

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**NÍVEIS DE AMINOÁCIDOS DIGESTÍVEIS PARA
JUVENIS DE TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* E
TURNOVER ISOTÓPICO DO CARBONO - 13 E DO
NITROGÊNIO - 15 NO TECIDO MUSCULAR**

**Thiago Matias Torres do Nascimento
Zootecnista**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**NÍVEIS DE AMINOÁCIDOS DIGESTÍVEIS PARA
JUVENIS DE TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* E
TURNOVER ISOTÓPICO DO CARBONO - 13 E DO
NITROGÊNIO - 15 NO TECIDO MUSCULAR**

**Thiago Matias Torres do Nascimento
Orientador: Prof. Dr. Dalton José Carneiro
Coorientador: Dr. Eduardo Gianini Abimorad**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

N244n Nascimento, Thiago Matias Torres do
Níveis de aminoácidos digestíveis para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* e *turnover* isotópico do carbono – 13 e do nitrogênio – 15 no tecido muscular / Thiago Matias Torres do Nascimento. – Jaboticabal, 2015
xi, 90 p.: il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Dalton José Carneiro

Coorientador: Eduardo Gianini Abimorad

Banca examinadora: Rosangela Kiyoko Jomori Bonichelli, Marta Verardino de Stefani, Leonardo Susumu Takahashi, Thiago El Hadi Perez Fabregat

Bibliografia

1. Escore químico. 2. Ingredientes. 3. Isótopos estáveis. 4. L-lisina. 5. Nutrição. 6. Peixes. 7. Perfil de aminoácidos. 8. Proteína ideal. 9. Qualidade da proteína. 10. *Turnover* isotópico. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 639.3.043

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THIAGO MATIAS TORRES DO NASCIMENTO – nascido em 27 de novembro de 1985, na cidade de São Paulo (SP), filho de Arthur José Augusto do Nascimento e Esmeralda Matias Torres, ingressou no curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – campus de Jaboticabal em março de 2004, onde foi bolsista do Programa de Ensino Tutorial (PET-Zootecnia), graduando-se em dezembro de 2008. Em março de 2009 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, a nível de mestrado, Área de Concentração Nutrição e Alimentação, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Dalton José Carneiro, onde foi bolsista pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), obteve o título de mestre em fevereiro de 2011. Em março do mesmo ano iniciou o curso de doutorado pela mesma instituição, onde também foi bolsista pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

*À minha mãe Esmeralda, ao meu padrasto Victor e à minha irmã
Nathália, por sempre me apoiarem nessa grande jornada,*

*À Carolina, a mulher que escolhi para estar ao meu lado, por
todo amor, paciência, compreensão e companheirismo,*

Dedico.

*Ao amigo e orientador Prof. Dr. Dalton José Carneiro,
por todo o incentivo, confiança, dedicação e
ensinamentos,*

Ofereço.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp, pela concessão da bolsa de estudos, e auxílio à pesquisa.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias e ao Centro de Aquicultura da Unesp, por toda estrutura disponibilizada.

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro pela orientação segura, ensinamentos, conselhos, incondicional apoio e principalmente pela amizade.

Ao Dr. Eduardo Gianini Abimorad pela coorientação e amizade.

À Guabi e ao Dr. Giovani Sampaio Gonçalves pela doação dos ingredientes.

Ao Prof. Dr. Dominique Bureau e toda sua equipe, pela grande oportunidade da realização do doutorado sanduíche na University of Guelph.

Aos amigos e colegas do Laboratório de nutrição e do CAUNESP: Lígia, Bruna, Naiara, Jesaías, Taís, Hellen, Lidiane, Joana, Olivia (Taxinha), Thiago (Nogento), Juliana (Tomys), Rodrigo (Gimbo), Carol, Natália, Thyssia, Andressa, Thalys, Amanda, Rudney, Juliano, Ivan, Frederico, Raphael, Cléber, Marcelo, Silvia, Valdecir, Márcio (Perereca), Donizete, e à todos que aqui não foram lembrados.

Aos membros das comissões examinadoras do exame geral de qualificação e da tese: Prof. Dr. Luciano Hauschild, Profª. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati, Profª. Dra. Marta Verardino de Stéfani, Prof. Dr. Edney Pereira da Silva, Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi, Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat e Profª. Dra. Rosângela Kyoko Jomori Bonichelli, pela disponibilidade e pelas valiosas sugestões e correções deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti e todos os alunos, professores e funcionários do Centro de Isótopos Estáveis da Unesp de Botucatu, por permitirem o uso do laboratório e auxiliarem na realização das análises de isótopos estáveis.

À Ana Paula Sader, Joyce Vizentim e Orlando Agostini, pelo auxílio na realização das análises bromatológicas.

Aos amigos de república: Everton, Giovani, Luciano e Fernando.

As amigas de faculdade e pós graduação: Fuxica, Lola, Black, Laka, Tirinha, Pega-leve e Biskoita.

Aos grandes mestres desta instituição, pelas valiosas disciplinas e trocas de conhecimentos.

À grande família Torres: meus avós Daniel e Maria, minha mãe Esmeralda e meu padrasto Victor, meu padrinho Camilo e minha tia Paola, minha madrinha Daniela e meu tio Armando, minha irmã Nathália e meus primos Daniel, Matheus e Pepé, por terem me ensinado o verdadeiro valor da vida e a importância da família.

À Família Nascimento: meus avós Arthur “in memoriam” e Albertina, meu pai Arthur e minha madrasta Rosana.

Ao Birigui e a Cristina, por me proporcionarem bons momentos em família.

À Carol, minha companheira de todos os momentos, por toda ajuda.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. Introdução geral.....	1
2. Espécie estudada.....	2
3. Estudos de digestibilidade com peixes.....	3
4. Níveis de aminoácidos em dietas para peixes	4
5. Isótopos estáveis ambientais na nutrição	6
6. Objetivos.....	8
7. Referências	9
CAPÍTULO 2 – Coeficientes de digestibilidade aparente de aminoácidos de alimentos para o tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	16
1. Introdução	17
2. Material e métodos	18
3. Resultados	24
4. Discussão.....	30
5. Conclusão	36
6. Referências	36
CAPÍTULO 3 - Lisina digestível e estimativa das exigências de aminoácidos essenciais para juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i>	46
1. Introdução	47
2. Material e métodos	48
3. Resultados	53
4. Discussão.....	57
5. Conclusão	60
6. Referências	61
CAPÍTULO 4 - <i>Turnover</i> isotópico de carbono $\delta^{13}\text{C}$ e nitrogênio $\delta^{15}\text{N}$ no tecido muscular de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> alimentados com dietas suplementadas com lisina e/ou metionina.....	67
1. Introdução	68
2. Material e métodos	69
3. Resultados e discussão	79
4. Conclusão	86
5. Referências	86



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 016114/11 do trabalho de pesquisa intitulado "**Níveis de aminoácidos digestíveis para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* e turnover isotópico do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) no tecido muscular**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Dalton José Carneiro está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 05 de Agosto de 2011.

Jaboticabal, 10 de Agosto de 2011.

Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui
Presidente - CEUA

Med. Vet. Maria Alice de Campos
Secretária - CEUA

NÍVEIS DE AMINOÁCIDOS DIGESTÍVEIS PARA JUVENIS DE TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* E *TURNOVER* ISOTÓPICO DO CARBONO - 13 E DO NITROGÊNIO - 15 NