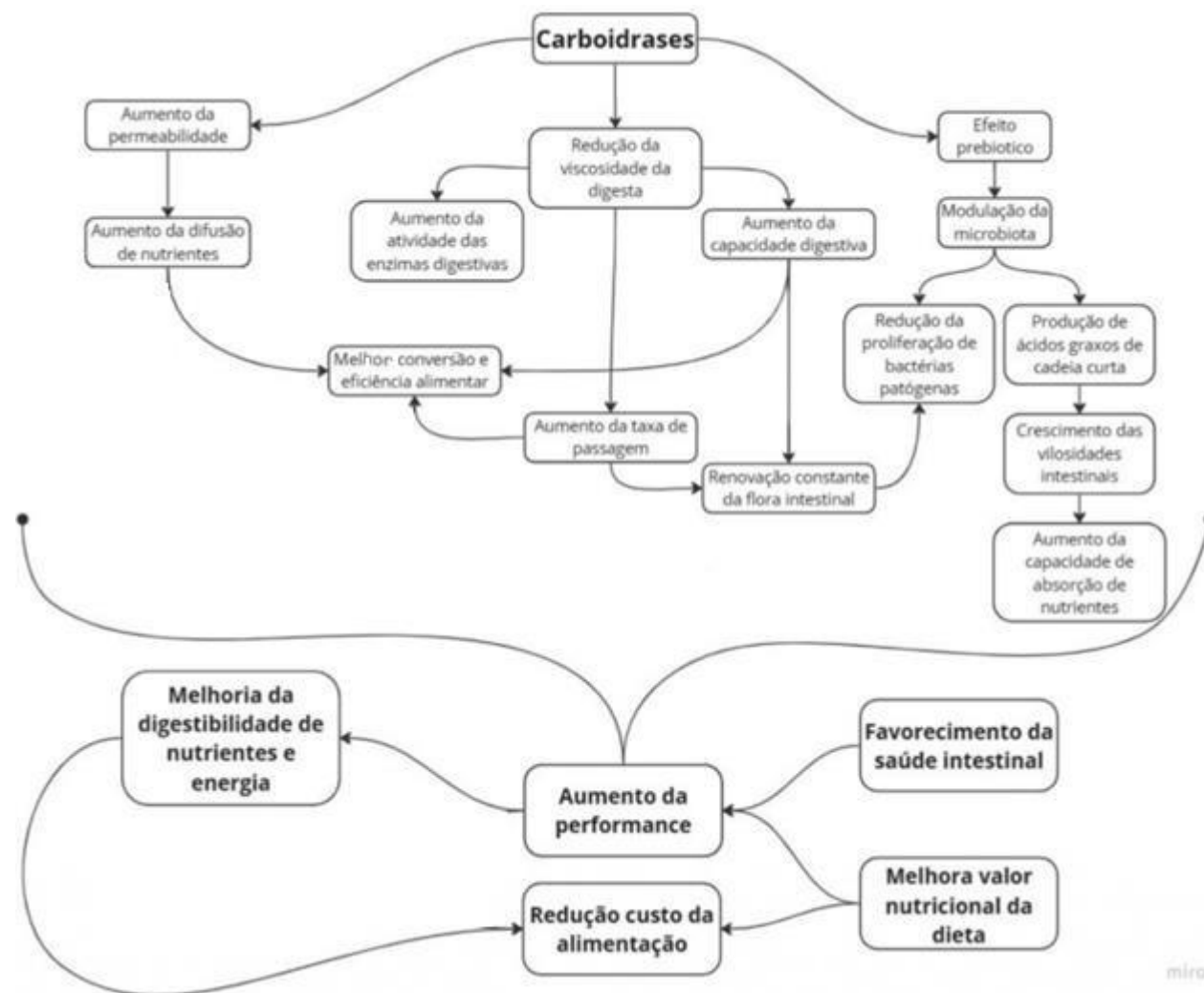
É relatado três formas de ação de carboidrases: redução da viscosidade da digesta, em função da capacidade de retenção de água dos PNAs; aumento da permeabilidade da parede celular e efeito prebiótico. Levando ao aumento da digestibilidade dos nutrientes bem como proporcionando uma melhor saúde intestinal para os peixes, resultando em um melhor desempenho, conforme mostra a Figura 22.

As carboidrases reduzem o grau de polimerização da digesta, diminuindo a sua viscosidade (Maas *et al.*, 2018), a partir disso, as enzimas endógenas digestivas, como proteases, amilases e lipases, conseguem se ligar a sítios ativos agora disponíveis no substrato alimentar, melhorando a atividade digestiva sobre a digesta, aumentando a digestibilidade de glicose, proteínas, amido e lipídios. Além de aumentar a biodisponibilidade de alguns minerais, como resposta indireta; com a hidrólise dos PNAs, o fitato e alguns outros minerais ficam mais disponíveis no lúmen do trato intestinal, melhorando seu aproveitamento pelo peixe (Adeola; Cowieson, 2011; Castillo; Gatlin, 2015)

Carboidrases possuem efeitos positivos na modulação da microbiota. A redução da viscosidade intestinal também melhora a taxa de passagem no intestino, proporcionando uma renovação constante da flora intestinal (Adeola; Cowieson, 2011). Além disso, a ação das carboidrases na quebra dos PNAs resulta em arabinosilo-oligossacarídeos (AXOs), que promove uma ação prebiótica para a microbiota intestinal. A microbiota intestinal é responsável pela produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGC), como o ácido propiônico, acético e butírico, resultando na melhoria da integridade das vilosidades intestinais (Koh *et al.*, 2016; Van Doan *et al.*, 2018) e promovendo efeitos significativos no sistema imunológico, a partir da diferenciação de células T-reguladoras e por meio da inibição da histona deacetilase. Ademais, os inibidores de histona deacetilase podem modular a adesão celular, a produção de citocinas, quimiotaxia e migração de células imunes, todos esses pontos resultam em uma ação antiinflamatória (Montalban-Arques *et al.*, 2015; Xia *et al.*, 2020).

Além disto, a microbiota forma uma camada de proteção em torno do lúmen intestinal, impedindo a adesão de microrganismos patogênicos, pela microbiota ser eficiente naturalmente, ela impede a colonização de outros patógenos no intestino indispondo a energia e assim, inviabilizando o processo de competição (Geremia *et al.*, 2021). A microbiota dos peixes atua no desenvolvimento e maturação do trato gastrointestinal e do sistema imune, além de possuir bactérias com funções de produção de vitaminas e enzimas digestivas, melhorando a digestibilidade da energia e nutrientes (Adeoye *et al.*, 2016a; Hassaan *et al.*, 2019; Xia *et al.*, 2020).

Figura 22 - Formas de ação das carboidrases.



Fonte: O autor

1.7.1.3 Combinação de fitase e carboidrases

A suplementação de fitases em conjunto com carboidrases como, xilanase, β -glucanases, celulases e β -mananases, podem potencializar os efeitos da fitase, neutralizando tanto os efeitos do fitato como dos PNAs, já sendo comprovado o efeito sinérgico entre essas enzimas (Lemos; Tacon, 2015; Maas *et al.*, 2018). Maas *et al.* (2018, 2020, 2021) encontraram efeito sinérgico com a inclusão de fitase e xilanase em dietas para tilápias do Nilo, onde sua combinação proporcionou maior crescimento e bom desempenho no balanço de N, além de maior digestibilidade de energia e nutrientes (Tabela 5).

A combinação de fitase, xilanase e β -glucanase também proporcionou resultados positivos em tilápias do Nilo, o complexo enzimático foi responsável por aumentar os CDA da energia e nutrientes, incluindo alguns aminoácidos e minerais, reduzindo também a excreção de P e N para o ambiente aquático (Nakamura *et al.*, 2022). Em contrapartida, Maas *et al.* (2021) não encontraram resultados significativos de crescimento utilizando a mesma combinação de enzimas.

1.7.2 Fitases e proteases

1.7.2.1 Proteases

As proteases exógenas auxiliam na quebra de macromoléculas de proteínas de difícil digestão, compensando a deficiência de enzimas endógenas (Shi *et al.*, 2016). A suplementação de proteases exógenas tem como objetivo hidrolisar a proteína em peptídeos de baixo peso molecular, peptonas e aminoácidos, tornando-os disponíveis para digestão e absorção (Schneider; Lazzari, 2022). Sendo capaz de melhorar a digestibilidade e absorção da proteína, matéria seca, aminoácidos, lipídios e energia, melhorando a conversão alimentar, ganho de peso e crescimento específico em peixes, além de reduzir o custo da dieta e reduzir os conteúdos de amônia e nitrito na água, melhorando sua qualidade (Saleh *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2016)

Um efeito indireto das proteases exógenas é o aumento da atividade de enzimas endógenas, como a peptidase (Schneider; Lazzari, 2022). Peixes suplementados com proteases apresentam um ganho na saúde intestinal, com vilosidades com maior

altura e área superficial e células caliciformes distribuídas ao longo das vilosidades, melhorando a absorção de nutrientes (Adeoye *et al.*, 2016a). Uma boa morfologia intestinal e um bom desenvolvimento de suas estruturas leva a um aumento da eficiência da atividade das proteases, o que aumenta a absorção e aproveitamento dos nutrientes (E. Abd Elnabi *et al.*, 2020; Saleh *et al.*, 2022). A melhora na disponibilidade de aminoácidos, como fenilalanina, triptofano, leucina e glutamato induzem a secreção do hormônio colecistocinina (Müller *et al.*, 2022), responsável por inibir a secreção ácida do estômago e estimula a secreção de enzimas endógenas pelo pâncreas (Baldisserotto, 2013).

O uso de proteases exógenas também reduz o custo total da ração (Schneider; Lazzari, 2022), ela é usada como uma alternativa para substituição da farinha de peixe ou do farelo de soja, que são os ingredientes proteicos mais utilizados em rações de peixe, devido a sua qualidade, bom balanço de aminoácidos e boa palatabilidade (Yildirim *et al.*, 2014). No entanto essas fontes de proteína são os ingredientes mais custosos da dieta, como a aquicultura se apresenta em constante crescimento, as proteases são uma forma efetiva de reduzir a utilização desses ingredientes, reduzindo o custo final de produção da ração (Li *et al.*, 2016; Saleh *et al.*, 2022).

1.7.2.2 Combinação de fitase e protease

A combinação entre essas duas enzimas pode melhorar ainda mais os efeitos sobre a proteína dietética, amplificando os efeitos individuais de cada enzima. Com o melhor aproveitamento da proteína, há menor inclusão de ingredientes proteicos que são os mais custosos de uma dieta, além de reduzir a utilização de P inorgânico, devido aos efeitos da fitase.

Li *et al.* (2019) utilizando combinação de fitase e protease em dietas para híbridos de tilápia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) evidenciou menor inclusão de P inorgânico na dieta, bem como melhor aproveitamento da proteína em dietas de origem vegetal, melhorando o crescimento. Apesar disso Yigit *et al.* (2018) suplementando fitase e protease em dietas para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) não encontraram resultados significativos nos parâmetros de crescimento e digestibilidade.

Tabela 5 - Combinação de enzimas e seus efeitos sobre o desempenho, a biodisponibilidade de minerais e digestibilidade de nutrientes em dietas para peixes.

(continua)					
Espécie/Fase	Dieta	Combinação enzimática	Níveis de suplementação	Resultados	Referência
<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i> (tilápia híbrida) - juvenil	Farelo de milho (12,5%); farelo de soja (12,5%); farelo de mandioca (15%); farelo de arroz (20%)	Fitase e xilanase	1500 FTU/kg 250 TXU/kg	Melhorou GP (52,17%), CA (22,6%), TCE (28,6%), CDA da PB (4,8%), EB (9,4%), CHO (21,7%), LT (3,7%), P (>100%) e Zn (6,5%). Melhorou retenção de P (>100%) e N (22,4%).	Wallace; Murray; Little (2016)
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo) - juvenil	Farelo de soja (70%); milho (28%);	Fitase e protease	2000 FTU/kg 1500 TPU/kg	Melhorou CDA PB (4%), EB (19,05%), LT (16%), P (>100%), Ca (>100%), Mg (39%), Mn (>100%)	Novelli et al. (2017)
<i>Labeo rohita</i> (carpa rohu) - alevino	Farelo de arroz (90%)	Fitase e xilanase	500 FTU/kg 1600 TXU/kg	Melhora GP (25,3%), CA (18%), TCE (19,5%) e EP (21,4%).	Ranjan et al. (2017)

(conclusão)

Espécie/Fase	Dieta	Combinação enzimática	Níveis de suplementação	Resultados	Referência
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo) - juvenil	Milho (7%); farelo de soja (10%); trigo (6%); farinha de trigo (20%); farelo de canola (12%); farelo de girassol (12%); DDGS de trigo (12%)	Fitase e xilanase	660 FTU/kg 6596 TXU/kg	Melhorou GP (5,7%) e CA (8,5%), e CDA de carboidratos (12%), PNA (44,66%), P (31%), Ca (>100%) e Mg (22,5%).	Maas <i>et al.</i> (2020b)
<i>Cyprinus carpio</i> (carpa comum) - juvenil	Farelo de soja (30,31%); farelo de trigo (18,8%); farelo de milho (18,8%).	Fitase, xilanase, protease, celulase, α -amilase, pectinase, β -mananase, β -glucanase e lipase	NE ²	Melhorou GP (19,7%), CA (33,2%) e TCE (67,6%)	Mojer (2021)
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo) - juvenil	Farelo de soja (35%); farelo de trigo (25%); farinha de trigo (19%); farelo de arroz (8%); concentrado de soja (6%)	Fitase, xilanase e β -glucanase	1000 FTU/kg 1120 TXU/kg 500 TGU/kg	Melhora EB (15,3%) e CDA Ca (>100%), P (>100%), Zn (>100%), Mn (>100%), Mg (>100%). Menor excreção P (57,7%) N (27%)	Nakamura <i>et al.</i> (2022)

Fonte: O autor. ¹GP: ganho de peso; CA: conversão alimentar; TCE: taxa de crescimento específico; CDA: coeficiente de digestibilidade aparente; PB: proteína bruta; EB: energia bruta; CHO: carboidratos; LT: lipídios totais; Zn: zinco; P: fósforo; Ca: cálcio; Mn: manganês; Mg: magnésio; N: nitrogênio; EP: eficiência proteica; PNA: polissacarídeos não amiláceos. ²NE: Não especificado.

1.8 POR QUE INTEGRAR OS RESULTADOS DO USO DE FITASE POR MEIO DA META-ANÁLISE?

A meta-análise é utilizada para reunir e combinar diversos resultados de diferentes estudos produzindo e quantificando novos resultados, buscando reunir e explicar analítica e estatisticamente a diversidade de dados discrepantes encontrados em inúmeros experimentos, porém com um denominador em comum entre eles. Podendo até mesmo, fornecer dados mais precisos com a obtenção de uma nova resposta, gerando uma nova e confiável hipótese (Lovatto *et al.*, 2007; Roscoe; Jenkins, 2005).

Devido a possíveis desafios para realização de experimentos no campo, como dificuldades de espaço, falta de investimentos econômicos, a meta-análise tem se mostrado uma importante ferramenta para melhor otimização dos dados de pesquisas ao redor do mundo (Lovatto *et al.*, 2007; Roscoe; Jenkins, 2005).

A utilização de fitase na dieta de peixes já vem sendo estudada desde o início dos anos 2000, ao longo dos anos novas formas comerciais de fitase foram disponibilizadas ao mercado, com novas tecnologias para melhor otimizar os resultados. Devido a esse rápido desenvolvimento da fitase há algumas lacunas com relação aos níveis ideais de inclusão, tipo de fitase e efeitos nas fases de desenvolvimento dos peixes. Em função disso, uma revisão sistemática com uso da meta-análise pode integrar o grande número de estudos publicados com diferenças experimentais e com um denominador em comum, a inclusão de fitase.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, F. *et al.* Low digestibility of phytate phosphorus, their impacts on the environment, and phytase opportunity in the poultry industry. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 10, p. 9469–9479, 1 abr. 2019.
- ACQUISTAPACE, I. M. *et al.* Insights to the Structural Basis for the Stereospecificity of the Escherichia coli Phytase, AppA. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, 1 jun. 2022.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 3198–3218, 2011.
- ADEOYE, A. A. *et al.* Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. **Aquaculture**, v. 463, p. 61–70, 2016a.
- ADEOYE, A. A. *et al.* Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 133–143, 1 maio 2016b.
- ADESHINA, I. *et al.* Interactive effects of dietary phosphorus and microbial phytase on growth performance, intestinal morphometry, and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on low-fishmeal diets. **Aquaculture**, v. 563, 30 jan. 2023.
- AKPOILIH, B. U. *et al.* Evaluating the inclusion of phytase sources to phosphorus-free diets for GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*): Growth performance, intestinal morphometry, immune-antioxidant responses, and phosphorus utilization. **Animal Feed Science and Technology**, v. 303, p. 115678, set. 2023.
- ALEMAYEHU, T. A.; GEREMEW, A.; GETAHUN, A. The role of functional feed additives in tilapia nutrition. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 09, n. 02, 2018.
- ALMEIDA, M. V. DE *et al.* A Cascata dos Fosfoinosítídeos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p. 105–111, 2003.
- ASHKAN, Z. *et al.* Immobilization of enzymes on nanoinorganic support materials: An update. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 168, p. 708–721, 31 jan. 2021.
- AWAD, G. E. A. *et al.* Optimization of phytase production by *Penicillium purpurogenum* GE1 under solid state fermentation by using Box-Behnken design. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 1, p. 81–88, jan. 2014.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2013. v. 1
- BALWANI, I.; CHAKRAVARTY, K.; GAUR, S. Role of phytase producing microorganisms towards agricultural sustainability. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 12, p. 23–29, 1 out. 2017.

- BANO, N.; AFZAL, M. Synchronized effect of citric acid and phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of *Labeo rohita*. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 2, p. 786–792, 1 abr. 2018.
- BARRETO, C. M. G. *et al.* Suplementação de Fitase em Dietas para Tilápias: Revisão de Literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 34, 2020.
- BARUAH, K. *et al.* Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 2, p. 109–120, fev. 2007.
- BHARGAV, S. *et al.* Solid-state Fermentation: An Overview. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 22, n. 1, p. 49–70, 2008.
- BISWAS, A. *et al.* Optimum fish meal replacement by soy protein concentrate from soymilk and phytase supplementation in diet of red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, v. 506, p. 51–59, 15 maio 2019.
- BOYD, C. E. *et al.* Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 3, p. 578–633, 1 jun. 2020.
- BRITO, J. M. DE. **Associação de xilanase e b-glucanase sobre a digestibilidade, desempenho produtivo, histologia intestinal e microbioma de tilápias do Nilo**. Tese (Doutorado)—Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2019.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M. DA; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 259–272, 2005.
- CAO, L. *et al.* Application of microbial phytase in fish feed. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 497–507, 5 mar. 2007.
- CASTILLO, S.; GATLIN, D. M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. **Aquaculture**, v. 435, p. 286–292, 2015.
- CASTRO, A. M. DE; JUNIOR, N. P. Produção, propriedades e aplicações de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181–188, 2010.
- CHEN, C. C. *et al.* Current Progresses in Phytase Research: Three-Dimensional Structure and Protein Engineering. **ChemBioEng Reviews**, v. 2, n. 2, p. 76–86, 1 abr. 2015.
- CHU, Z. J. *et al.* Partial replacement of fish meal by soybean meal with or without methionine and phytase supplement in diets for juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 989–996, 1 out. 2016.
- CLAPP, K. P.; CASTAN, A.; LINDSKOG, E. K. Upstream Processing Equipment. **Biopharmaceutical Processing: Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes**, p. 457–476, 1 jan. 2018.
- COWIESON, A. J. *et al.* Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 222, p. 180–189, 1 dez. 2016.

DIAS, J.; SANTIGOSA, E. Maximising performance and phosphorus utilisation of warm water fish through phytase supplementation. **Aquaculture**, v. 569, 15 maio 2023.

DORIYA, K. *et al.* Solid-State Fermentation vs Submerged Fermentation for the Production of L-Asparaginase. Em: **Advances in Food and Nutrition Research**. Massachusetts: Academic Press Inc., 2016. v. 78p. 115–135.

E. ABD ELNABI, H. *et al.* Effect of Protease and Prebiotic mixtures with Free Fishmeal Diets on Physiological Responses and Histological Examinations of the Red Tilapia, *Oreochromis* sp. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 24, n. 2, p. 361–378, 1 abr. 2020.

EL-HACK, M. E. A. *et al.* The uses of microbial phytase as a feed additive in poultry nutrition - A review. **Annals of Animal Science**, v. 18, n. 3, p. 639–658, 1 jul. 2018.

EL-SAYED, A.-F. **Tilapia Culture: Second Edition**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2019.

ENGELN, A. *et al.* Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v. 77, n. 3, p. 760–764, 1994.

FAO. **Oreochromis niloticus. Cultured Aquatic Species Information Programme**. Disponível em:

<https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/oreochromis_niloticus?lang=en>.

Acesso em: 29 abr. 2022a.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: FAO, 2022b.

FEBA-RODRIGUEZ, R. *et al.* Structure of a cereal purple acid phytase provides new insights to phytate degradation in plants. **Plant Communications**, v. 3, p. 1–10, 2022.

FERNANDES, P. Enzymes in food processing: A condensed overview on strategies for better biocatalysts. **Enzyme Research**, v. 2010, p. 1–19, 2010.

FLORES, A. J. F. **Caracterização Funcional do Regulon do Fator Sigma Alternativo Ecfl de Xanthomonas citri subsp. citri**. Mestrado—Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2022.

GEREMIA, D. A. A. *et al.* O papel do intestino na homeostase imunológica / The role of the intestine in immunological homeostasis. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55181–55191, 2021.

GODOY, M. G. *et al.* Agricultural Residues as Animal Feed: Protein Enrichment and Detoxification Using Solid-State Fermentation. Em: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Amsterdã: Elsevier, 2018. p. 235–256.

GOMES, V. D. S. *et al.* Utilização de enzimas exógenas na nutrição de peixes - Revisão de Literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 4, p. 259–264, 2016.

GREILING, A. M. *et al.* Effects of phosphate and phytase supplementation on phytate degradation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v. 503, p. 467–474, 30 mar. 2019.

GREINER, R.; KONIETZNY, U. Phytases: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed. Em: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Eds.). **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. 2. ed. Wallingford: CAB International, 2011. p. 96–128.

GRUNINGER, R. J.; BRENT SELINGER, L.; MOSIMANN, S. C. Effect of ionic strength and oxidation on the P-loop conformation of the protein tyrosine phosphatase-like phytase, PhyAsr. **FEBS Journal**, v. 275, n. 15, p. 3783–3792, ago. 2008.

GUPTA, R. K.; GANGOLIYA, S. S.; SINGH, N. K. Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 676–684, 1 fev. 2015.

HA, N.-C. *et al.* Crystal structures of a novel, thermostable phytase in partially and fully calcium-loaded states. **Nature America Inc**, v. 7, n. 2, p. 147–153, 2000.

HANDA, V. *et al.* Biotechnological applications of microbial phytase and phytic acid in food and feed industries. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, 1 maio 2020.

HARDY, R. W. Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 5, p. 770–776, abr. 2010.

HASSAAN, M. S. *et al.* Exogenous xylanase improves growth, protein digestibility and digestive enzymes activities in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed different ratios of fish meal to sunflower meal. **Aquaculture Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 841–853, 2019.

HLOPHE-GININDZA, S. N. *et al.* The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 12, p. 3777–3787, 2015.

HODAR, A. R. *et al.* Fish meal and fish oil replacement for alternative sources: a review. **Journal of Experimental Zoology India**, v. 23. January, p. 13–21, 2020.

HUANG, S.-J.; CHEN, C.-H.; TSAI, S.-Y. Phytase Production by *Grifola Frondosa* and Its Application in Inositol-Enriched Solid-State Fermentation Brown Rice. **ETP International Journal of Food Engineering**, p. 263–267, 2018.

HUSSAIN, S. M. *et al.* Role of phytase supplementation in improving nutrient digestibility in *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) ingerlings fed on cottonseed meal-based diet. **Indian Journal of Fisheries**, v. 62, n. 1, p. 78–84, 2015.

INFORMATION on EC 3.1.3.8 - 3-phytase. **BRENDA**, 2023. Disponível em: <<https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.8>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023

INFORMATION on EC 3.1.3.26 - 4-phytase. **BRENDA**, 2023. Disponível em: <<https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.26>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023.

INFORMATION on EC 3.1.3.72 - 5-phytase. **BRENDA**, 2023. Disponível em: <<https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.72>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023.

ITO, K. *et al.* Uniform culture in solid-state fermentation with fungi and its efficient enzyme production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 111, n. 3, p. 300–305, mar. 2011.

JAIN, J.; SAPNA; SINGH, B. Characteristics and biotechnological applications of bacterial phytases. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 2, p. 159–169, 1 fev. 2016.

JATUWONG, K. *et al.* Bioprocess for Production, Characteristics, and Biotechnological Applications of Fungal Phytases. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 14 fev. 2020.

KAMALAM, B. S.; MEDALE, F.; PANSERAT, S. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. **Aquaculture**, v. 467, p. 3–27, 20 jan. 2017.

KAUR, P.; VOHRA, A.; SATYANARAYANA, T. Developments in Fungal Phytase Research: Characteristics and Multifarious Applications. Em: **Progress in Mycology**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2021. p. 73–109.

KHALED, A. A. Influence of Supplemental Microbial Phytase on Growth Performance Parameters and Expression of immune-related Genes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Middle East Journal of Agriculture Research**, 2019.

KOH, A. *et al.* From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332–1345, 2 jun. 2016.

KOKKINIDIS, M.; GLYKOS, N. M.; FADOULOGLOU, V. E. Protein flexibility and enzymatic catalysis. Em: **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**. Massachusetts: Academic Press Inc., 2012. v. 87p. 181–218.

KRYUKOV, V. S.; GLEBOVA, I. V.; ZINOVIEV, S. V. Reevaluation of Phytase Action Mechanism in Animal Nutrition. **Biochemistry (Moscow)**, v. 86, p. S152–S165, 1 jan. 2021.

KUMAR, A. *et al.* Phytic acid content may affect starch digestibility and glycemic index value of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 4, p. 1598–1607, 15 mar. 2020.

KUMAR, A.; KANWAR, S. S. Lipase Production in Solid-State Fermentation (SSF): Recent Developments and Biotechnological Applications. **Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology**, v. 6, n. 1, p. 13–27, 2012.

KUMAR, V. *et al.* Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2010, p. 945–959, 2010.

KUMAR, V. *et al.* Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 335–364, jun. 2012.

KUMAR, V. *et al.* β -Propeller phytases: Diversity, catalytic attributes, current developments and potential biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 595–609, 1 maio 2017.

- KUMAR, V.; SINHA, A. K. General aspects of phytases. Em: **Enzymes in Human and Animal Nutrition: Principles and Perspectives**. Amsterdã: Elsevier Inc., 2018. p. 53–72.
- LEI, X. G. *et al.* Phytase, a new life for an “old” enzyme. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 1, p. 283–309, 2013.
- LEMOS, D.; TACON, A. G. J. Use of phytases in fish and shrimp feeds: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 9, n. 3, p. 266–282, 1 set. 2015.
- LI, R. *et al.* Biochemical properties, molecular characterizations, functions, and application perspectives of phytases. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 4, n. 2, p. 195–209, 2010.
- LI, X. Q. *et al.* Effects of temperature and feed processing on protease activity and dietary protease on growths of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 1283–1292, 1 dez. 2016.
- LI, X. Q. *et al.* Dietary phytase and protease improved growth and nutrient utilization in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) fed low phosphorus and fishmeal-free diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 46–55, 1 fev. 2019.
- LIMA, G. S. **Superdosagem de fitase para frangos de corte e poedeiras leves**. Doutorado—Areia: Universidade Federal da Paraíba, 2018.
- LIU, L. W. *et al.* Apparent digestibility of nutrients in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) diet supplemented with graded levels of neutral phytase using pretreatment and spraying methods. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 91–99, fev. 2013.
- LIU, Z.; CHENG, F.; ZHANG, G. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 49–52, jan. 2005.
- LIZARDI-JIMÉNEZ, M. A.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, R. Solid state fermentation (SSF): diversity of applications to valorize waste and biomass. **Biotech**, v. 7, n. 44, 1 maio 2017.
- LOVATTO, P. A. *et al.* Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. p. 285–294, 2007.
- MAAS, R. M. *et al.* The effect of phytase, xylanase and their combination on growth performance and nutrient utilization in Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 487, p. 7–14, 2018.
- MAAS, R. M. *et al.* Carbohydrate utilisation by tilapia: a meta-analytical approach. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 3, p. 1851–1866, 2020a.
- MAAS, R. M. *et al.* Effect of exogenous enzymes (phytase and xylanase) supplementation on nutrient digestibility and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different quality diets. **Aquaculture**, v. 529, 15 dez. 2020b.

MAAS, R. M. *et al.* Effects and interactions between phytase, xylanase and β -glucanase on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia. **Animal Feed Science and Technology**, v. 271, n. May 2020, p. 114767, 2021.

MAAS, R. M.; VERDEGEM, M. C. J.; SCHRAMA, J. W. Effect of non-starch polysaccharide composition and enzyme supplementation on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 25, n. 3, p. 622–632, 1 jun. 2018.

MCCOLLUM, E. V.; HART, E. B. On the occurrence of a phytin-splitting enzyme in animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 4, p. 497–500, 1908.

MCKINNEY, K. *et al.* Optimization of phytase production from *Escherichia coli* by altering solid-state fermentation conditions. **Fermentation**, v. 1, n. 1, p. 13–23, 1 dez. 2015.

MOJER, A. Effects of Some Dietary Additives on Growth Performance and Feed Efficiency of Young Common Carp *Cyprinus carpio*. **Biological and Applied Environmental Research**, v. 5, n. 1, p. 98–113, 15 jan. 2021.

MONTALBAN-ARQUES, A. *et al.* Selective manipulation of the gut microbiota improves immune status in vertebrates. **Frontiers in Immunology**, v. 6, p. 1–14, 2015.

MONTEIRO, P. S. *et al.* Otimização da produção, caracterização e avaliação da fitase de *Rhizopus stolonifer* na hidrólise de fitato em ração animal. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 18, p. 117–132, 2012.

MORALES, G. A. *et al.* Phytase and sodium diformate supplementation in a plant-based diet improves protein and mineral utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 1301–1311, 1 dez. 2015.

Mossimann, 2008 (Faltou)

MÜLLER, M. *et al.* CCK and GLP-1 release in response to proteinogenic amino acids using a small intestine ex vivo model in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 100, n. 4, 1 abr. 2022.

NAKAMURA, J. S. T. *et al.* Top-sprayed mixture of phytase, xylanase and β -glucanase enhances energy and nutrient matrix in all-vegetable diets for Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 7, p. 2851–2864, 1 maio 2022.

NAVES, L. DE P. *et al.* Effect of pH and Temperature on the Activity of Phytase Products Used in Broiler Nutrition. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 14, n. 3, p. 159–232, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2022.

NOVELLI, P. K. *et al.* Enzymes produced by agro-industrial co-products enhance digestible values for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): A significant animal feeding alternative. **Aquaculture**, v. 481, p. 1–7, 1 dez. 2017.

NWANNA, L. C.; OISHI, C. A.; PEREIRA-FILHO, M. Use of phytase to improve the digestibility of alternative feed ingredients by Amazon tambaqui, *Colossoma macropomum*. **ScienceAsia**, v. 34, n. 4, p. 353–360, 2008.

OAKLEY, A. J. The structure of *Aspergillus niger* phytase PhyA in complex with a phytate mimetic. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 397, n. 4, p. 745–749, jul. 2010.

OBERSTEINER, M. *et al.* The phosphorus trilemma. **Nature Geoscience**, v. 6, n. 11, p. 897–898, 2013.

OH, B. C. *et al.* Calcium-dependent catalytic activity of a novel phytase from *Bacillus amyloliquefaciens* DS11. **Biochemistry**, v. 40, n. 32, p. 9669–9676, 14 ago. 2001.

ORISASONA, O. *et al.* Effect of phytase supplementation on the growth, mineral composition and phosphorus digestibility of african catfish (*Clarias garipenus*) juveniles. **Animal Research International**, v. 14, n. 2, p. 2741–2750, 2017.

ORLANDELLI, R. C. *et al.* Enzimas de interesse industrial: Produção por fungos e aplicações. **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 3, p. 97–109, 2012.

PARIS, L. D. DE. **Produção de enzimas fúngicas por fermentação em estado sólido das sojas orgânica, transgênia e convencional**. Mestrado—Toledo: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2008.

PARMAR, A. B. *et al.* A solid state fermentation, its role in animal nutrition: A review. **International Journal of Chemical Studies**, v. 7, n. 3, p. 4626–4633, 2019.

PEIXE BR. **Anuário 2024 Peixe BR da Piscicultura**. São Paulo: Peixe BR, 2024.

PERILLI, A. L. DE O. *et al.* **Produção de enzimas para catálise na indústria de biodiesel e etanol de segunda geração via fermentação submersa a partir de resíduos agroindustriais**. TCC (Graduação)—Santa Maria: Universidade Estadual de Santa Maria, 2023.

PINHEIRO, B.; GOMES, C.; BALTAZAR, A. L. O Fitato e a Biodisponibilidade de Ferro nas Leguminosas. **Acta Portuguesa de Nutrição**, 30 set. 2020.

PONTES, T. C. *et al.* Evaluation of the Phytase Enzyme in granulated and liquid forms for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Archivos de Zootecnia**, v. 68, n. 261, p. 158–163, 2019.

PONTES, T. C. *et al.* Top-sprayed phytase enhances the digestibility of energy, protein, amino acids and minerals, and reduces phosphorus output in Nile tilapia fed all-vegetable diets. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 12, p. 6562–6570, 1 dez. 2021.

PRIYA *et al.* Role of microbial phytases in improving fish health. **Reviews in Aquaculture**, p. 1–21, 2023.

PUPPALA, K. R. *et al.* Performance of *Aspergillus niger* (NCIM 563) phytase based feed supplement for broiler growth and phosphorus excretion. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 31, 1 jan. 2021.

RACHMAWATI, D.; SAMIDJAN, I. Effect of Phytase Enzyme on Growth, Nutrient Digestibility and Survival Rate of Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) Fingerlings. **Pertanika J. Trop. Agric. Sci**, v. 41, n. 2, p. 865–878, 2018.

RANJAN, A. *et al.* Xylanase and Phytase Supplementation in the De-oiled Rice Bran (DORB) based Diet Improves the Growth Performance of *Labeo rohita*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 6, p. 1493–1503, 20 jun. 2017.

RANJAN, B.; SINGH, B.; SATYANARAYANA, T. Characteristics of Recombinant Phytase (rSt-Phy) of the Thermophilic mold *Sporotrichum thermophile* and its applicability in dephytinizing foods. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 177, n. 8, p. 1753–1766, 1 dez. 2015.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K. Microbial enzyme production using lignocellulosic food industry wastes as feedstock: A review. **Bioengineering**, v. 3, n. 4, 1 dez. 2016.

RIZWANUDDIN, S. *et al.* Microbial phytase: Their sources, production, and role in the enhancement of nutritional aspects of food and feed additives. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 12, 1 jun. 2023.

RIZZOLI, P. W. **Desempenho, incremento de energia e digestibilidade de nutrientes em rações de frangos de corte contendo enzimas exógenas**. Tese de Doutorado—São Paulo: Universidade de São Paulo, 2009.

RODRIGUES, E. J. D. *et al.* Phytase Supplementation under Commercially Intensive Rearing Conditions: Impacts on Nile Tilapia Growth Performance and Nutrient Digestibility. **Animals**, v. 13, n. 1, 1 jan. 2023.

ROSCOE, D. D.; JENKINS, S. A Meta-Analysis of Campaign Contributions' Impact on Roll Call Voting. **Social Science Quarterly**, v. 86, n. 1, 2005.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos**. 4. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017. v. 1

ROTTA, M. A. **Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura**. 1. ed. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. v. 1

SALEH, E. S. E. *et al.* Effect of dietary protease supplementation on growth performance, water quality, blood parameters and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 106, n. 2, p. 419–428, 1 mar. 2022.

SAPNA; SINGH, B. Purification and characterization of a protease-resistant phytase of *Aspergillus oryzae* SBS50 whose properties make it exceptionally useful as a feed supplement. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 458–466, 1 out. 2017.

SARDAR, P. *et al.* Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, body compositions and haemato-biochemical profiles

of *Cyprinus carpio* (L.) fingerlings fed soyprotein-based diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, p. 444–456, 2007.

SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2021. v. 2

SCHNEIDER, T. L. S.; LAZZARI, R. Nutritional implications of exogenous proteases in fish feeding. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 28, n. 1, p. 70–93, 5 maio 2022.

SCHOMBURG, I. *et al.* The BRENDA enzyme information system—From a database to an expert system. **Journal of Biotechnology**, v. 261, p. 194–206, 10 nov. 2017.

SELLE, P. H. *et al.* Protein – phytate interactions in pig and poultry nutrition : a reappraisal. **Nutrition Research Reviews**, v. 25, n. 1, p. 1–17, 2012.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. **Microbial phytase in poultry nutrition. Animal Feed Science and Technology**, 15 maio 2007.

SHAHZAD, M. M. *et al.* Effectiveness of phytase pre-treatment on growth performance, nutrient. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, p. 1944–1953, 2021.

SHARMA, R. *et al.* A novel protein tyrosine phosphatase like phytase from *Lactobacillus fermentum* NKN51: Cloning, characterization and application in mineral release for food technology applications. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 1000–1008, 1 fev. 2018.

SHI, Z. *et al.* Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture**, v. 460, p. 37–44, 1 jul. 2016.

SHIVANNA, G. B.; VENKATESWARAN, G. Phytase production by *Aspergillus niger* CFR 335 and *Aspergillus ficuum* SGA 01 through submerged and solid-state fermentation. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

SINGH, B.; SATYANARAYANA, T. Fungal phytases: Characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 646–660, 2015.

SINHA, A. K. *et al.* Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition - A review. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1409–1426, 15 ago. 2011.

SONG, H. Y.; EL SHEIKHA, A. F.; HU, D. M. The positive impacts of microbial phytase on its nutritional applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, p. 553–562, 1 abr. 2019.

SOUZA DE BRITO, M. *et al.* Polissacarídeos Não Amiláceos Na Nutrição De Monogástricos – Revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, n. 24, p. 111–117, 2008.

SUZUKI, U.; YOSHIMURA, K.; TAKAISHI, M. About the enzyme “phytase”, which splits “anhydro-oxy-methylene diphosphoric acid”. **Bulletin of the College of Agriculture**, v. 7, p. 503–512, 1907.

TANRUEAN, K. *et al.* Valorization of Lignocellulosic wastes to produce phytase and cellulolytic enzymes from a thermophilic fungus, *Thermoascus aurantiacus* SL16W, under semi-solid state fermentation. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 4, 1 abr. 2021.

VAN DOAN, H. *et al.* Effects of corncob derived xylooligosaccharide on innate immune response, disease resistance, and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Aquaculture**, v. 495, p. 786–793, 1 out. 2018.

VERLHAC-TRICHET, V. *et al.* The Efficacy of a Novel Microbial 6-Phytase Expressed in *Aspergillus oryzae* on the Performance and Phosphorus Utilization of Cold- and Warm-Water Fish: Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, and Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 4, p. 367–379, 2014.

VON DANWITZ, A. *et al.* Dietary phytase supplementation in rapeseed protein based diets influences growth performance, digestibility and nutrient utilisation in turbot (*Psetta maxima* L.). **Aquaculture**, v. 450, p. 405–411, 1 jan. 2016.

WALLACE, J. L.; MURRAY, F. J.; LITTLE, D. C. Effects of β -xylanase and 6-phytase on digestibility, trace mineral utilisation and growth in juvenile red tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) x *O. mossambicus* (Peters, 1852), fed declining fishmeal diets. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, n. 3, p. 471–479, 2016.

XIA, Y. *et al.* Effects of dietary probiotic supplementation on the growth, gut health and disease resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Animal Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 69–79, 1 mar. 2020.

YAO, M. Z. *et al.* Effect of metals ions on thermostable alkaline phytase from *Bacillus subtilis* YCJS isolated from soybean rhizosphere soil. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 1123–1131, 2014.

YIGIT, N. O. *et al.* Effect of protease and phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum) fed soybean meal-based diets. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 29–32, 19 nov. 2018.

YILDIRIM, Ö. *et al.* Effects of Replacing Fish Meal with Peanut Meal (*Arachis hypogaea*) on Growth, Feed Utilization and Body Composition of Mozambique Tilapia Fries (*Oreochromis mossambicus*). **Pakistan J. Zool**, v. 46, n. 2, p. 497–502, 2014.

YU, P.; CHEN, Y. Purification and characterization of a novel neutral and heat-tolerant phytase from a newly isolated strain *Bacillus nealsonii* ZJ0702. **BMC Biotechnology**, v. 13, 28 set. 2013.

CAPÍTULO 2: ABORDAGEM SISTEMÁTICA E META-ANALÍTICA SOBRE A INCLUSÃO DE FITASE EM DIETAS PARA TILÁPIAS

2.1 INTRODUÇÃO

A utilização da enzima fitase na nutrição de peixes desempenha um papel indispensável na quebra do fitato, um importante fator antinutricional cada vez mais presente nas rações de peixes (Castillo; Gatlin, 2015). Isso se deve ao fato da expansão da produção piscícola brasileira, em especial a tilápia do Nilo, atrelado a busca da redução do custo total de produção com enfoque na alimentação, por representar cerca de 30 a 70% do custo total da produção e a crescente busca por dietas sustentáveis (Hodar *et al.*, 2020).

Assim uma forma encontrada foi a substituição de ingredientes proteicos de origem animal por ingredientes de origem vegetal, de forma que os ingredientes substitutos forneçam proteína para o peixe com menor custo (Hodar *et al.*, 2020). Porém, ingredientes de origem vegetal apresentam em sua composição o fitato, uma reserva de fósforo presente naturalmente na planta (Kumar *et al.*, 2012). Para a nutrição de peixes, o fitato é considerado fator antinutricional, devido à ausência de enzimas endógenas para quebrá-lo. Possui capacidade de indisponibilizar o fósforo presente em sua composição e ainda, possui um grupo ortofosfato ionizado, complexando cátions, como o cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P) tornando-os indisponíveis para utilização, com isso reduz o crescimento e intensifica a excreção de P para o meio externo (Cowieson *et al.*, 2016; Kryukov; Glebova; Zinoviev, 2021; Rizwanuddin *et al.*, 2023).

A suplementação de fitase objetiva catalisar a hidrólise do fitato, reduzindo os efeitos negativos causados por esse fator antinutricional, disponibilizando os nutrientes para os peixes, levando a redução da suplementação do fósforo inorgânico na dieta, devido ao melhor aproveitamento do P presente nos ingredientes de origem vegetal (Kumar; Sinha, 2018). Muitos estudos foram realizados utilizando diferentes fontes e tipos comerciais de fitase além de diferentes níveis de suplementação, demonstrando que a suplementação dessa enzima é responsável por melhorar o crescimento dos peixes, melhor utilização dos nutrientes da dieta, além de reduzir o

impacto ambiental causado pela excreção de P no ambiente aquático (Adeshina *et al.*, 2023; Pontes *et al.*, 2021).

Devido à grande gama de estudos publicados a respeito da suplementação de fitase a partir de diferentes fontes, estruturas e níveis, observa-se ampla diversidade de resultados encontrados (Adeshina *et al.*, 2023; Akpoilih *et al.*, 2023; Maas *et al.*, 2018; Pontes *et al.*, 2021; Rodrigues *et al.*, 2023). A técnica da meta-análise associada a análise sistemática pode ser aplicada como uma ferramenta para integrar os resultados publicados ao longo dos anos. Quando as variáveis medidas são consistentes entre os estudos, a meta-análise é apropriada para análise conjunta dos dados sem a realização de estudos adicionais ou métodos de análise invasivos (Lovatto *et al.*, 2007; Sauvant *et al.*, 2020). Ademais, uma meta-análise pode fornecer uma estimativa mais precisa dos resultados e formular novas hipóteses (Lean *et al.*, 2009).

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar, por meio da meta-análise associada com a análise sistemática, os efeitos da adição da fitase sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes e energia, além da redução de excreção de nutrientes no meio aquático em dietas para tilápias. Com a associação de resultados a campo com a metanálise, pode-se chegar a resultados mais precisos em relação a utilização de fitase para tilápias.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Identificação e seleção de artigos

Para compor a base de dados uma análise sistemática criteriosa foi conduzida. Os estudos selecionados foram encontrados em bases eletrônicas como: Periódicos Capes, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Science Direct, Wiley Online Library, Springer Link e Google Scholar, utilizando a combinação dos termos indexadores “tilápia” e “fitase” ou “enzimas exógenas” e “fitato” ou “fator antinutricional” e “desempenho” e “poluição ambiental”; em português, inglês e espanhol.

Para a busca dos artigos foi utilizado o método de PICO, ou seja, população (peixes e tilápias), intervenção (fitase, enzimas exógenas) e contexto (desempenho, digestibilidade e poluição ambiental). Os estudos foram criteriosamente avaliados sobre a sua qualidade e pertinência quanto aos objetivos pré-definidos. Sendo assim foram selecionados estudos referentes a resultados de experimentos com a utilização de fitase em dietas para tilápias e os efeitos no desempenho, digestibilidade de nutrientes, e respostas ambientais. Trabalhos foram excluídos da base de dados por não estarem adequados aos critérios, sendo eles, estudos com outras espécies de peixes, sistemas de produção não convencionais, experimentos sem dados de desempenho ou digestibilidade ou com resultados apresentados em gráficos, figuras e afins e a literatura cinza foi excluída na base de dados.

O espaço temporal utilizado foi de 23 anos (2000 – 2023), assim, considerando o espaço temporal e estratégias de busca, 101 artigos foram encontrados. Após análise com os critérios pré-definidos, 40 artigos foram considerados elegíveis para compor a base de dados.

2.2.2 Gerenciamento do banco de dados

Após o processo de seleção, os artigos foram incluídos em planilhas eletrônicas Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2019), onde cada linha representou um tratamento e cada coluna uma variável. Essas variáveis consistiam em dados relacionados a informações de aspectos bibliográficos (autor, título, país, continente, idioma, revista e ano de publicação), tratamento (presença de fitase, níveis de inclusão de fitase, inclusão de fósforo inorgânico, presença e níveis de combinações enzimáticas, tipo, fonte e estrutura da fitase), características experimentais (composição e processamento da dieta, presença de desafio alimentar, delineamento experimental, espécie, linhagem, fase de desenvolvimento, peso inicial, número de tratamentos e repetições, número de peixes, período experimental, tipo de aquário, pH e temperatura da água, densidade, tipo de marcador e método de coleta de fezes), resultados de desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo, conversão alimentar, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica), resultados de digestibilidade (nutrientes, minerais, energia e aminoácidos) e balanços de N e P.

Os níveis de fitase foram classificados de 1 a 999 FTU/kg como baixo, de 1000 a 1999 FTU/kg como médio e acima de 2000 FTU/kg como alto. Em relação a fase de desenvolvimento, os peixes foram agrupados em alevinos, menores que 10g, juvenil, de 10 g a 99,99g e adultos acima de 100g.

2.2.3 Caracterização e classificação da base de dados

Baseada nos critérios de seleção e no objetivo desta revisão sistemática, os estudos elegíveis foram classificados a partir de atributos considerados relevantes para a construção da base de dados. Cada artigo foi pontuado individualmente para os parâmetros de interesse. Em vista dos objetivos específicos, duas classificações foram consideradas: geral e digestibilidade. Os seguintes parâmetros foram utilizados para classificação geral:

- A. Delineamento experimental: delineamento inteiramente casualizado = 2 pontos (pts), enquanto estudo não randomizado (ou sem informação no texto) = 1 ponto (pt);
- B. Número tratamentos com fitase *versus* controle: se > 3 vs 1 = 2 pts; se 2 vs 1 = 1 pt;
- C. Número de repetições: $\geq$ a 3 = 2 pts, enquanto estudo com apenas duas repetições (ou sem descrição no texto) = 1 pt;
- D. Comitê de ética animal: estudos aprovados por comitê de ética = 2 pts; quando não aprovado ou a aprovação não foi mencionada, 1 pt;
- E. Tipos de experimentos: desempenho e digestibilidade = 2 pts, apenas desempenho ou digestibilidade 1 pt;
- F. Descrição da fitase utilizada: apresentação de dados técnicos, estruturais e unidades utilizadas da fitase = 2 pts, enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;
- G. Fitase: uso exclusivo de fitase = 2 pts; uso combinado de fitase = 1 pt;
- H. Composição da dieta: apresentação da dieta = 2 pts; enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;
- I. Origem dos ingredientes: dieta a base de alimentos de origem vegetal = 2 pts; dieta com algum ingrediente de origem animal = 1 pt;
- J. Composição proximal da dieta: apresentação da composição dos nutrientes = 2 pts; não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;

- K. Nível de proteína bruta na dieta: se todas as dietas atendem a exigência para a fase de desenvolvimento correspondente (Furuya *et al.*, 2010) = 2 pts; se não atende a exigência = 1 pt;
- L. Fósforo na dieta: apresentação da quantidade de P, e sua quantidade disponível e fítico = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;
- M. Valor de cálcio total: se o Ca na dieta foi identificado = 2pts; se não foi descrito = 1 pt;
- N. Processamento da ração: se extrusada = 2 pts; se peletizada ou não descrito = 1 pt;
- O. Descrição peixe: se descrito tamanho, fase e quantidade = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;
- P. Descrição de parâmetros experimentais: se descrito (tipo de aquário, volume, dias de experimento) = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;
- Q. Qualidade da água: descrição dos parâmetros de qualidade da água = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt;
- R. Sustentabilidade: apresentaram informações ou qualquer menção ao balanço de P ou N = 2 pts; não informado = 1 pt.

Para classificação de artigos com experimentos de digestibilidade os seguintes parâmetros foram utilizados:

- A. Marcador na dieta: se mencionado a utilização de qual marcador utilizado = 2 pts; se não mencionado = 1 pt;
- B. Coleta fezes: se descrito a forma de coleta das fezes = 2 pts; se não descrito = 1 pt;
- C. Período de coleta = se descrito quantos dias realizou a coleta = 2 pts; se não descrito = 1 pt;
- D. Metodologia armazenamento para análises de fezes: se descrito a forma de armazenamento para realização de análises = 2 pts; se não descrito = 1 pt;
- E. Digestibilidade de minerais: se realizada a digestibilidade de outros minerais (além do P) = 2 pts; se não realizado = 1 pt;
- F. Digestibilidade de aminoácidos: se realizada a digestibilidade de aminoácidos = 2 pts; se não realizada = 1 pt;
- G. Descrição do método analítico: se descrito a metodologia utilizada para encontrar o coeficiente de digestibilidade = 2 pts; se não descrito = 1 pt.

2.2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados graficamente para verificar a coerência e distribuição biológica. Foram elaborados gráficos de dispersão e de variação para identificar a disposição dos dados relacionados aos efeitos da fitase. A análise de correlações entre todas as colunas da base de dados foi aplicada para identificar a presença de colinearidade entre variáveis. Os dados foram submetidos a análise de variância e posteriormente os resultados foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. No modelo estatístico principal foram considerados os efeitos dos níveis de fitase, dos artigos. O peso metabólico foi utilizado como fator moderador para reduzir os efeitos causados pela duração dos experimentos e tamanho dos peixes no início de cada estudo.

Adicionalmente, todos os estudos foram avaliados quanto aos efeitos da fitase, sendo integrados em um gráfico *forest plot*, seguindo metodologia proposta por Balduzzi; Rucker; Schwarzer, 2019, elaborados pelo procedimento metafor do Rstudio® 1.4.117. No gráfico cada quadrado representa um estudo com uma linha horizontal que mostra o seu intervalo de confiança (95%). O tamanho do quadrado está associado ao tamanho da amostra. A intersecção do intervalo de confiança com a linha de tendência central (vertical) indica ausência de significância ($P > 0,05$) no resultado para o determinado estudo. O resultado da meta-análise é indicado pelo losango na parte inferior do gráfico (MANCINI *et al.*, 2014). A heterogeneidade (I^2) é descrita como a proporção da variação total de estudos cruzados. Os gráficos foram elaborados pelo procedimento metafor do Rstudio® 1.4.117.

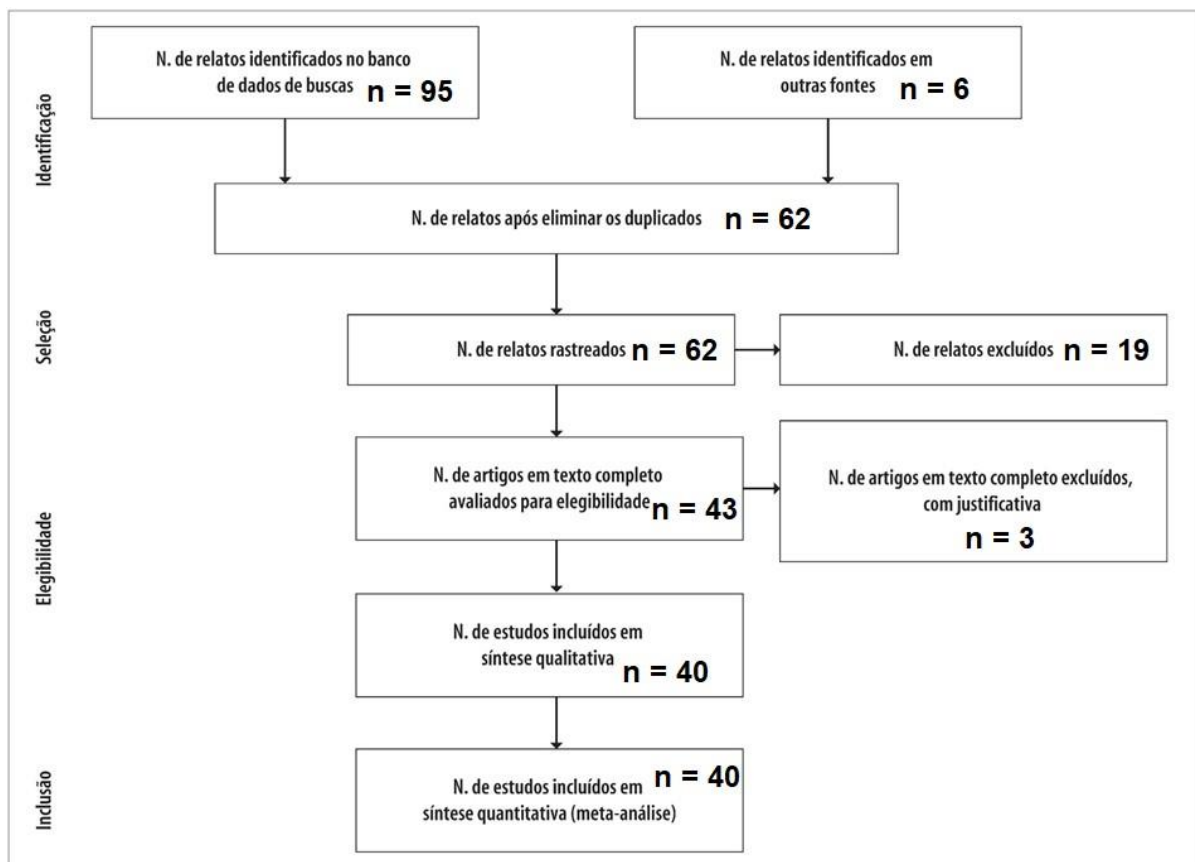
2.3 RESULTADOS

2.3.1 Resultados da busca de literatura

Para seleção de artigos aptos a entrar na base de dados, foi seguido o fluxograma de PRISMA proposto por Moher *et al.* (2020), conforme mostra a Figura 23. Inicialmente foram selecionados 95 artigos pelas principais bases eletrônicas e 6 a partir do Google Scholar. Como consta no fluxograma, 39 artigos foram excluídos por estarem duplicados, ou seja, mais de uma base eletrônica de artigos, restando 62.

Desse número, 19 foram excluídos por não estarem de acordo com os parâmetros de seleção (outro idioma, sem inclusão da fitase, sistema diferente do comercial). E outros três foram removidos por não apresentarem dados de desempenho ou digestibilidade ou apresentarem seus resultados apenas em gráficos, resultando assim, em 40 artigos selecionados para compor o banco de dados.

Figura 23 - Fluxograma PRISMA descrevendo o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fitase em dietas de tilápias.



Fonte: Modificado de Moher *et al.*, 2020.

2.3.2 Descrição da base de dados

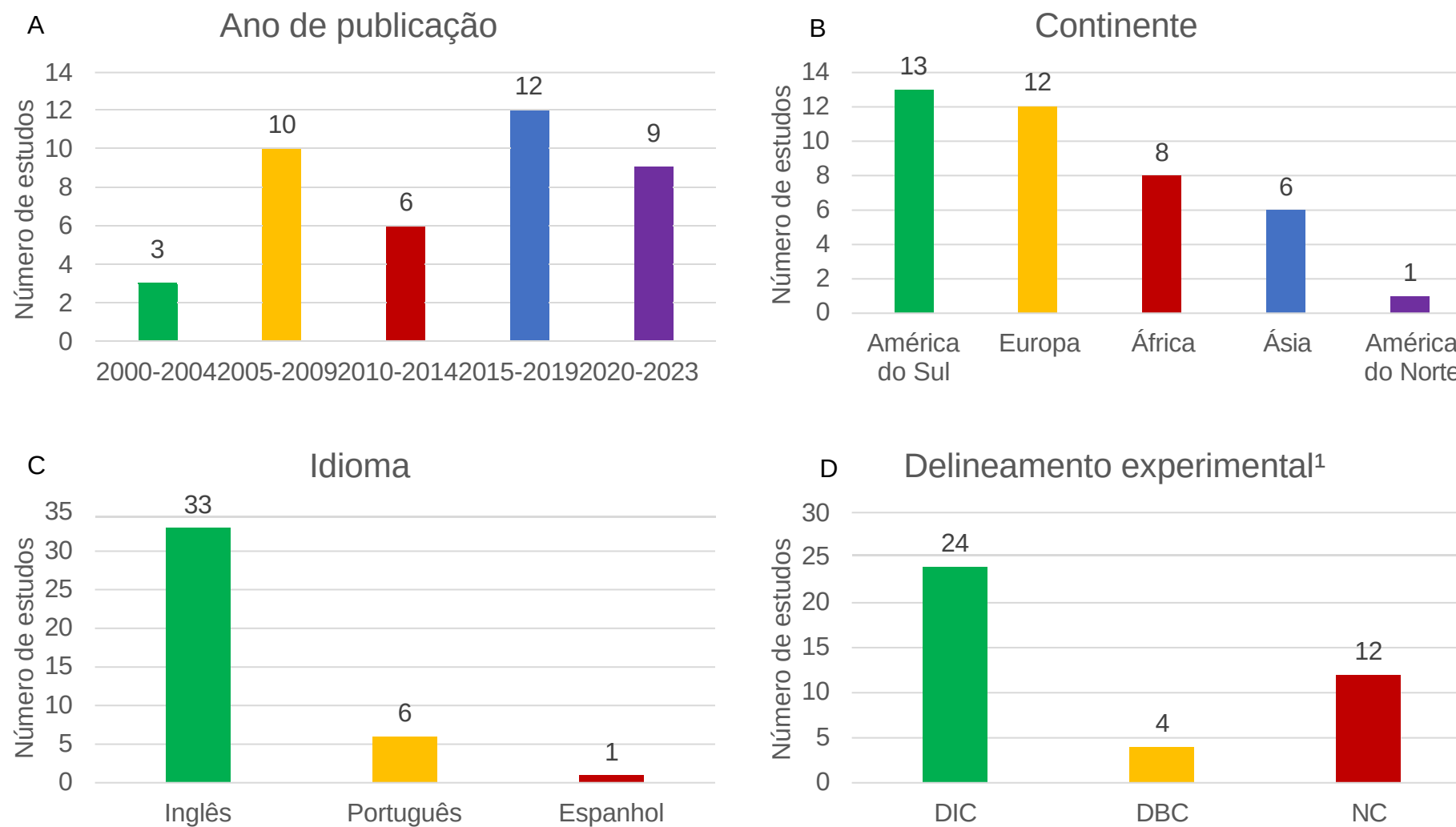
A base de dados realizada contemplou uma planilha com 122 colunas e 270 linhas. O espaço temporal utilizado foi de 23 anos, sendo o artigo mais recente de 2023 e o mais antigo de 2001. O ano de 2023 teve o maior número de artigos encontrados (5 artigos), assim, 25 artigos (62,5%) eram dos últimos 10 anos (≥ 2013) e 15 artigos era anteriores a 2013 (37,5%), conforme mostra a figura 24 (A).

A maioria dos estudos foi realizada em instituições localizadas na América do Sul (32,5% dos artigos), seguido pela Europa (30%), África (20%), Ásia (15%) e América do Norte (2,5%). O inglês foi o idioma predominante dos artigos da base de dados, 82,5% dos artigos foram publicados em inglês, 15% em português e 2,5% em espanhol, dados evidenciados na figura 24 (C). Entre os artigos selecionados o delineamento experimental predominante foi o inteiramente casualizado, sendo que 24 artigos apresentaram esse tipo de delineamento (60%), 4 artigos utilizaram o delineamento em blocos ao acaso (10%), e 12 artigos não citaram o planejamento experimental utilizado (30%), dados indicados na figura 24 (D).

É possível observar na figura 25, que entre os 40 artigos analisados, 9 possuíam apenas dados de desempenho e 12 apenas de digestibilidade, e 19 artigos possuíam experimentos que forneceram dados de desempenho e de digestibilidade. Nos artigos foram registrados 11 tipos de abordagens para explorar as respostas da fitase diferentes, que estão descritas na figura 25 (B), com destaque para dados de composição corporal, presentes em 20 artigos e dados de balanço de fósforo ou nitrogênio e análises bioquímicas, ambos presentes em 9 artigos.

As informações de composição nutricional de cada dieta foram tabuladas, resultando em um total de 269 dietas. Assim, devido a diferenças de exigências nutricionais entre as fases de desenvolvimento, as dietas foram categorizadas em três fases: alevinagem ($\leq 10g$), juvenil (>10 e $<100g$) e fase adulta ($\geq 100g$). A figura 25 (C) indica que dentro das 269 dietas, 54 delas (20,07%) submeteram os peixes a desafio nutricional de fósforo, restringindo seu fornecimento na ração, e as demais 215 dietas (79,93%) foram fornecidas atendendo a exigência nutricional de fósforo do peixe. Além disso, foi verificado que 21 (7,81%) dietas receberam suplementação de fósforo na forma inorgânica (figura 25 D).

Figura 24 - Número de estudos da base de dados divididos pelos anos de publicação (A); continentes onde o estudo foi realizado (B); idioma em que o artigo foi publicado (C) e o delineamento experimental utilizado¹ (D).



Fonte: O autor. ¹DIC = delineamento inteiramente casualizado; DBC = delineamento em blocos ao acaso; NC = não caracterizado.

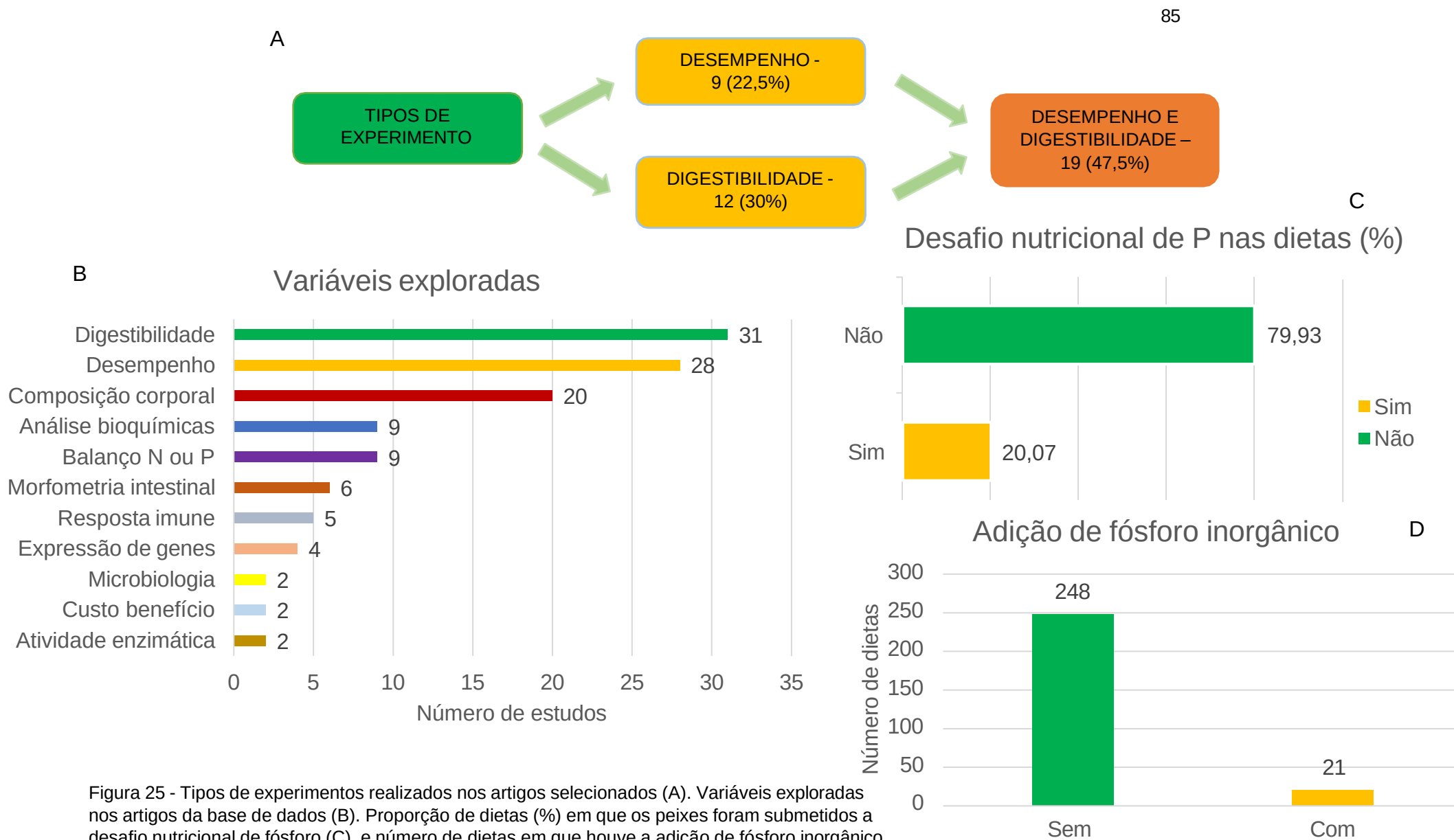


Figura 25 - Tipos de experimentos realizados nos artigos selecionados (A). Variáveis exploradas nos artigos da base de dados (B). Proporção de dietas (%) em que os peixes foram submetidos a desafio nutricional de fósforo (C), e número de dietas em que houve a adição de fósforo inorgânico (D). Fonte: O autor

Para alevinos de tilápias (peso > 0 a ≤ 10g) foram computadas 47 dietas presentes em nove artigos. A tabela 6 mostra a composição das dietas, o número de observações encontradas nesses artigos, bem como o número de observações possíveis de serem calculadas, além da média da composição de cada item e seu desvio padrão. A tabela também mostra valores das dietas que tiveram restrição de fósforo. Na tabela 7 estão presentes as dietas para juvenis de tilápias, sendo 25 estudos com total de 134 dietas. Por fim, a tabela 8 mostra as dietas para adultos de tilápias, presentes em seis estudos com 88 dietas.

Tabela 6 - Composição nutricional de dietas de alevinos de tilápias (peso > 0 a ≤ 10g), número de observações, média da composição e seu desvio padrão.

Composição dieta alevino ¹	Nº observações	Nº obs calc ²	Total obs	Total obs %	Média composição	Desvio Padrão
MS (%)	19	0	19	40,43	90,42 ± 0,341	1,484
EB (kcal/kg)	26	0	26	55,32	3730 ± 91,40	466,2
ED (kcal/kg)	4	0	4	8,51	3132 ± 0,000	0,00
PB (g/kg)	47	0	47	100,0	317,0 ± 3,28	22,52
LT (%)	44	0	44	93,62	8,11 ± 0,546	3,62
Carboidratos (%)	0	15	15	31,91	44,06 ± 0,833	3,23
Cinzas (%)	36	0	36	76,60	7,25 ± 0,310	1,863
Fibra Bruta (%)	37	0	37	78,72	6,51 ± 0,516	3,14
Cálcio (%)	24	0	24	51,06	0,785 ± 0,074	0,364
P (%)	19	0	19	40,43	0,973 ± 0,054	0,236
P Disp (%)	9	10	19	40,43	0,497 ± 0,049	0,215
P Fítico (%)	10	9	19	40,43	0,476 ± 0,062	0,270
P (%) (-) ³	15	0	15	31,91	0,629 ± 0,032	0,013
P (%) (-)	10	5	15	31,91	0,380 ± 0,036	0,138
P (%) (-)	5	10	15	31,91	0,249 ± 0,029	0,113
Total dietas			47			

¹ MS = matéria seca; EB = energia bruta; ED = energia digestível; PB = proteína bruta; LT = lipídios totais; NSP = polissacarídeos não amiláceos; P = fósforo;

²O valor de carboidratos foi calculado a partir da equação: Carboidratos = Matéria seca – (Proteína bruta + Lipídios totais + Cinzas); o fósforo disponível foi calculado seguindo: Fósforo disponível = P total – P fítico; e fósforo fítico: P fítico = P total – P disponível;

³Valores de dietas com restrição de fósforo na composição.

Fonte: O autor

Tabela 7 - Composição nutricional de dietas de juvenis de tilápias (peso > 10 a < 100g), número de observações, média da composição e seu desvio padrão.

Composição dieta juvenil ¹	Nº observações	Nº obs calc ²	Total obs	Total obs %	Média composição	Desvio Padrão
MS (%)	75	0	75	55,97	92,27 ± 0,482	4,17
EB (kcal/kg)	106	0	106	79,10	4612 ± 27,60	284,4
ED (kcal/kg)	27	0	27	20,15	3206 ± 39,30	204,1
PB (g/kg)	134	0	134	100,0	311,8 ± 2,56	29,64
LT (%)	113	0	113	84,33	7,13 ± 0,144	1,53
Carboidratos (%)	26	28	54	40,30	48,61 ± 1,03	7,58
Amido (%)	19	0	19	14,18	33,18 ± 1,74	7,59
NSP (%)	19	0	19	14,18	16,79 ± 1,66	7,25
Cinzas (%)	104	0	104	77,61	6,48 ± 0,150	1,53
Fibra Bruta (%)	38	0	38	28,36	5,94 ± 0,228	1,40
Cálcio (%)	103	0	103	76,87	0,700 ± 0,023	0,233
Magnésio (%)	14	0	14	10,45	0,420 ± 0,016	0,060
P (%)	68	0	68	50,75	0,990 ± 0,026	0,214
P Disp (%)	26	20	46	34,33	0,490 ± 0,047	0,316
P Fítico (%)	20	19	39	29,10	0,500 ± 0,021	0,131
P (%) (-) ³	31	0	31	23,13	0,420 ± 0,005	0,027
P Disp (%) (-)	26	0	26	19,40	0,190 ± 0,019	0,100
P Fítico (%) (-)	0	23	23	17,16	0,260 ± 0,001	0,004
Total dietas			134			

¹MS = matéria seca; EB = energia bruta; ED = energia digestível; PB = proteína bruta; LT = lipídios totais; NSP = polissacarídeos não amiláceos; P = fósforo;

²O valor de carboidratos foi calculado a partir da equação: Carboidratos = Matéria seca – (Proteína bruta + Lipídios totais + Cinzas); o fósforo disponível foi calculado seguindo: Fósforo disponível = P total – P fítico; e fósforo fítico: P fítico = P total – P disponível;

³Valores de dietas com restrição de fósforo na composição.

Fonte: O autor

Tabela 8 - Composição nutricional de dietas de adultos de tilápias (peso $\geq$ 100g), número de observações, média da composição e seu desvio padrão.

Composição dieta adulto ¹	Nº observações	Nº obs calc ²	Total obs	Total obs %	Média composição	Desvio Padrão
MS (%)	15	0	15	17,04	91,43 $\pm$ 0,848	3,29
EB (kcal/kg)	79	0	79	89,77	3404 $\pm$ 82,20	730,5
ED (kcal/kg)	9	0	9	10,22	3199 $\pm$ 0,000	0,000
PB (g/kg)	88	0	88	100,0	323,1 $\pm$ 4,0	35,55
LT (%)	28	0	28	31,82	4,44 $\pm$ 0,415	2,20
Carboidratos (%)	0	6	6	6,82	42,83 $\pm$ 1,01	2,48
Cinzas (%)	19	0	19	21,59	5,62 $\pm$ 0,574	2,50
Fibra Bruta (%)	9	0	9	10,23	6,61 $\pm$ 0,000	0,000
Cálcio (%)	15	0	15	17,05	0,831 $\pm$ 0,025	0,097
Magnésio (%)	6	0	6	6,82	0,350 $\pm$ 0,028	0,070
P (%)	19	0	19	21,60	0,814 $\pm$ 0,061	0,264
P Disp (%)	9	4	13	14,77	0,717 $\pm$ 0,036	0,129
P Fítico (%)	4	0	4	4,55	0,480 $\pm$ 0,000	0,000
Total dietas			88			

¹ MS = matéria seca; EB = energia bruta; ED = energia digestível; PB = proteína bruta; LT = lipídios totais; NSP = polissacarídeos não amiláceos; P = fósforo;

²O valor de carboidratos foi calculado a partir da equação: Carboidratos = Matéria seca – (Proteína bruta + Lipídios totais + Cinzas); o fósforo disponível foi calculado seguindo: Fósforo disponível = P total – P fítico;

Fonte: O autor

A soja, o milho e o trigo foram os ingredientes mais predominantes nas rações (tabela 9). A soja estava presente em 205 dietas (76,21%), com quantidades mínimas de 1,5% e máximas de 69,29%, a soja em forma de farelo foi a mais utilizada, presente em 188 dietas. O ingrediente mais utilizado foi o milho, presente em 221 dietas (82,16%), com inclusão mínima de 2,2% e máxima de 65%, sendo o grão moído sua forma predominante, presente em 114 dietas. O único ingrediente de origem animal utilizado nas dietas foi a farinha de peixe, presente em 73 dietas.

Tabela 9 – Níveis de inclusão dos ingredientes das dietas para tilápias¹.

Ingrediente	Nº obs	Total %	Média inclusão %	Min%	Max%
Soja	205	76,21	35,30	1,50	69,29
Milho	221	82,16	19,57	2,20	65,00
Trigo	142	52,79	16,43	2,17	60,00
Arroz	57	21,19	21,62	6,00	60,00
Amendoim	12	4,46	13,25	15,00	16,00
Canola	33	12,27	11,90	5,00	51,00
Ervilha	8	2,97	6,60	5,00	12,00
Girassol	19	7,06	26,26	16,80	60,00
Polpa Cítrica	2	0,74	5,00	20,00	20,00
Algodão	14	5,20	31,68	5,00	60,00
Sorgo	6	2,23	60,00	60,00	60,00
Mandioca	12	4,46	14,13	10,35	20,90
Jatropha	2	0,740	2,25	1,50	30,00
Farinha de peixe	73	27,14	10,25	2,50	37,00
Soja					
Farelo	188	91,71	39,06	7,32	69,29
Extrusada	6	2,93	60,00	60,00	60,00
Prot conc	28	13,66	7,76	1,50	35,30
Milho					
Grão	114	51,58	23,65	2,20	65,00
Extrusado	6	2,71	60,00	60,00	60,00
Glúten	36	16,29	20,16	5,00	60,00
Amido	92	41,63	10,87	1,95	22,00
Farelo	21	9,50	24,53	10,25	46,6
Trigo					
Farinha	34	23,94	20,49	13,20	43,90
Farelo	115	80,99	19,18	2,17	60,00
Glúten	48	33,80	10,40	7,60	12,00
DDGS	12	8,45	11,75	5,00	20,00
Grão	33	23,24	12,62	5,00	24,00

¹Nºobs: número de vezes em que o ingrediente foi utilizado em alguma dieta; Total%: número de aparições em porcentagem; Média inclusão%: média da quantidade utilizada do ingrediente nas dietas; Min%: a menor quantia utilizada do ingrediente em uma dieta; Max%: maior quantia utilizada do ingrediente em uma dieta.

Fonte: O autor

Em relação ao processamento das dietas, conforme mostrado na figura 26 (A), 172 dietas eram peletizadas (63,94%), 91 eram extrusadas (33,83%) e seis dietas não

foram caracterizadas (2,23%). Analisando os últimos 10 anos, foram selecionadas 122 dietas, 78 delas apresentaram rações extrusadas (63,93%), apenas 38 dietas eram peletizadas (31,15%) e seis dietas não foram caracterizadas (4,92%), conforme demonstra a Figura 26 (B). Já analisando a década anterior das 147 dietas presentes na base de dados, 134 eram peletizadas (91,16%) e apenas 13 (8,84%) eram extrusadas.

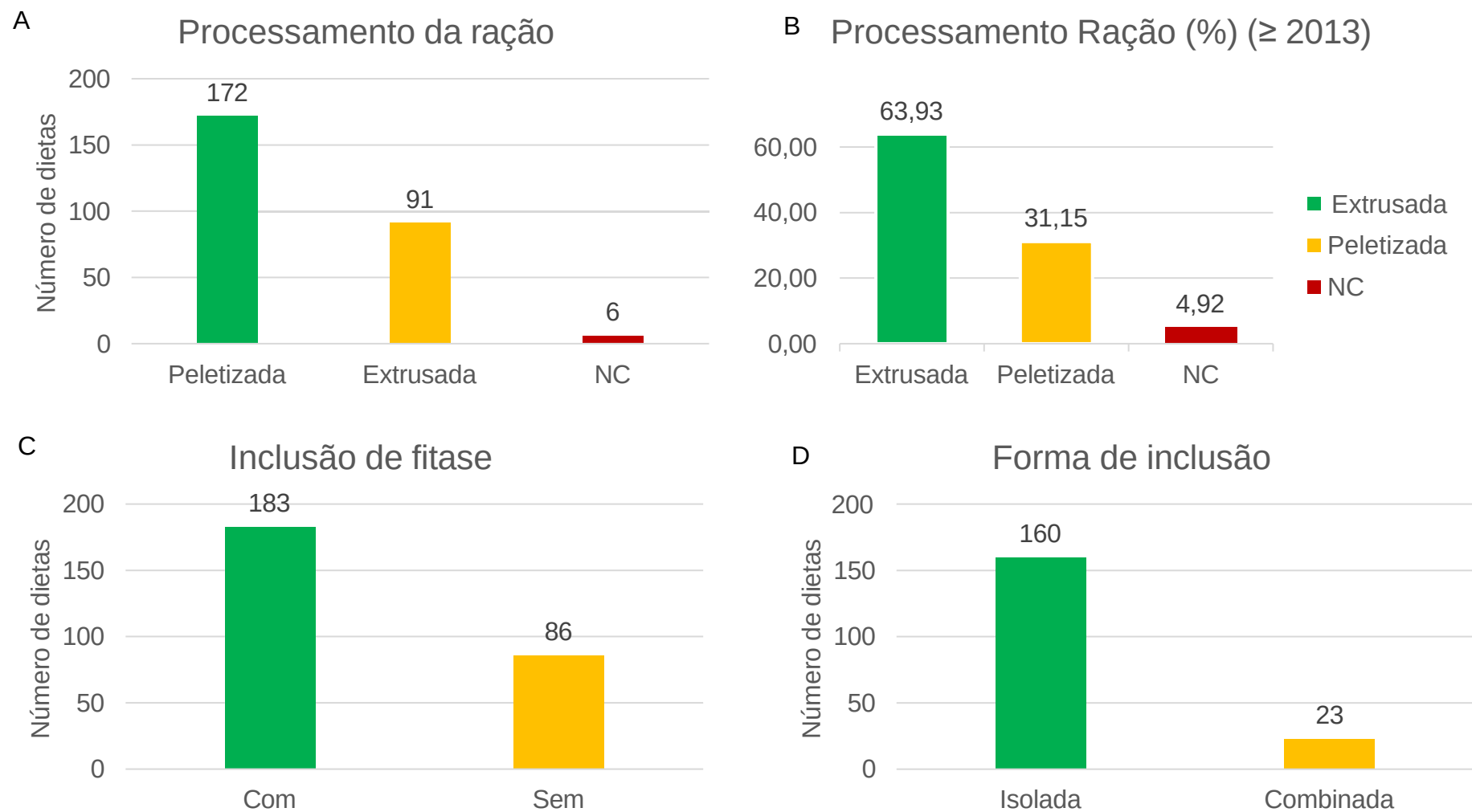
Na figura 26 (C) podemos observar que dos 269 tratamentos contidos nos artigos da base de dados, 183 continham suplementação de fitase (68,03%) e 86 não apresentaram inclusão da fitase (31,97%). Porém das 183 dietas com inclusão da fitase, 160 possuíam apenas fitase de forma isolada (87,43%) e 23 apresentaram dietas com combinação de fitase com outras enzimas (12,57%), descrito na Figura 26 (D). Das 23 dietas com fitase combinada com outras enzimas, 13 dietas possuíam combinação com xilanase (56,52%), 3 com proteases (13,04%), 1 combinada com glucanase (4,35%) e 6 combinadas com complexos enzimáticos (26,09%). Dados apresentados na figura 27 (A). Dessas combinações é notável que 100% delas ocorreram em artigos posteriores ao ano de 2013.

Das dietas com inclusão de fitase, 48 delas foram suplementadas na forma líquida (26,23%), 99 na forma de grânulos (54,10%) e 36 não foram caracterizados (19,67%) (Figura 27 B). Das 48 dietas com fitases líquidas, 39 delas (81,25%) foram utilizadas em experimentos a partir do ano de 2013, e apenas 9 delas anteriores a 2013, conforme mostra a Figura 27 (C). A Figura 27 (D) demonstra que a fonte predominante de fitase foi a fúngica, com 112 das dietas (61,20%), sendo 35 de fontes bacterianas (19,13%), 12 de leveduras (6,56%), 1 dieta com combinação de fitase de fontes fúngicas e bacterianas (0,55%) e 23 não foram caracterizadas ou citadas pelos autores (12,57%). A estrutura do tipo 6-fitase foi a mais utilizada, com presença em 119 dietas (65,03%), a fitase do tipo 3, foi apresentada em 16 dietas (8,74%), e 48 dietas não foram caracterizadas (26,23%), valores apresentados na figura 28 (A).

O nível médio de inclusão da fitase (≥ 1000 FTU/kg e < 2000 FTU/kg) nas dietas prevaleceu, com 89 das dietas (48,63%), seguida pela alta inclusão (≥ 2000 FTU/kg) com 51 dietas (27,87%) e por fim, níveis baixos de inclusão (> 0 FTU/kg e < 1000 FTU/kg) com 43 dietas (23,5%). Dados destacados na figura 28 (B). A menor inclusão de fitase foi de 250 FTU/kg, e a maior foi de 12975 FTU/kg.

Dos 40 estudos selecionados, 33 deles utilizaram tilápias do Nilo em seus experimentos, sendo a espécie mais predominante (82,5%), 4 estudos usaram tilápias Vermelhas (10%), 2 utilizaram tilápias híbridas e apenas um usou tilápia de Moçambique, descrito na Figura 28 (C). Já em relação a fase de desenvolvimento, 9 estudos usaram alevinos, 25 juvenis e 6 estudos utilizaram tilápias adultas, conforme mostra a Figura 28 (D).

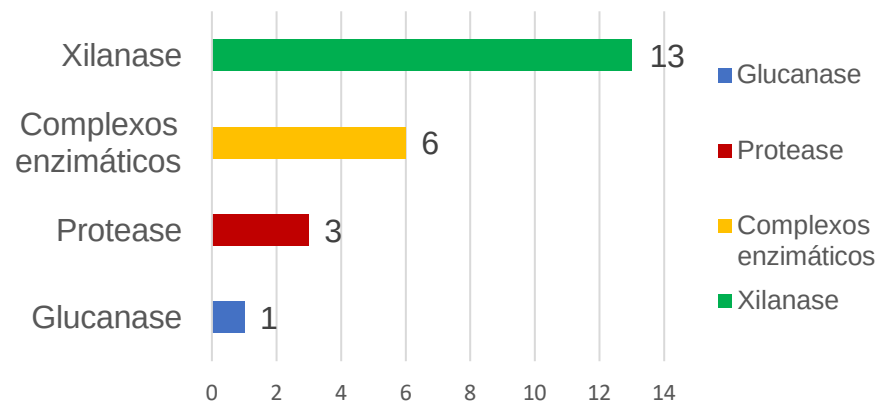
Figura 26 - Forma de processamento das dietas encontradas nos artigos selecionados (A) e processamento das dietas de artigos a partir de 2013 (B). Número de dietas com inclusão de fitase (C); dietas com inclusão de fitase de forma individual e de combinada com outras fontes enzimáticas (D)



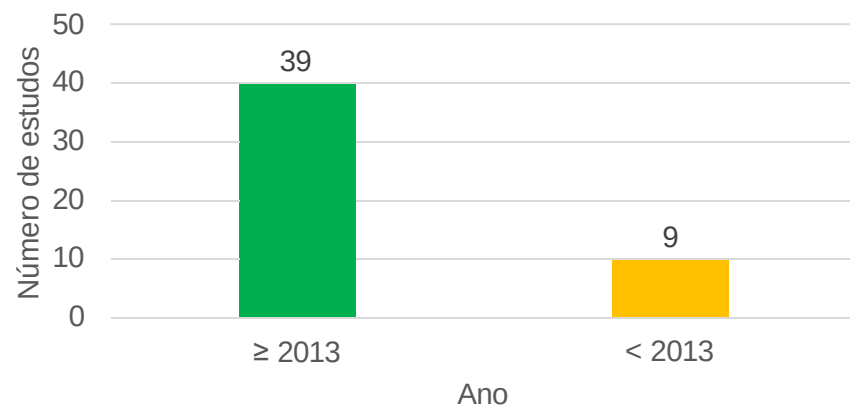
Fonte: O autor. ¹NC = não caracterizado.

Figura 27 - Tipos de combinações enzimáticas com fitase (A); tipos de fitase incluídas (B) e a inclusão da fitase líquida nas últimas décadas (C); fontes de produção da fitase (D).

A Combinações com fitase

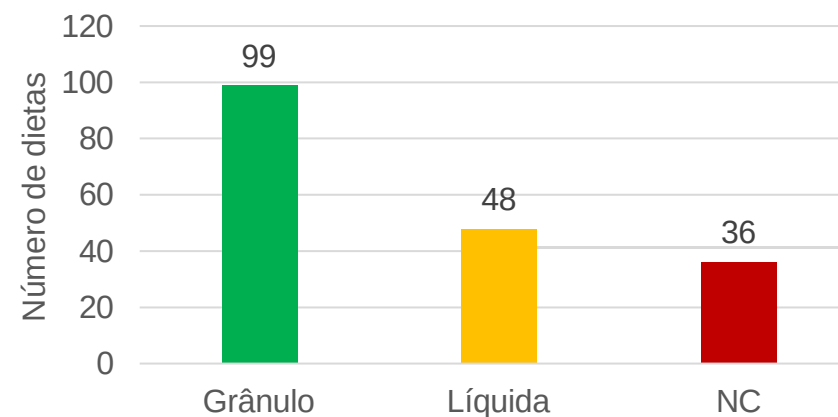


C Inclusão de fitase líquida



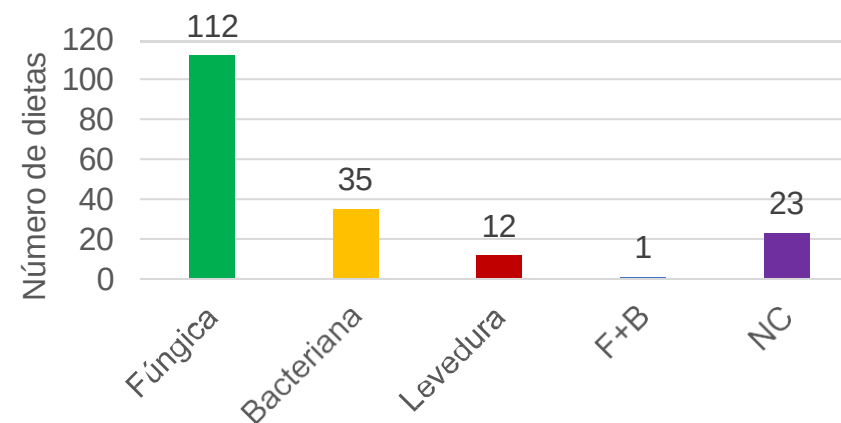
B

Tipo de fitase



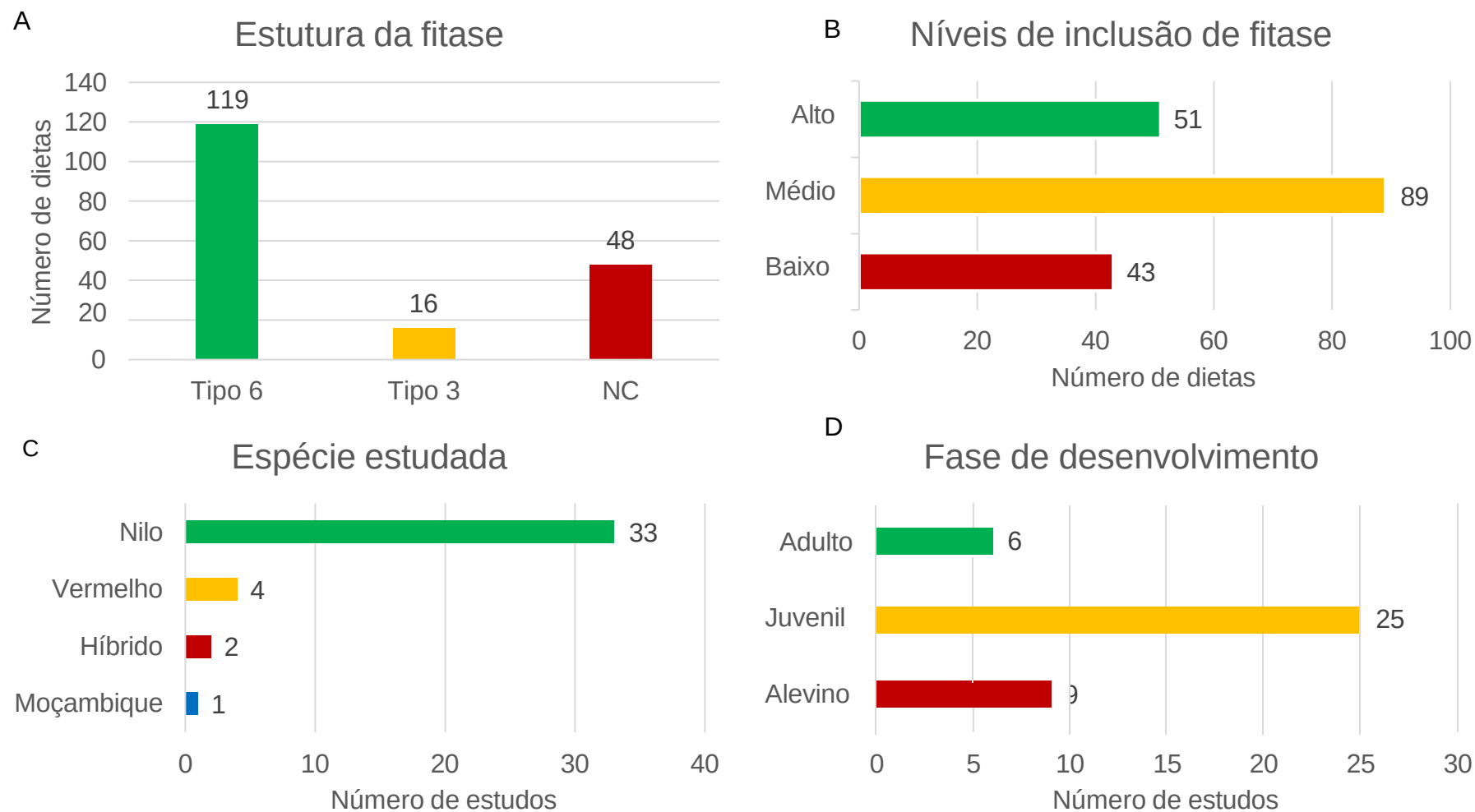
D

Fonte de fitase



Fonte: O autor. ¹ NC = não caracterizado

Figura 28 - Estruturas das fitases incluídas (A) e níveis de inclusão da fitase, dividido em inclusão baixa (> 0 e < 1000 FTU/kg), média (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alta (≥ 2000 FTU/kg) (B). Espécies de tilápias utilizadas nos estudos da base de dados (C) e fase de desenvolvimento dos peixes utilizados, dividido em alevino (≤ 10 g), juvenil (>10 e < 100 g) e adulto (≥ 100 g) (D).



Fonte: O autor

2.3.3 Avaliação crítica da base de dados

A qualidade científica para cada artigo foi realizada aplicando as pontuações descritas na metodologia, as tabelas 10 e 11 estão separadas em pontuação geral e pontuação de artigos de digestibilidade. Cada estudo recebeu nota 1 ou 2 para cada um dos critérios, o valor máximo alcançado para os critérios gerais foi de 35 em 36 pontos possíveis (Pontes *et al.*, 2021), e a menor soma alcançada foi de 24 pontos (Nwanna *et al.*, 2014); indicando que nenhum dos artigos selecionados apresentam todas as informações relevantes para um bom entendimento de um estudo sobre inclusão de fitase para tilápias.

Para a base de dados de digestibilidade, dois estudos alcançaram a nota máxima de 14 pontos (Pontes *et al.*, 2021; Nakamura *et al.*, 2022), ou seja, apresentaram todas as informações relevantes para uma boa compreensão de todos os parâmetros envolvidos em um estudo de digestibilidade. Já o menor valor alcançado de 10 pontos. (Silva *et al.*, 2007; Hassaan *et al.*, 2013)

Tabela 10 - Pontuações¹ para cada critério científico estabelecido dos artigos sobre a suplementação de fitase para tilápias presentes na base de dados.

(continua)

Código	Autor/Ano	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	TOTAL
1	Abo Norag <i>et al.</i> /2018	2	1	2	1	1	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	29
2	Pontes <i>et al.</i> A/2021	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	35
3	Adeshina <i>et al.</i> /2023	1	2	2	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	31
4	Maas <i>et al.</i> A/2018	1	1	2	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	31
5	Novelli <i>et al.</i> /2017	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	32
6	Pontes <i>et al.</i> B/2019	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	34
7	Maas <i>et al.</i> B/2018	2	2	2	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	32
8	Nakamura <i>et al.</i> /2022	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	32
9	Adeoye <i>et al.</i> /2016	2	1	2	2	1	1	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	29
10	Maas <i>et al.</i> C/2020	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	32
11	Hu <i>et al.</i> /2016	2	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	2	2	29
12	Wallace <i>et al.</i> /2015	2	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	32
13	Li <i>et al.</i> /2019	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	30
14	Hlophe-Ginindza <i>et al.</i> /2015	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	25
15	Hassaan <i>et al.</i> /2013	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	30
16	Khaled/2019	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	2	1	2	1	1	1	26
17	Rodrigues <i>et al.</i> A/2023	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	1	1	2	2	2	2	2	32
18	Mahmoud <i>et al.</i> /2014	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	2	2	1	2	26
19	Maas <i>et al.</i> D /2021	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	1	32
20	Akpoilih <i>et al.</i> /2023	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	1	2	32
21	Dias <i>et al.</i> /2023	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	34
22	Rodrigues <i>et al.</i> B/2023	1	2	1	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	30
23	Rachmawati <i>et al.</i> / 2018	1	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2	2	2	29
24	Nwanna <i>et al.</i> /2014	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	2	24
25	Bock <i>et al.</i> A/2006	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	31
26	Cao <i>et al.</i> A/2008	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	2	32
27	Furuya <i>et al.</i> /2001	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	32

Tabela 10 - Pontuações¹ para cada critério científico estabelecido dos artigos sobre a suplementação de fitase para tilápias presentes na base de dados.

(conclusão)																				
Código	Autor/Ano	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	TOTAL
28	Gonçalves et al. A/2007	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	1	1	2	1	2	2	28
29	Liebert et al. /2005	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	31
30	Bock et al. B/2007	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	31
31	Portz et. al./2004	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	32
32	Phromkunthong et al./ 2006	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	31
33	Gonçalves et al. B/2005	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	1	1	2	1	2	2	28
34	Liebert et al. B/2007	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	2	30
35	Rueda-Uribe et al./2012	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	32
36	Silva et al./2007	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	2	31
37	Tudkaew et al./2008	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	1	1	2	28
38	Riche et al./2001	1	2	2	1	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2	1	2	27
39	Verlhac-Trichet et al./2014	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2	1	2	30
40	Kumar et al./2011	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	29

¹ A. Delineamento experimental: delineamento inteiramente casualizado = 2 pontos (pts), enquanto estudo não randomizado (ou sem informação no texto) = 1 ponto (pt); B. Número tratamentos com fitase versus controle: se > 3 vs 1 = 2 pts; se 2 vs 1 = 1 pt; C. Número de repetições: ≥ a 3 = 2 pts, enquanto estudo com apenas duas repetições (ou sem descrição no texto) = 1 pt; D. Comitê de ética animal: estudos aprovados por comitê de ética = 2 pts; quando não aprovado ou a aprovação não foi mencionada, 1 pt; E. Tipos de experimentos: desempenho e digestibilidade = 2 pts, apenas desempenho ou digestibilidade 1 pt; F. Descrição da fitase utilizada: apresentação de dados técnicos, estruturais e unidades utilizadas da fitase = 2 pts, enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; G. Fitase: uso exclusivo de fitase = 2 pts; uso combinado de fitase = 1 pt; H. Composição da dieta: apresentação da dieta = 2 pts; enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; I. Origem dos ingredientes: dieta a base de alimentos de origem vegetal = 2 pts; dieta com algum ingrediente de origem animal = 1 pt; J. Composição proximal da dieta: apresentação da composição dos nutrientes = 2 pts; não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; K. Nível de proteína bruta na dieta: se todas as dietas atendem a exigência para a fase de desenvolvimento correspondente (Furuya et al., 2010) = 2 pts; se não atende a exigência = 1 pt; L. Fósforo na dieta: apresentação da quantidade de P, e sua quantidade disponível e fítico = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; M. Valor de cálcio total: se o Ca na dieta foi identificado = 2pts; se não foi descrito = 1 pt; N. Processamento da ração: se extrusada = 2 pts; se peletizada ou não descrito = 1 pt; O. Descrição peixe: se descrito tamanho, fase e quantidade = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; P. Descrição de parâmetros experimentais: se descrito (tipo de aquário, volume, dias de experimento) = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; Q. Qualidade da água: descrição dos parâmetros de qualidade da água = 2 pts, não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; R. Sustentabilidade: apresentaram informações ou qualquer menção ao balanço de P ou N = 2 pts; não informado = 1 pt. Fonte: O autor

Tabela 11 - Pontuações¹ para cada critério científico estabelecido dos artigos de digestibilidade sobre a suplementação de fitase para tilápias presentes na base de dados.

									(continua)
Código	Autor/Ano	A	B	C	D	E	F	G	TOTAL
2	Pontes <i>et al.</i> A/2021	2	2	2	2	2	2	2	14
4	Maas <i>et al.</i> A/2018	2	1	2	2	1	1	2	11
5	Novelli <i>et al.</i> /2017	2	2	1	2	2	1	2	12
6	Pontes <i>et al.</i> B/2019	2	2	2	2	1	1	2	12
7	Maas <i>et al.</i> B/2018	2	2	2	2	2	1	2	13
8	Nakamura <i>et al.</i> /2022	2	2	2	2	2	2	2	14
10	Maas <i>et al.</i> C/2020	2	2	2	2	2	1	2	13
12	Wallace <i>et al.</i> /2015	2	1	2	2	2	1	2	12
13	Li <i>et al.</i> /2019	2	2	2	2	2	1	2	13
14	Hlophe-Ginindza <i>et al.</i> /2015	2	2	2	2	1	1	2	12
15	Hassaan <i>et al.</i> /2013	2	1	2	1	1	1	2	10
17	Rodrigues <i>et al.</i> A/2023	2	1	2	2	1	1	2	11
19	Maas <i>et al.</i> D /2021	2	2	2	2	2	1	2	13
21	Dias <i>et al.</i> /2023	2	1	2	2	2	1	2	12
22	Rodrigues <i>et al.</i> B/2023	2	2	2	2	2	1	2	13
23	Rachmawati <i>et al.</i> / 2018	2	2	2	1	1	1	2	11
24	Nwanna <i>et al.</i> /2014	2	1	2	2	1	1	2	11
25	Bock <i>et al.</i> A/2006	2	2	2	2	1	1	2	12
26	Cao <i>et al.</i> A/2008	2	2	2	2	1	1	2	12
27	Furuya <i>et al.</i> /2001	2	2	2	1	2	1	2	12
28	Gonçalves <i>et al.</i> A/2007	2	2	1	2	2	1	2	12
31	Portz <i>et. al.</i> /2004	2	2	2	2	2	1	2	13
32	Phromkunthong <i>et al.</i> / 2006	2	2	2	2	2	1	2	13
33	Gonçalves <i>et al.</i> B/2005	2	2	1	2	2	1	2	12
34	Liebert <i>et al.</i> B/2007	2	1	2	1	2	1	2	11
35	Rueda-Uribe <i>et al.</i> /2012	2	2	2	2	2	1	2	13

Tabela 11 - Pontuações¹ para cada critério científico estabelecido dos artigos de digestibilidade sobre a suplementação de fitase para tilápias presentes na base de dados.

Código	Autor/Ano	A	B	C	D	E	F	G	(conclusão)
									TOTAL
36	Silva <i>et al.</i> /2007	2	1	2	1	1	1	2	10
37	Tudkaew <i>et al.</i> /2008	2	2	2	2	1	1	2	12
38	Riche <i>et al.</i> /2001	2	1	1	2	1	2	2	11
39	Verlhac-Trichet <i>et al.</i> /2014	2	1	2	2	1	1	2	11
40	Kumar <i>et al.</i> /2011	2	1	2	2	1	1	2	11

¹A. Marcador na dieta: se mencionado a utilização de qual marcador utilizado = 2 pts; se não mencionado = 1 pt; B. Coleta fezes: se descrito a forma de coleta das fezes = 2 pts; se não descrito = 1 pt; C. Período de coleta = se descrito quantos dias realizou a coleta = 2 pts; se não descrito = 1 pt; D. Metodologia armazenamento para análises de fezes: se descrito a forma de armazenamento para realização de análises = 2 pts; se não descrito = 1 pt; E. Digestibilidade de minerais: se realizada a digestibilidade de outros minerais (além do P) = 2 pts; se não realizado = 1 pt; F. Digestibilidade de aminoácidos: se realizada a digestibilidade de aminoácidos = 2 pts; se não realizada = 1 pt; G. Descrição do método analítico: se descrito a metodologia utilizada para encontrar o coeficiente de digestibilidade = 2 pts; se não descrito = 1 pt.

Fonte: O autor

2.3.4 Respostas de desempenho e digestibilidade

Na tabela 12 estão presentes os dados da análise de variância do desempenho e digestibilidade de tilápias alimentadas com dietas contendo fitase, os resultados estão divididos entre a fase de alevinos e juvenil. Para alevinos, a conversão alimentar ($P = 0,014$) e o CDA do P ($P = 0,001$) apresentaram diferenças estatísticas quando comparado peixes que receberam dieta com fitase e peixes que receberam dieta controle. A inclusão de fitase foi responsável por melhorar a CA e o CDA do P, para os demais parâmetros não foi identificado diferenças significativas. Já para juvenis, a inclusão de fitase melhorou o ganho de peso ($P = 0,015$), a CA ($P = 0,045$) e o CDA do P ($P = 0,029$).

Em relação aos níveis de inclusão da fitase, para alevinos a inclusão de nível médio e alto resultaram em uma melhor conversão alimentar ($P = 0,016$) e CDA do P ($P = 0,001$), não diferindo estatisticamente entre si. Para juvenis a inclusão baixa e média obtiveram resultados estatisticamente superiores para ganho de peso ($P = 0,042$), e não diferiram estatisticamente para os outros parâmetros. Não houve diferenças estatísticas para utilização de fitase isolada ou combinada com outras enzimas.

Tabela 12 - Desempenho e digestibilidade do fósforo de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo fitase¹.

Alevinos							Juvenis					
Variáveis ²							Variáveis					
Fitase	N	CRT (g)	GP (g)	CA	N	CDA P %	N	CRT (g)	GP (g)	CA	N	CDA P %
Com	56	73,00	50,62	1,45 ^b	21	65,69 ^a	21	160,8	132,3 ^a	1,36 ^b	12	66,02 ^a
Sem	36	73,20	49,68	1,58 ^a	21	51,54 ^b	12	159,8	122,1 ^b	1,52 ^a	7	51,81 ^b
dpr ³		8,98	11,63	0,224		9,01		4,74	9,94	0,190		10,46
P ⁴		0,925	0,741	0,014		0,001		0,824	0,015	0,045		0,029
R ² aj		96,83	88,10	71,50		62,88		99,96	99,69	74,80		42,10
<i>Níveis⁵</i>												
Alto	11	72,63	53,39	1,45 ^b	5	73,38 ^a	1	157,4 ^b	138,72	1,53	0	-
Médio	24	72,89	51,60	1,47 ^{ab}	7	69,75 ^a	6	170,0 ^a	140,0	1,37	8	64,76
Baixo	21	73,47	48,32	1,60 ^a	9	62,58 ^b	15	165,9 ^{ab}	128,8	1,33	5	63,84
dpr		5,72	6,25	0,131		2,78		3,40	5,80	0,172		11,06
P		0,941	0,183	0,016		0,001		0,042	0,161	0,427		0,948
R ² aj		98,75	96,55	83,40		83,35		99,98	99,90	74,53		9,48
<i>Tipo</i>												
Combinada	20	74,12	52,58	1,41	14	66,15						
Isolada	56	73,69	50,58	1,45	21	65,19						
dpr		5,69	6,87	0,133		7,27						
P		0,900	0,632	0,635		0,828						
R ² aj		98,59	95,25	88,07		66,12						

¹ Letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância; ² N: número de amostras observadas; CRT: consumo de ração total; GP: ganho de peso; CA: conversão alimentar; CDA P: coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo. ³dpr: desvio padrão residual, ⁴P: nível de significância, ⁵Níveis de inclusão de fitase = baixo (> 0 e < 1000 FTU/kg), médio (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alto (≥ 2000 FTU/kg).

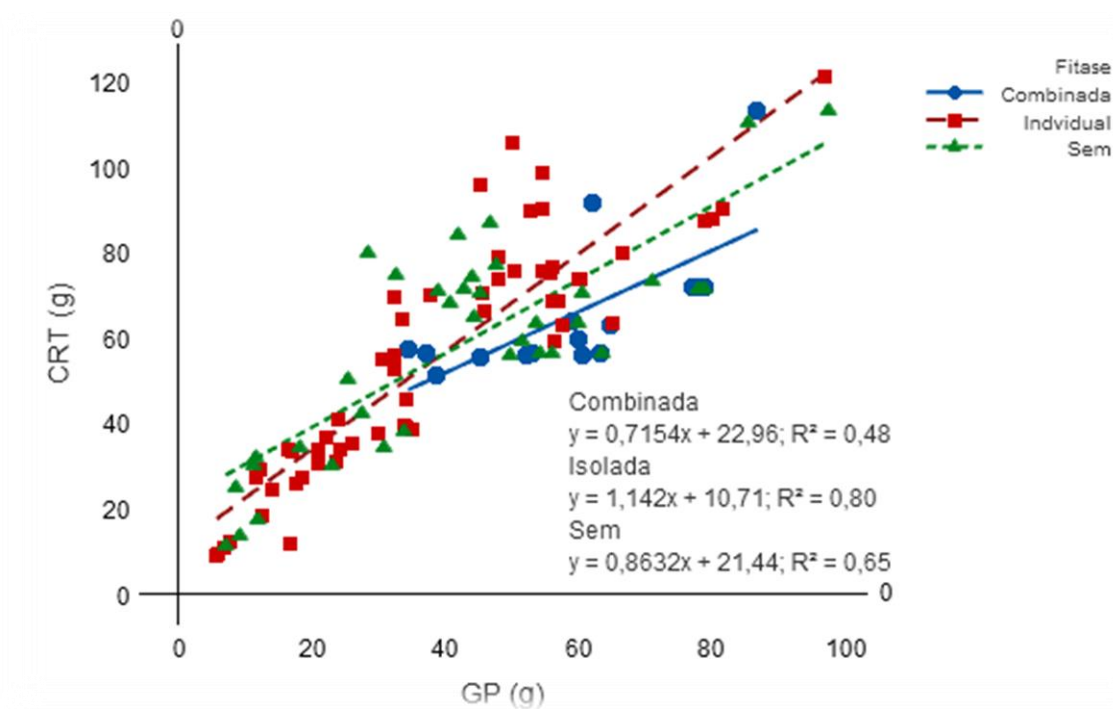
Fonte: O autor

2.3.4.1 Desempenho

Devido a ampla diferença presente entre períodos de duração do experimento entre os artigos, para a realização das análises dos gráficos de dispersão de desempenho, artigos com experimentos superiores a 80 dias foram excluídos com a finalidade de desconsiderar *outliers* identificados durante a realização dos gráficos.

A Figura 29 demonstra a dispersão entre o consumo total de ração (g) e o ganho de peso (g) de dietas com inclusão de fitase na forma individual, de forma combinada com outras fontes enzimáticas ou sem inclusão de fitase. Foi encontrada uma regressão linear para esses parâmetros, a inclusão de fitase isolada ($y = 1,142x + 10,71$), apresentou um modelo que explica uma boa parte da variação ($R^2 = 0,80$); inclusão de fitase combinada com outras fontes enzimáticas ($y = 0,7154x + 22,96$) e sem inclusão de enzimas ($y = 0,8632x + 21,44$), com pouca resposta da variação, apresentando $R^2 = 0,48$ e $R^2 = 0,65$, respectivamente. A partir disso, pode-se notar que as dietas com fitase individual apresentaram resultados superiores e expressivos quando comparados com a inclusão combinada ou sem inclusão de fitase.

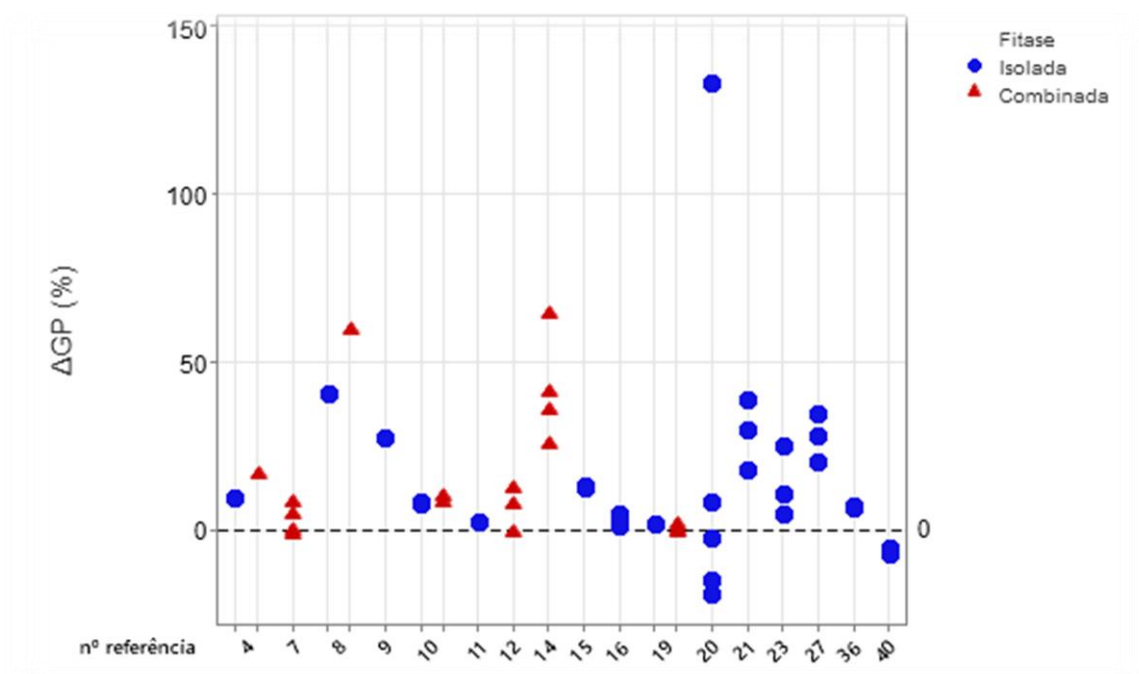
Figura 29 - Relação do consumo de ração total (CRT) versus ganho de peso (GP) em tratamentos sem inclusão de fitase, com fitase de forma individual e com fitase combinada com outras enzimas. Cada forma no gráfico representa um tratamento. Cada símbolo no gráfico representa um tratamento.



Fonte: O autor

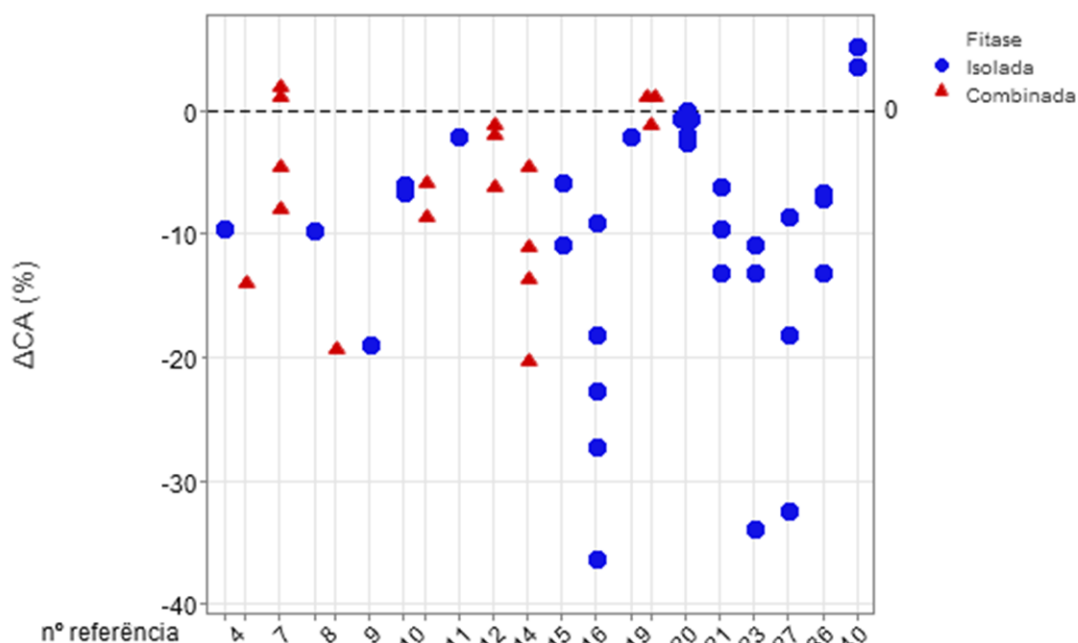
Foi avaliado a variação individual de cada estudo sobre o efeito da fitase no ganho de peso e na conversão alimentar, presentes nas figuras 30 e 31, respectivamente. Cada forma nos gráficos representa um tratamento comparado ao seu respectivo controle. As informações agrupadas indicam que a inclusão de fitase, seja de forma individual ou combinada, resultou em melhora na conversão alimentar e consequentemente um maior ganho de peso, comparado com seu controle.

Figura 30 - Variação do ganho de peso (ΔGP) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



Fonte: O autor

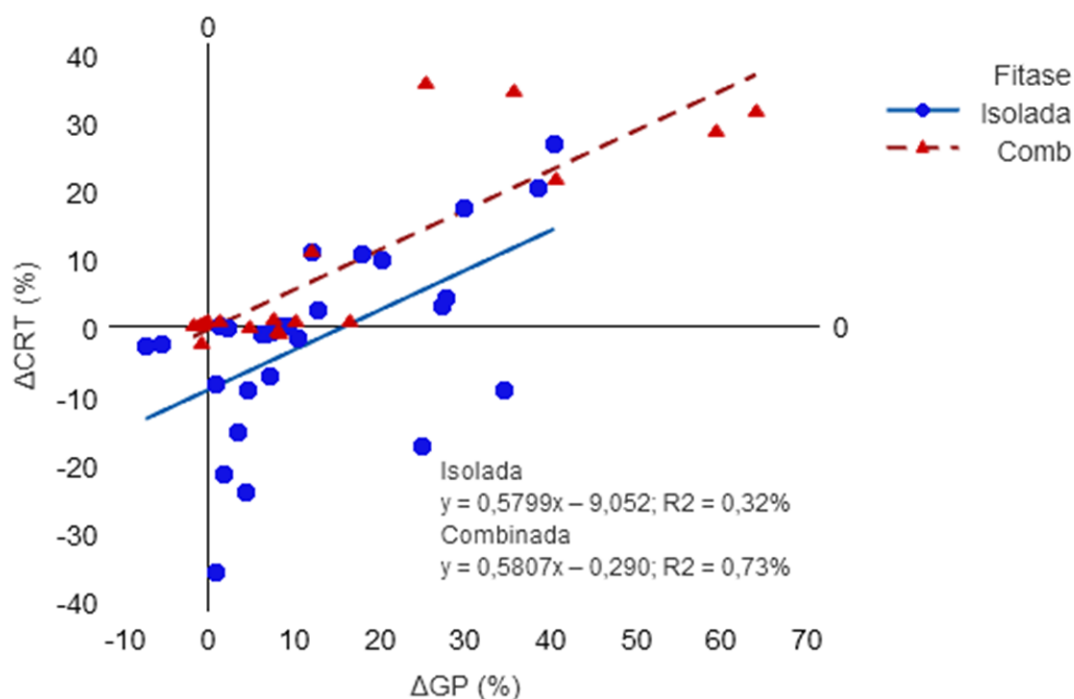
Figura 31 - Variação da conversão alimentar (ΔCA) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



Fonte: O autor

Na figura 32 estão demonstrados valores da dispersão da variação entre o consumo de ração (%) e a variação do ganho de peso (%), entre os tratamentos com inclusão de enzima, forma isolada e combinada, e seu respectivo controle, onde cada forma representa um tratamento comparado com seu respectivo controle. A regressão linear encontrada para a fitase na forma combinada foi $y = 0,5807x - 0,290$, explicando boa parte da variação ($R^2 = 0,73$); e na forma individual $y = 0,5799x - 9,052$, com baixa variação ($R^2 = 0,32$). Notável que tratamentos com fitase isolada apresentaram menor consumo total de ração ao mesmo tempo que possuem um maior ganho de peso. Para fitase combinada, poucos tratamentos obtiveram resultados positivos, a maior parte obteve resultados similares ao grupo controle, apresentando apenas maior ganho de peso.

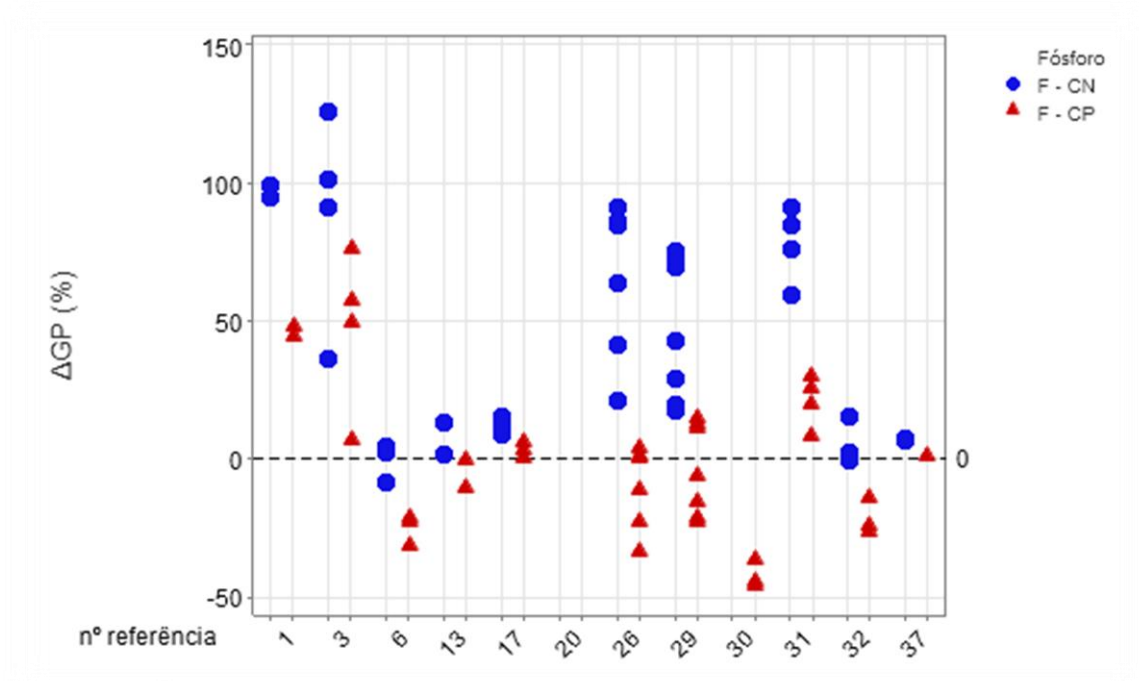
Figura 32 - Dispersão da variação entre consumo de ração total (ΔCRT) e variação do ganho de peso (ΔGP) entre tratamentos com inclusão de fitase de forma individual e combinada com outras enzimas e seu respectivo controle. Cada símbolo representa um tratamento comparado com seu respectivo controle



Fonte: O autor

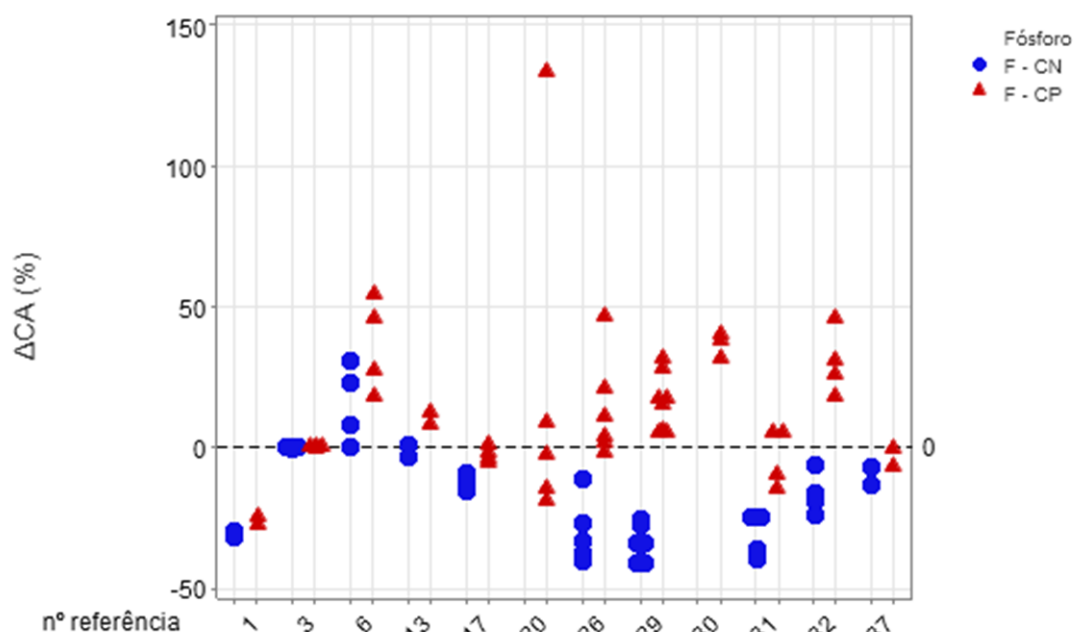
Nas figuras 33 e 34 estão representadas as variações individuais de ganho de peso e conversão alimentar de estudos que utilizaram fitase comparadas a controles com deficiência de P (controle negativo) e controles atendendo as exigências com suplementação de P inorgânico (controle positivo). Os resultados demonstram a maior eficiência de efeito da fitase quando há falta de P, ou seja, há uma maior valorização do P presente na dieta, em dietas com presença de P fítico, recorrente nos artigos com a utilização do controle negativo, há maior área de atuação para a fitase, resultando em resultados mais expressivos.

Figura 33 - Variação ganho de peso (ΔGP) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



Fonte: O autor.

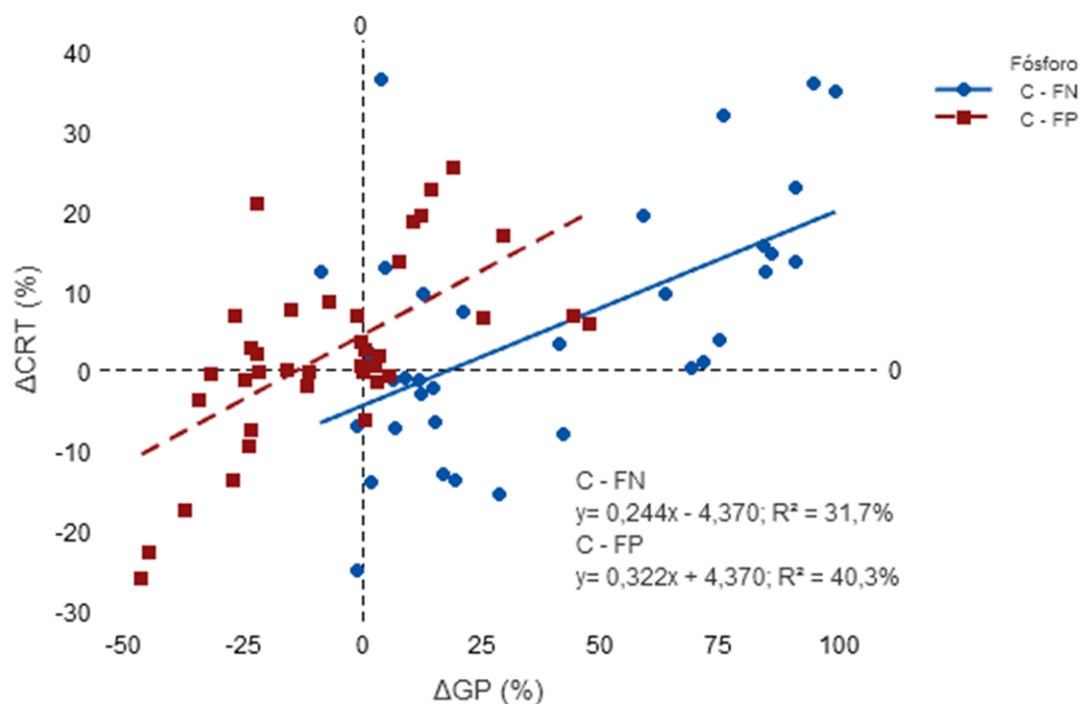
Figura 34 - Variação da conversão alimentar (ΔCA) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



Fonte: O autor.

O gráfico da Figura 35 mostra a dispersão da variação entre consumo de ração total (%) versus ganho de peso (%) em artigos que incluíram controle positivo, com inclusão de P inorgânico e controle negativo, com P não atendendo os níveis basais exigidos, comparados com tratamentos com inclusão de fitase. As equações de regressão linear encontradas para tratamentos com inclusão de fitase comparados com controle negativo foi: $y = 0,244x - 4,370$ e controle positivo: $y = 0,322x + 4,370$; o gráfico de dispersão não foi suficiente para explicar a variação, ($R^2 = 0,32$) e ($R^2 = 0,40$) respectivamente. Os resultados de maiores destaques foram encontrados em tratamentos onde não houve adição de P inorgânico, assim a fitase foi capaz de obter resultados similares ou até mesmo superiores a tratamentos em que houve adição de P inorgânico, com um melhor ganho de peso.

Figura 35 - Dispersão da variação entre consumo de ração total (Δ CRT) e variação do ganho de peso (Δ GP) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (F - CN) e com fósforo atendendo as exigências (F - CP). Cada símbolo no gráfico representa um tratamento teste comparado com seu respectivo controle



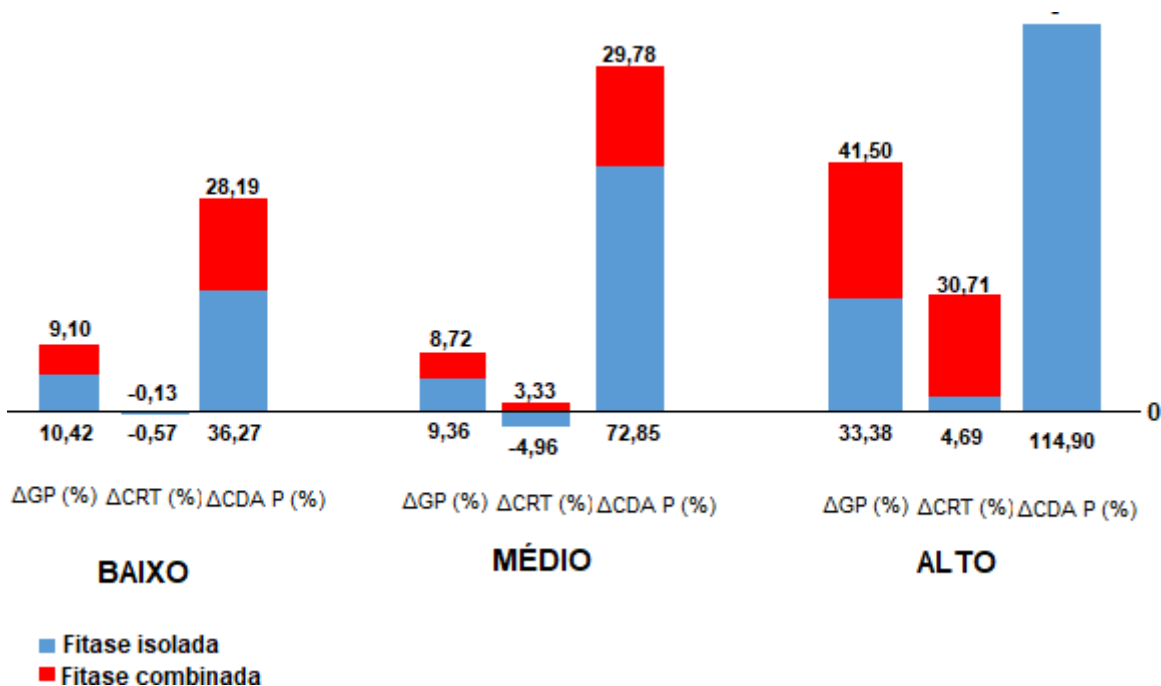
Fonte: O autor.

A Figura 36 representa a variação do ganho de peso, consumo de ração total e coeficiente de digestibilidade aparente do P entre tratamentos com inclusão de fitase, isolada ou combinada, e seu respectivo controle, com a inclusão da fitase dividida entre nível baixo, médio e alto. Demonstrando valores mais equilibrados com a média inclusão, melhorando o ganho de peso e diminuindo o consumo de ração, proporcionando assim, uma melhor conversão alimentar. A fitase isolada apresentou melhores efeitos quando se comparada a fitase incluída combinada com outras fontes enzimáticas, com variações melhores em relação ao controle.

A Figura 37 demonstra que a fitase foi efetiva, tanto em dietas com restrição de P como em dietas com adição de P inorgânico, em aumentar o GP e CRT tanto em níveis baixos (exceção do GP), como em níveis médios e altos. Ficando evidenciado que em dietas com restrição de P, a fitase possui maior atuação. O nível médio de

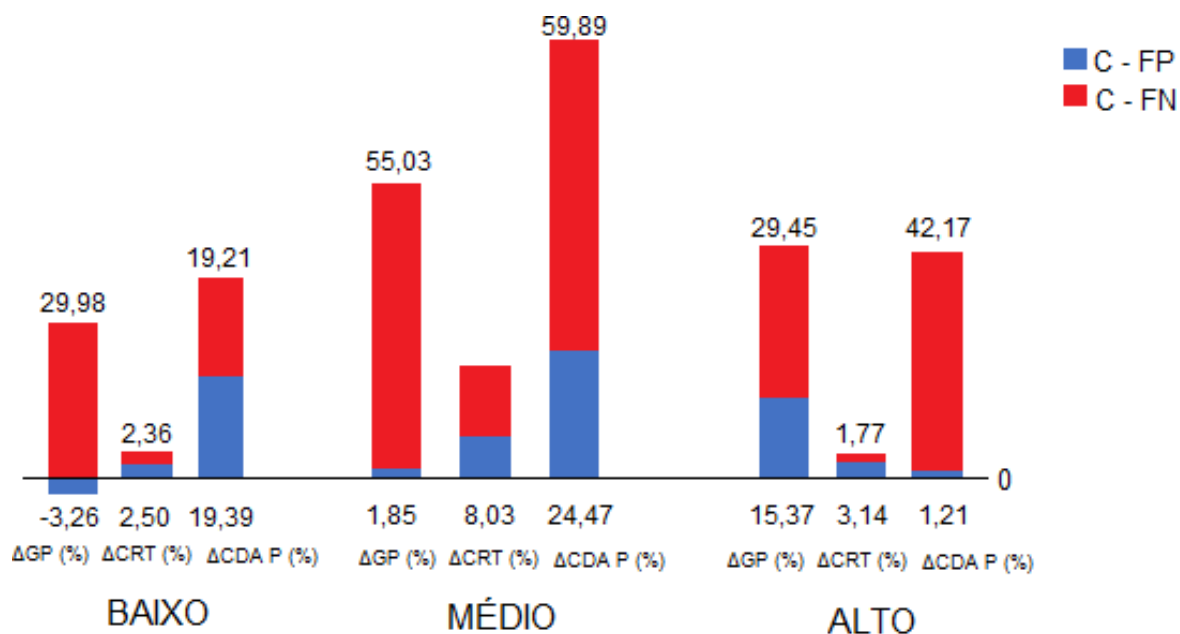
suplementação (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) representou os melhores resultados para inclusão da fitase em dietas com restrição de P.

Figura 36 - Variação do consumo de ração total (Δ CRT), variação do ganho de peso (Δ GP) e variação do coeficiente de digestibilidade aparente do P entre seu controle e tratamentos com inclusão de fitase de forma isolada ou combinada, considerando seu nível de inclusão dividido entre baixo (> 0 e < 1000 FTU/kg), médio (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alto (≥ 2000 FTU/kg).



Fonte: O autor.

Figura 37 - Variação do consumo de ração total (Δ CRT), variação do ganho de peso (Δ GP) e variação do coeficiente de digestibilidade aparente do P entre seu controle e tratamentos com inclusão de fitase em dietas com restrição de fósforo (C-FN) e dietas com inclusão de fósforo inorgânico (C-FP), considerando seu nível de inclusão dividido entre baixo (> 0 e < 1000 FTU/kg), médio (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e alto (≥ 2000 FTU/kg).



Fonte: O autor

2.3.4.2 Digestibilidade

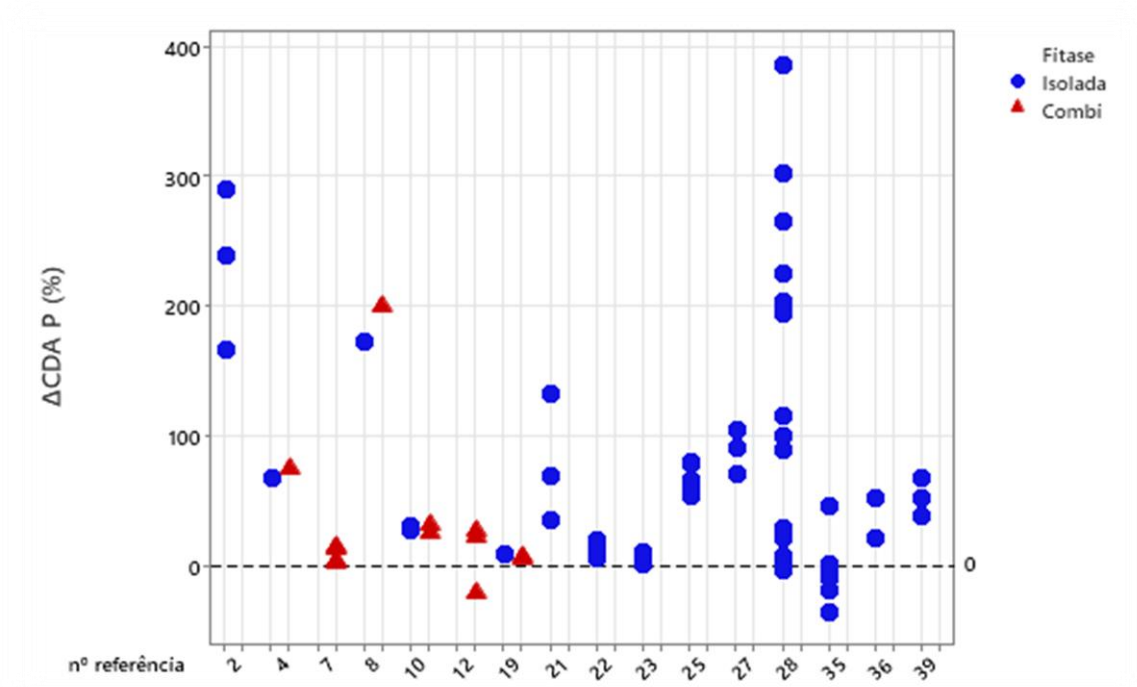
A figura 36 apresentada anteriormente, indica que a fitase adicionada de forma isolada apresentou melhores resultados para a Δ CDA P para níveis baixos e médios, quando comparado com os valores das dietas controle. Já para o nível alto não houveram dados com a combinação enzimática na base de dados.

A figura 38 indica valores de variações individuais do CDA P entre dietas com inclusão de fósforo e o controle, podendo-se notar que a adição de fitase, seja de forma isolada ou combinada foi responsável por melhorar o aproveitamento de P pelo peixe. Com resultados superiores quando se adicionado de forma isolada. Já a figura 40 mostra a variação individual de estudos onde o tratamento testado foi comparado com um controle positivo, com inclusão de fonte de fósforo inorgânico, e/ou com um controle negativo, dieta com restrição de P. Tanto para controles negativos como positivos, a comparação do tratamento teste com o controle resultou em uma variação

positiva do CDA do P, com resultados similares entre controles negativos e positivos, o que demonstra a eficiência da fitase em substituir uma fonte de P inorgânica, obtendo resultados similares. O mesmo é demonstrado na Figura 39, onde a adição de fitase melhorou o CDA do P em dietas com e sem restrição de P.

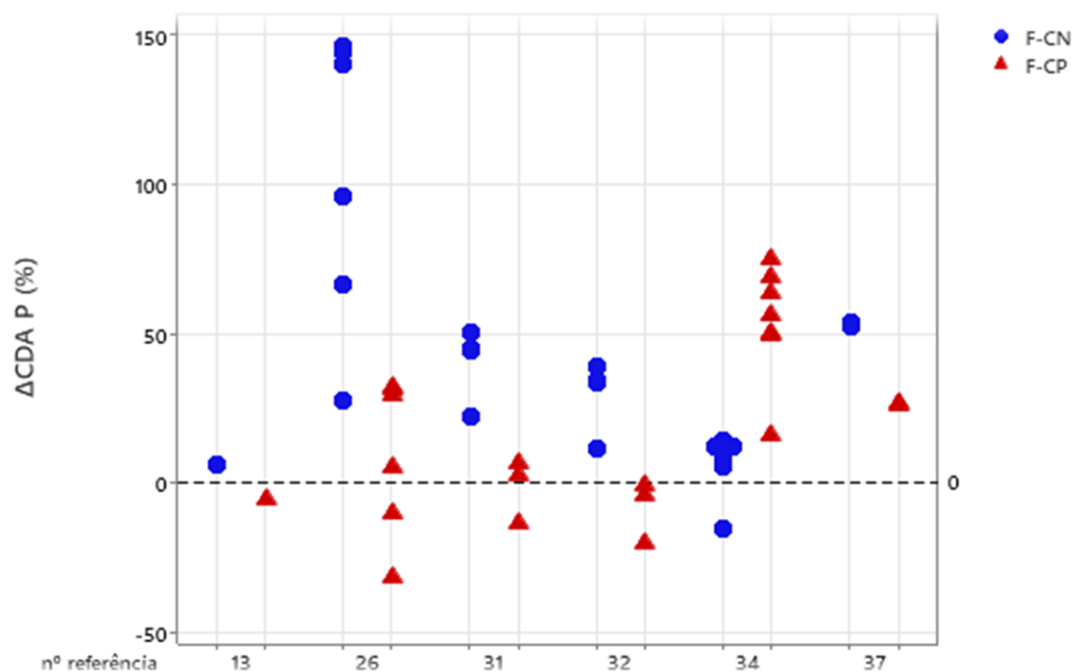
Em relação ao CDA da PB, a figura 42 mostra a variação individual dos tratamentos com fitase em relação ao seu respectivo controle. O gráfico evidencia efeitos positivos da adição de fitase na digestibilidade da PB, com efeitos mais expressivos utilizando a fitase de forma individual. As dietas com desafios nutricionais tiveram melhores respostas para a adição de fitase, com efeitos levemente superiores ao controle e similares a dietas de controle positivo, de acordo com o exposto na figura 43.

Figura 38 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo (Δ CDA P) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



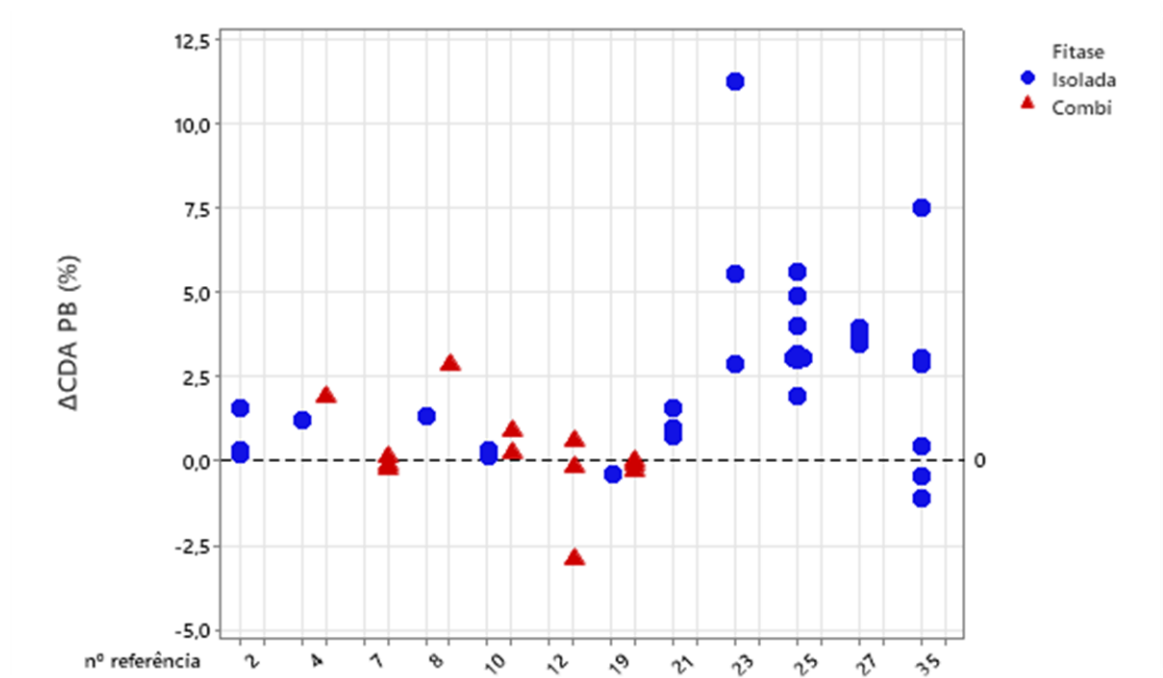
Fonte: O autor.

Figura 39 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo (Δ CDA P) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (controle negativo – F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (controle positivo – F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



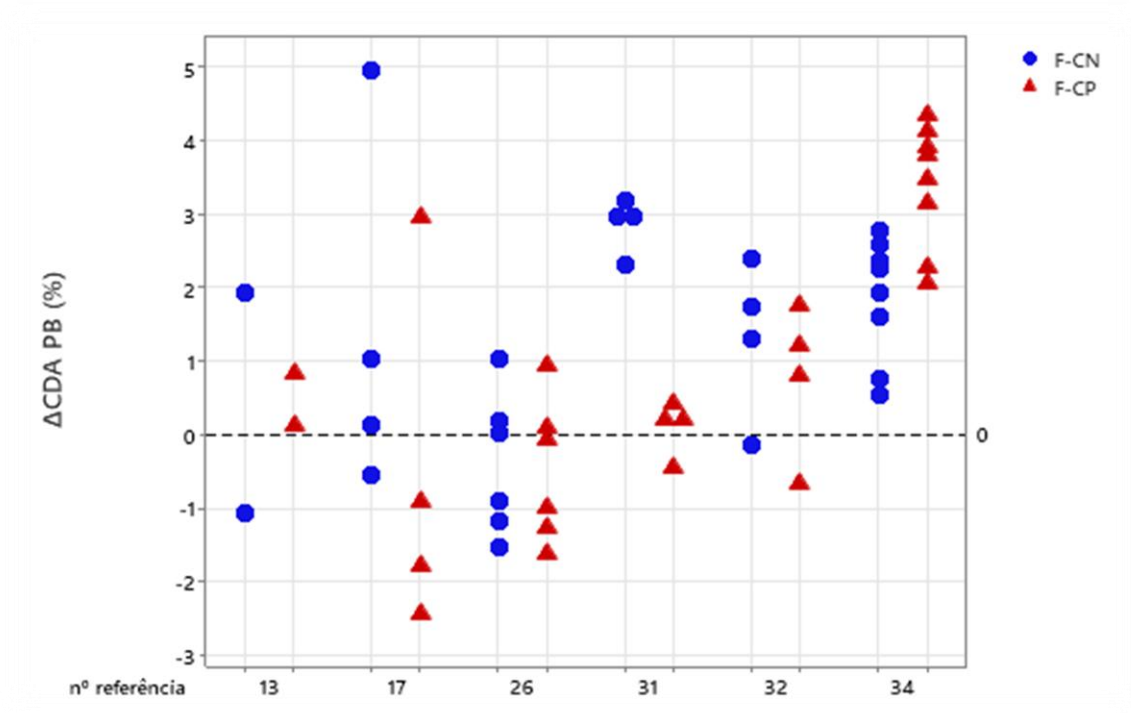
Fonte: O autor

Figura 40 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (Δ CDA PB) entre tratamentos com inclusão de fitase isolada ou combinada e seu respectivo controle. Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com o controle disponível em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



Fonte: O autor

Figura 41 - Variação do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (Δ CDA PB) entre tratamentos com inclusão de fitase e seu respectivo controle em artigos que apresentam dietas com limitação de fósforo (controle negativo – F-CN) e com fósforo atendendo as exigências (controle positivo – F-CP). Cada símbolo no gráfico representam uma comparação individual do tratamento com os controles disponíveis em cada um dos artigos referenciados por códigos presentes na tabela 9.



Fonte: O autor.

2.3.5 Meta-análise por *forest plot*

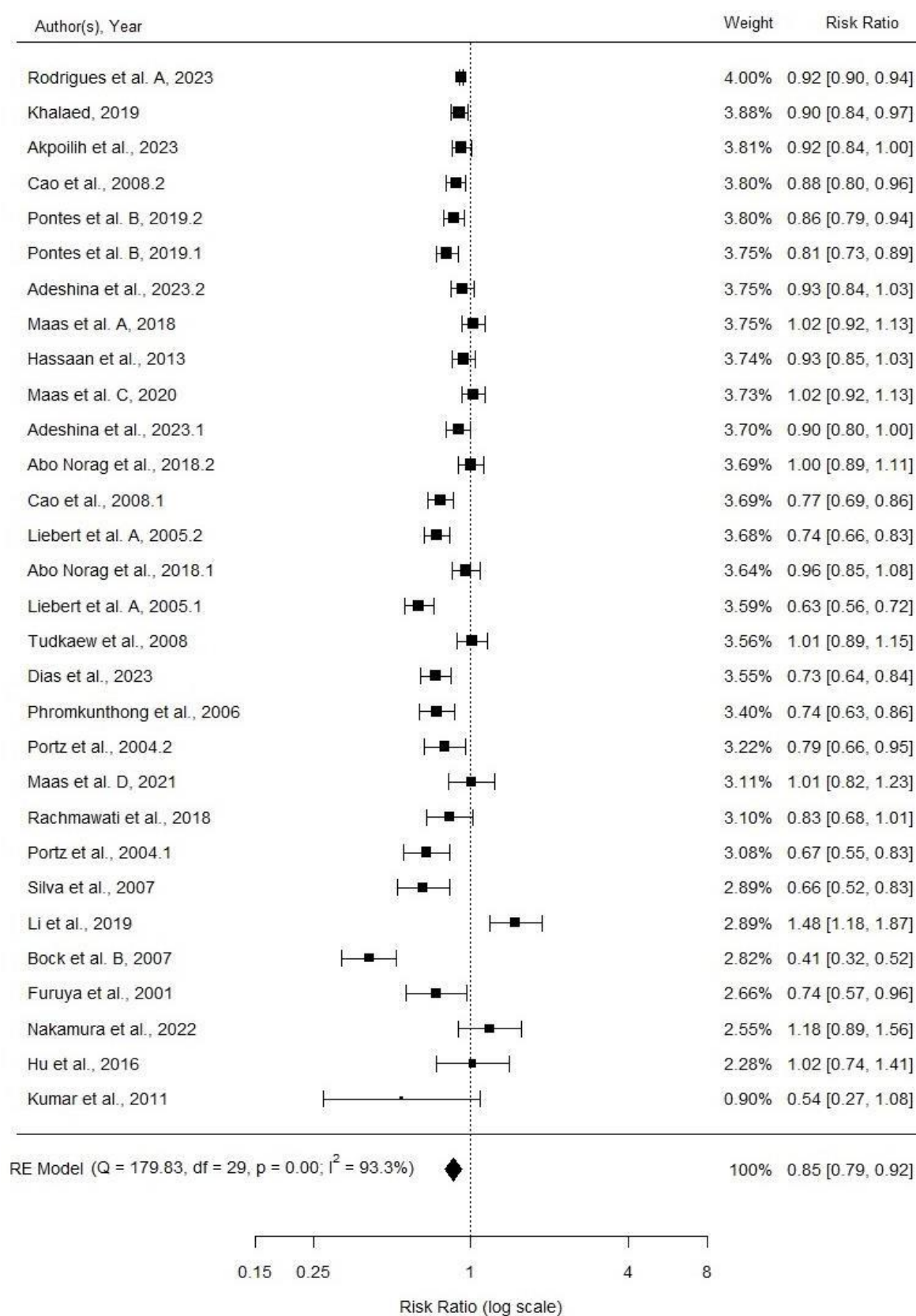
Nas figuras 42 e 44 são apresentados os resultados de meta-análise por meio do *forest plot* para o ganho de peso e coeficiente de digestibilidade aparente do P de tilápias alimentados com dietas contendo ou não inclusão de fitase. No gráfico, cada quadrado representa um estudo com uma linha horizontal que mostra o seu intervalo de confiança (95%), o tamanho do quadrado está associado ao tamanho da amostra. A intersecção do intervalo de confiança com a linha de tendência central (vertical) indica ausência de significância ($P > 0,05$) no resultado para o determinado estudo. O resultado da meta-análise é indicado pelo losango na parte inferior do gráfico.

Foram utilizados 30 e 23 dietas para desempenho e CDA do P respectivamente comparando a inclusão de fitase com a dieta controle, em ambos os casos é possível notar os resultados positivos da inclusão da fitase em relação aos peixes que

receberam a dieta controle. Entretanto o índice I^2 foi de 93,3% (Figura 42) e 94,3% (Figura 44), indicando uma alta heterogeneidade entre os estudos.

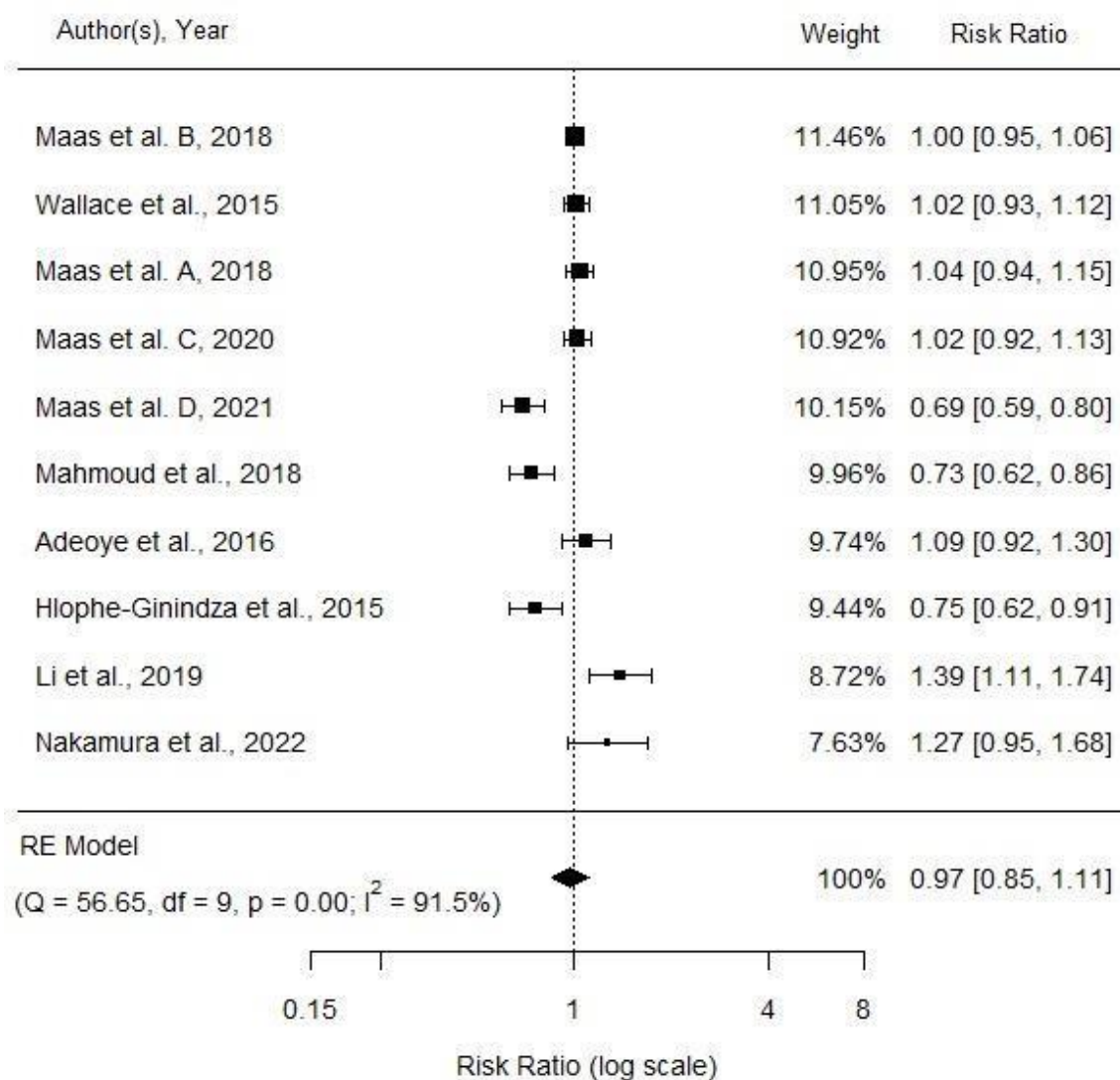
As figuras 43 e 45 indica estudos com dietas combinando fitase e outras enzimas comparadas com o controle, foi utilizado 10 estudos para desempenho e 7 para o CDA do P. Foi verificado que na maioria dos estudos os tratamentos controles foram superiores as dietas testadas. O índice I^2 foi de 91,5% (Figura 43) e 95,4% (Figura 43), indicando alta heterogeneidade.

Figura 42 - Análise em forest plot sobre o efeito da fitase no ganho de peso de tilápias. Artigos acompanhados de números após o ano de publicação apresentam controle positivo (1), com fósforo atendendo as exigências, e controle negativo (2), com restrição de fósforo na dieta.



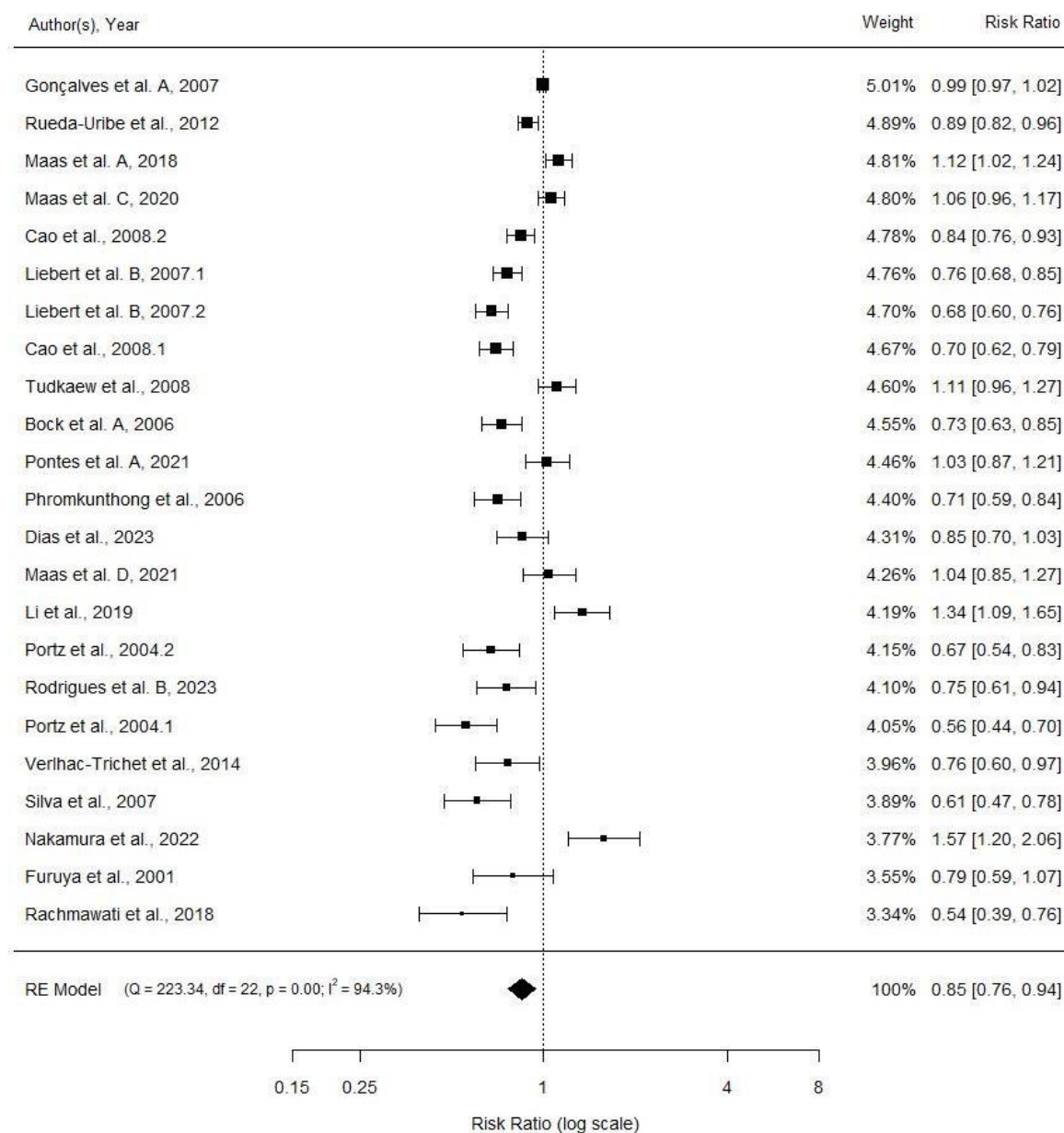
Fonte: O autor

Figura 43 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase combinada com outras enzimas no ganho de peso de tilápias.



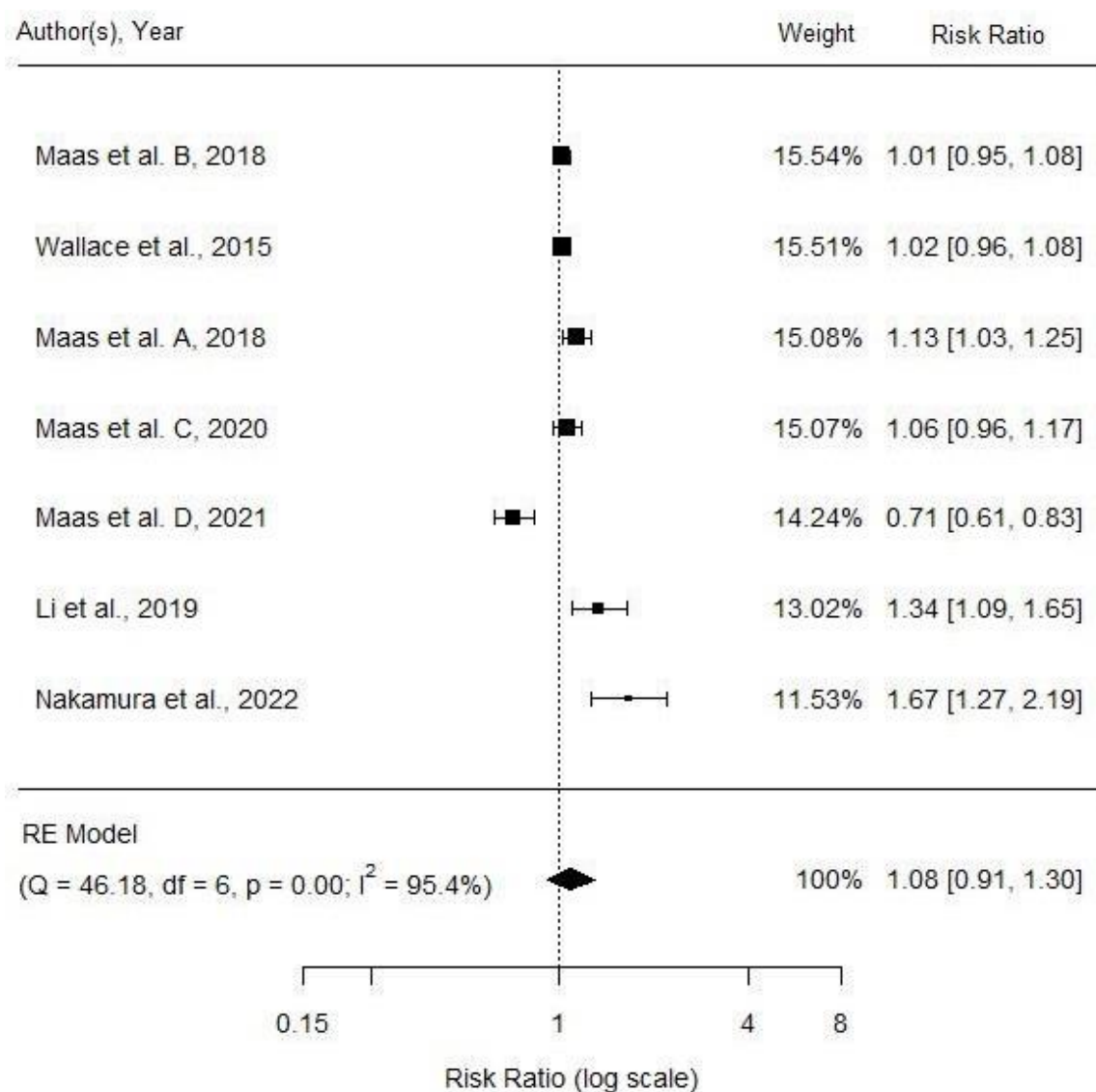
Fonte: O autor.

Figura 44 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase no coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo em tilápias. Artigos acompanhados de números após o ano de publicação apresentam controle positivo (1), com fósforo atendendo as exigências, e/ou controle negativo (2), com restrição de fósforo na dieta.



Fonte: O autor.

Figura 45 - Análise em *forest plot* sobre o efeito da fitase combinada com outras enzimas, no coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo em tilápias.



Fonte: O autor.

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 Revisão sistemática

A revisão sistemática evidenciou que a maior parte das fitases comerciais incluídas nas dietas são do tipo 6 e de fontes fúngicas. Isso se deve ao fato de fitases fúngicas possuírem maior estabilidade térmica e em faixas mais amplas de pH, além de possuir maior especificidade catalítica e resistência a proteólise (Chen *et al.*, 2015). Os fungos possuem ótima capacidade de crescer tanto em meios sólidos como em líquidos, assim, a produção da fitase pode ser feita tanto na forma de fermentação submersa como em estado sólido (Salmon *et al.*, 2012).

O nível de inclusão de fitase mais utilizado foi o médio (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg), isso se deve ao fato de grande parte dos artigos presentes na literatura recomendarem níveis de suplementação dentro desse intervalo para tilápias. Pontes *et al.* (2021) recomenda 1500 FTU/kg para efeitos positivos na CDA do P e PB; Rodrigues *et al.* (2023) recomenda valores de 1500 a 2000 FTU/kg para melhorar o ganho de peso e a biodisponibilidade de nutrientes para os peixes.

Na base de dados houve predominância de artigos que utilizaram rações peletizadas (63,94%), porém analisando a última década (>2013) o cenário se inverte, e 63,93% das dietas são extrusadas. A tecnologia de extrusão ganhou cada vez mais importância na aquicultura, e atualmente é o processamento mais utilizado e recomendado. O processo de extrusão expõe a ração a temperatura e pressão elevadas, produzindo péletes de baixa densidade e melhor aglutinação do amido, mantendo-os mais íntegros e reduzindo a lixiviação dos nutrientes para a água (Moro; Rodrigues, 2015). A utilização de fitase na forma líquida também cresceu na última década, 81,25% dos estudos com fitase líquida ocorreram nesse intervalo, motivada pelo fato de possuir mais resistência a processos térmicos e ser mais adequada as faixas de pH do trato gastrintestinal dos peixes (Pontes *et al.*, 2021). Esses fatos demonstram o surgimento e aplicação de novas tecnologias a nível comercial, buscando intensificar e melhorar a produção de peixes.

2.4.2 Desempenho

Ao comparar as estratégias de meta-análise, verificamos que tanto pelos gráficos de dispersão como pelos gráficos de *forest plot* a adição de fitase de forma individual foi responsável por indicar efeitos positivos no ganho de peso de tilápias. No entanto, os gráficos de *forest plot* apresentaram alta heterogeneidade, com I^2 superiores a 50%. A alta variação presente em todos os gráficos de *forest plot*, deve-se a grande variação presente entre os estudos selecionados, conforme foi abordado da descrição da base de dados. Há variações em relação a fitase utilizada, seja sua forma de utilização ou estrutura, variações em relação aos peixes utilizados, como fase de desenvolvimento, número de peixes e duração do experimento, e composição das dietas utilizadas. Consequentemente os resultados encontrados a partir do *forest plot* sofrem essa alta heterogeneidade entre os experimentos realizados.

Os gráficos de variação da dispersão e de valores individuais também corroboram com o mapeamento por *forest plot*, onde a adição de fitase tanto na forma isolada como de forma combinada obtiveram valores superiores a comparado ao controle. Isso se deve ao fato da fitase hidrolisar as moléculas de fitato e disponibilizar os nutrientes complexados, como a proteína, amido e minerais como o fósforo, auxiliando assim a atividade das enzimas endógenas sobre esses nutrientes, melhorando o aproveitamento e consequentemente aumentando o ganho de peso do peixe (Kumar; Sinha, 2018; Rodrigues *et al.*, 2023). A combinação de fitase com outros complexos enzimáticos como xilanase e proteases são responsáveis por melhorar o ganho de peso devido ao efeito sinérgico presente nessas enzimas, amplificando suas ações e reduzindo os efeitos negativos causados pelos fatores antinutricionais presentes na dieta (Maas *et al.*, 2021; Nakamura *et al.*, 2022).

Esta meta-análise confirma que tanto a fitase adicionada de forma isolada ou combinada influenciam positivamente o ganho de peso de tilápias. Na análise da variação entre GP e CRT, de forma isolada, a fitase reduziu o consumo total de ração com um aumento do GP, em contrapartida a fitase combinada com outras enzimas teve melhores resultados para GP, porém com um consumo maior de ração pela tilápias. Esse resultado possivelmente está atrelado ao fato da diversidade de combinações encontradas bem como uma grande variabilidade de doses de inclusão das enzimas. Recomendamos uma meta-análise abordando os diferentes tipos de

combinação presentes na literatura bem como suas diferentes doses, associada a ensaios de nutrigenômica e metabolômica para assim decompor detalhadamente os efeitos causados por cada enzima do complexo enzimático.

A adição de fitase melhorou a conversão alimentar de alevinos e o ganho de peso e conversão alimentar de juvenis de tilápia. O efeito expressivo evidenciado em juvenis deve-se ao fato de durante essa fase o animal já está com seus órgãos totalmente desenvolvidos e utiliza os nutrientes para ganhar peso, assim, aproveitando melhor os nutrientes ingeridos. Durante a fase de alevinagem o peixe sofre o processo de reversão sexual e ainda está em desenvolvimento, (Fussato *et al.*, 2023) de maneira que a fitase não causa efeitos tão significativos quando comparado a fase juvenil.

Os três níveis de inclusão (baixo, médio e alto), trouxeram benefícios para o desempenho de tilápias, porém níveis baixos (<1000 FTU/kg) e médios (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) além de melhorarem o ganho de peso também reduziram o consumo de ração total, conseqüentemente melhorando a conversão alimentar. Quando comparado a inclusão isolada e a combinada, pode-se notar que a fitase isolada fornece resultados similares, e algumas vezes superiores, a inclusão combinada com outras enzimas, esse achado demonstra que apenas a fitase é capaz de obter resultados satisfatórios de forma individual, sendo uma possibilidade remover demais complexos enzimáticos da ração afim de reduzir os custos totais de alimentação.

Níveis altos e médios de fitase em dietas para alevinos apresentam melhor conversão alimentar, já para juvenis os níveis baixos e médios de fitase nas dietas melhoraram o ganho de peso das tilápias. Esse resultado pode estar relacionado com a menor população amostral neste estudo para inclusões de níveis altos de fitase em dietas para juvenis, assim, inclusões baixas tiveram maior destaque. É notável que o nível médio de inclusão afetou positivamente as duas fases de desenvolvimento, obtendo resultados superiores de desempenho para alguns parâmetros. Esse achado salienta que a adição de fitase de 1500 em até 2000 FTU/kg afeta positivamente a cadeia de produção de tilápias, obtendo peixes com maior peso e consumindo menos ração, reduzindo o custo total de produção. Corroborando com diversos autores que obtiveram resultados positivos (Dias; Santigosa, 2023; Pontes *et al.*, 2021; Rodrigues *et al.*, 2023).

Os resultados da base de dados demonstraram a eficiência da fitase em melhorar a conversão alimentar, tanto na forma isolada como combinada, expressando resultados superiores ao do grupo controle. Esse fato está fortemente atrelado ao melhor aproveitamento e digestibilidade dos nutrientes, como minerais e aminoácidos, o que consequentemente leva a melhora do desempenho. Além disso, níveis baixos e médios de fitase foram responsáveis por reduzir o consumo de ração pelo peixe e simultaneamente aumentar o crescimento, evidenciando os efeitos positivos da fitase na quebra do fitato (Maas *et al.*, 2020b).

Em relação a artigos que utilizaram controle negativo e positivo, pode-se notar nos gráficos de variação, que a fitase obteve efeitos mais expressivos de ganho de peso e conversão alimentar quando houve deficiência de P na dieta. A deficiência de P leva a um menor ganho de peso e prejudica a digestibilidade de lipídeos, carboidratos e disponibilidade de energia. O P tem uma grande importância no metabolismo celular, sendo o doador de fosfato para diversas reações metabólicas. Assim, sua deficiência leva a redução na oxidação de ácidos graxos com consequente redução na gliconeogênese, afetando atividades de manutenção e de produção (Amanzadeh; Reilly, 2006). A adição de fitase resulta em maior disponibilidade de P para reações metabólicas, levando a uma maior valorização do P liberado pela fitase (Maas *et al.*, 2020b). Além disso, em sua maioria, dietas do controle negativo possuíam maior quantidade de P fítico, o que proporcionou mais substrato para atividades da fitase.

Níveis médios (≥ 1000 e < 2000 FTU/kg) e altos (> 2000 FTU/kg) de inclusão de fitase na dieta proporcionaram melhores resultados para GP e um aumento no CRT. Com resultados superiores em níveis médios. Por fim, nota-se que a adição de fitase em dietas com restrição de P é eficaz para melhorar ganho de peso, consumo de ração total e conversão alimentar, obtendo resultados similares a peixes que receberam dietas sem deficiência de P, assim a fitase pode até mesmo substituir a inclusão de P inorgânico em dietas para tilápias, reduzindo o custo de produção da ração, bem como os impactos ambientais causados pela adição do P inorgânico. Recomenda-se a inclusão de 1500 a 2000 FTU/kg de fitase em dietas com algum tipo de restrição de P ou em substituição do P inorgânico.

2.4.3 Digestibilidade

Os gráficos de dispersão e de *forest plot* da inclusão de fitase em dietas para tilápia, confirmam os efeitos positivos da fitase no coeficiente de digestibilidade aparente do P, aumentando sua disponibilidade para absorção. Os dados indicam que a adição de fitase isolada fornece resultados superiores comparados a fitase combinada. A adição individual de enzimas como xilanase e β -glucanase não resultaram em efeitos significativos no CDA do P, apenas quando combinadas com fitase, devido ao efeito sinérgico presente entre essas carboidrases, elas afetam significativamente o CDA do P (Maas *et al.*, 2021; Nakamura *et al.*, 2022), porém devido a uma variação muito grande entre níveis de suplementação e tipos de combinações na base de dados, os resultados sofreram uma grande variação. A partir do gráfico dos níveis de inclusão e análise de variância, podemos observar que o CDA do P foi diretamente proporcional ao nível de fitase suplementado, com efeitos superiores em dietas com fitase individual.

Alevinos e juvenis de tilápias se beneficiam da inclusão de fitase, melhorando seu CDA do P, quando se comparado a dietas sem inclusão da enzima. Isso se deve ao fato de peixes não produzirem fitase de forma endógena para hidrolisar o fitato, os nutrientes associados não são digeridos e são excretados para o meio externo, trazendo impactos negativos para o meio aquático, como a eutrofização do viveiro. Com a adição da fitase na forma exógena, ocorre a hidrólise das moléculas de P complexadas no fitato a partir da desfosforilação, tornando esse P disponível para utilização e absorção, consequentemente aumentando sua biodisponibilidade (Adeola; Cowieson, 2011; Maas *et al.*, 2021).

Os efeitos da fitase no CDA do P foram mais notáveis em dietas com deficiência de P, isso possivelmente se deve ao fato dessas dietas possuírem uma fração maior de P fítico quando comparadas com dietas que atingiram a exigência de P, assim a fitase possui uma quantidade maior de substrato para atuação. O fitato presente na dieta reduz a biodisponibilidade do P e outros minerais a partir da complexação desses nutrientes, a fitase catalisa a hidrólise do fitato, liberando o P, aumentando sua biodisponibilidade e consequentemente aumentando a absorção desse mineral pelo peixe (Kumar; Sinha, 2018; Maas *et al.*, 2021).

A adição de fitase também é responsável por liberar a proteína presente no complexo proteína-fitato, afetando a solubilidade dessas proteínas e impedindo a ação de proteases endógenas (Selle *et al.*, 2012). De forma que a adição de fitase catalisa essas ligações, liberando a proteína complexada e tornando-as de fácil acesso a proteases, aumentando assim sua digestibilidade. Devido a esse motivo, na base de dados, dietas com adição de fitase obtiveram resultados de digestibilidade para PB superiores aos encontrados em dietas sem adição de fitase.

O presente estudo evidenciou os efeitos positivos no desempenho e digestibilidade causados pela adição da fitase em dietas para alevinos e juvenis de tilápias. Com a utilização da meta-análise foi possível identificar algumas lacunas de conhecimento presente nos estudos publicados, sendo a principal delas o balanço de P. A melhora no CDA do P, abordado nesse presente estudo, reduz a excreção desse mineral para o meio externo, porém ainda há poucos artigos que abordam os efeitos da fitase no balanço do P. A combinação de fitase com outras enzimas pode ser melhor explorado, a presente meta-análise indicou que a fitase isolada fornece resultados similares a dietas com inclusão de enzimas com outros complexos enzimáticos.

A partir da meta-análise pode-se afirmar que a inclusão de fitase substitui a inclusão de P inorgânico em dietas com restrição de P. Além disso, o estudo indicou que níveis de suplementação de fitase de 1500 a 2000 FTU/kg proporcionam os melhores resultados de desempenho e digestibilidade para alevinos e juvenis de tilápia.

2.5 CONCLUSÃO

A inclusão de fitase é eficaz em melhorar ganho de peso, conversão alimentar e reduzir o consumo de ração total de alevinos e juvenis de tilápias, bem como melhorar o coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo de dietas com ingredientes de origem vegetal. níveis de 1500 a 2000 FTU/kg de inclusão são os mais eficientes para resultados positivos.

A fitase na forma isolada apresentou resultados similares a fitase combinada com outros complexos enzimáticos, esse resultado pode significar a eficiência da fitase

isolada em substituir com eficiência outras enzimas, reduzindo o custo total da alimentação. Em dietas com restrição de P, a fitase é capaz de melhorar parâmetros de desempenho e digestibilidade, substituindo a inclusão de P na forma inorgânica, reduzindo o custo de produção e os impactos ambientais causados pela liberação desse mineral para o meio externo e tornando a criação de tilápias mais sustentável.

REFERÊNCIAS

- ABO NORAG, M. A. et al. Effect of phytase enzyme on growth performance, serum biochemical alteration, immune response and gene expression in Nile tilapia. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 80, p. 97–108, 1 set. 2018.
- ADEOLA, O; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 3198–3218, 2011.
- ADEOYE, A. A. et al. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 133–143, 1 maio 2016.
- ADESHINA, I. et al. Interactive effects of dietary phosphorus and microbial phytase on growth performance, intestinal morphometry, and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on low-fishmeal diets. **Aquaculture**, v. 563, 30 jan. 2023.
- AKPOILIH, B. U. et al. Evaluating the inclusion of phytase sources to phosphorus-free diets for GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*): Growth performance, intestinal morphometry, immune-antioxidant responses, and phosphorus utilization. **Animal Feed Science and Technology**, v. 303, p. 115678, set. 2023.
- BALDUZZI, S.; RÜCKER, G.; SCHWARZER, G. How to perform a meta-analysis with R: A practical tutorial. **Evidence-Based Mental Health**, v. 22, n. 4, p. 153–160, 1 nov. 2019.
- BOCK, C. L. et al. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2197–2202, 2006.
- BOCK, C. L. et al. Fitase em rações para tilápias-do-Nilo na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 1455–1461, 2007.
- BOUGOUIN, A. et al. Effects of phytase supplementation on phosphorus retention in broilers and layers: A meta-analysis. **Poultry Science**, v. 93, n. 8, p. 1981–1992, 2014.
- CAO, L. et al. Effects of pretreatment with microbial phytase on phosphorous utilization and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 2, p. 99–109, abr. 2008.
- CASTILLO, S.; GATLIN, D. M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. **Aquaculture**, v. 435, p. 286–292, 2015.
- CHEN, C. C. et al. Current Progresses in Phytase Research: Three-Dimensional Structure and Protein Engineering. **ChemBioEng Reviews**, v. 2, n. 2, p. 76–86, 1 abr. 2015.
- COWIESON, A. J. et al. Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 222, p. 180–189, 1 dez. 2016.
- DIAS, J.; SANTIGOSA, E. Maximising performance and phosphorus utilisation of warm water fish through phytase supplementation. **Aquaculture**, v. 569, 15 maio 2023.

- FURUYA, W. M. et al. Fitase na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. **Animal Science**, v. 30, n. 3, p. 924–929, 2001.
- FURUYA, W. M. et al. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. 1. ed. Toledo: Gráfica e Editora, 2010. v. 1
- FUSATTO, A. P. et al. Efeitos de diferentes densidades de estocagem e frequências alimentares no desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Delos: Desarrollo Local Sostenible**, v. 16, n. 47, p. 2597–2609, 27 set. 2023.
- GONÇALVES, G. S. et al. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2155–2163, 2005.
- GONÇALVES, G. S. et al. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 1473–1480, 2007.
- HASSAAN, M. S. et al. Influences of calcium/phosphorus ratio on supplemental microbial phytase efficiency for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 39, n. 3, p. 205–213, 2013.
- HLOPHE-GININDZA, S. N. et al. The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 12, p. 3777–3787, 2015.
- HODAR, A. R. et al. Fish meal and fish oil replacement for alternative sources: a review. **Journal of Experimental Zoology India**, v. 23, n. January, p. 13–21, 2020.
- HU, J. et al. Dietary microbial phytase exerts mixed effects on the gut health of tilapia: A possible reason for the null effect on growth promotion. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 11, p. 1958–1966, 14 jun. 2016.
- KHALED, A. A. Influence of Supplemental Microbial Phytase on Growth Performance Parameters and Expression of immune-related Genes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Middle East Journal of Agriculture Research**, 2019.
- KRYUKOV, V. S.; GLEBOVA, I. V.; ZINOVIEV, S. V. Reevaluation of Phytase Action Mechanism in Animal Nutrition. **Biochemistry (Moscow)**, v. 86, p. S152–S165, 1 jan. 2021.
- KUMAR, V. et al. Isolation of phytate from *Jatropha curcas* kernel meal and effects of isolated phytate on growth, digestive physiology and metabolic changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 2144–2156, set. 2011.
- KUMAR, V. et al. Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 335–364, jun. 2012.
- KUMAR, V.; SINHA, A. K. General aspects of phytases. Em: **Enzymes in Human and Animal Nutrition: Principles and Perspectives**. Amsterdã: Elsevier Inc., 2018. p. 53–72.

LEAN, I. J. *et al.* Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: Methods and applications. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 8, p. 3545–3565, 2009.

LI, X. Q. *et al.* Dietary phytase and protease improved growth and nutrient utilization in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) fed low phosphorus and fishmeal-free diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 46–55, 1 fev. 2019.

LIEBERT, F.; PORTZ, L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. **Aquaculture**, v. 248, n. 1–4, p. 111–119, 29 jul. 2005.

LIEBERT, F.; PORTZ, L. Different sources of microbial phytase in plant based low phosphorus diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* may provide different effects on phytate degradation. **Aquaculture**, v. 267, n. 1–4, p. 292–299, 3 jul. 2007.

LOVATTO, P. A. *et al.* Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. **Resvista Brasileira de Zootecnia**, p. 285–294, 2007.

MAAS, R. M. *et al.* The effect of phytase, xylanase and their combination on growth performance and nutrient utilization in Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 487, p. 7–14, 2018.

MAAS, R. M. *et al.* Effect of exogenous enzymes (phytase and xylanase) supplementation on nutrient digestibility and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different quality diets. **Aquaculture**, v. 529, 15 dez. 2020.

MAAS, R. M. *et al.* Effects and interactions between phytase, xylanase and β -glucanase on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia. **Animal Feed Science and Technology**, v. 271, n. May 2020, p. 114767, 2021.

MAAS, R. M.; VERDEGEM, M. C. J.; SCHRAMA, J. W. Effect of non-starch polysaccharide composition and enzyme supplementation on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 25, n. 3, p. 622–632, 1 jun. 2018.

MAHMOUD, M.; KILANY, O. E.; DESSOUKI, A. A. Effects of fish meal replacement with soybean meal and use of exogenous enzymes in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on growth, feed utilization Histopathological Changes and Blood parameters. **Life Science Journal**, v. 11, n. 2, 2014.

MOHER, D. L. A. *et al.* The PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: **The PRISMA Statement**. Disponível em: <https://www.prisma-statement.org/>. Acesso em 24 de abr. de 2024.

MORO, G. V.; RODRIGUES, A. P. O. **Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento**. 1. ed. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015. v. 1

NAKAMURA, J. S. T. *et al.* Top-sprayed mixture of phytase, xylanase and β -glucanase enhances energy and nutrient matrix in all-vegetable diets for Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 7, p. 2851–2864, 1 maio 2022.

NOVELLI, P. K. et al. Enzymes produced by agro-industrial co-products enhance digestible values for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): A significant animal feeding alternative. **Aquaculture**, v. 481, p. 1–7, 1 dez. 2017.

NWANNA, L. C.; BELLO, O. S. Effect of Supplemental Phytase on Phosphorus Digestibility and Mineral Composition in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Aquaculture**, 2014.

PHROMKUNTHONG, W.; GABAUDAN, J. Used of microbial phytase to replace inorganic phosphorus in sex-reversed red tilapia: 1 dose response. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 28, n. 3, p. 731–743, 2006.

PONTES, T. C. et al. Evaluation of the Phytase Enzyme in granulated and liquid forms for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Archivos de Zootecnia**, v. 68, n. 261, p. 158–163, 2019.

PONTES, T. C. et al. Top-sprayed phytase enhances the digestibility of energy, protein, amino acids and minerals, and reduces phosphorus output in Nile tilapia fed all-vegetable diets. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 12, p. 6562–6570, 1 dez. 2021.

PORTZ, L.; LIEBERT, F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant-based diets with graded levels of microbial phytase. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 311–320, 2004.

RACHMAWATI, D.; SAMIDJAN, I. Effect of Phytase Enzyme on Growth, Nutrient Digestibility and Survival Rate of Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) Fingerlings. **Pertanika J. Trop. Agric. Sci**, v. 41, n. 2, p. 865–878, 2018.

RICHE, M. et al. Apparent digestibility of crude protein and apparent availability of individual amino acids in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed phytase pretreated soybean meal diets. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 25, p. 181–194, 2001.

RIZWANUDDIN, S. et al. Microbial phytase: Their sources, production, and role in the enhancement of nutritional aspects of food and feed additives. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 12, 1 jun. 2023.

RODRIGUES, E. J. D. et al. Phytase Supplementation under Commercially Intensive Rearing Conditions: Impacts on Nile Tilapia Growth Performance and Nutrient Digestibility. **Animals**, v. 13, n. 1, 1 jan. 2023a.

RODRIGUES, E. J. D. et al. Plant-based polymer as a thermoresistant carrier of phytase in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 296, 1 fev. 2023b.

RUEDA-URIBE, W. E.; VÁSQUEZ-TORRES, W.; GUTIÉRREZ-ESPINOSA, M. C. Digestibilidad de fósforo y proteína de raciones suplementadas con fitasa en tilapia, *Oreochromis* sp. **Orinoquia**, v. 16, n. 1, p. 21–29, 2012.

SALMON, D. N. X. et al. A bioprocess for the production of phytase from *Schizophyllum commune*: Studies of its optimization, profile of fermentation parameters,

characterization and stability. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 35, n. 7, p. 1067–1079, set. 2012.

SAUVANT, D. *et al.* Review: Use and misuse of meta-analysis in Animal Science. **Animal**, v. 14, p. s207–s222, 1 jan. 2020.

SELLE, P. H. *et al.* Protein – phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. **Nutrition Research Reviews**, v. 25, n. 1, p. 1–17, 2012.

SILVA, T. S. DE C. *et al.* 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.

TUDKAEW, J.; GABAUDAN, J.; PHROMKUNTHONG, W. The supplementation of phytase RONOZYME P on the growth and the utilisation of phosphorus by sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 17–24, 2008.

VERLHAC-TRICHET, V. *et al.* The Efficacy of a Novel Microbial 6-Phytase Expressed in *Aspergillus oryzae* on the Performance and Phosphorus Utilization of Cold- and Warm-Water Fish: Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, and Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 4, p. 367–379, 2014.

WALLACE, J. L.; MURRAY, F. J.; LITTLE, D. C. Effects of β -xylanase and 6-phytase on digestibility, trace mineral utilisation and growth in juvenile red tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) x *O. mossambicus* (Peters, 1852), fed declining fishmeal diets. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, n. 3, p. 471–479, 2016.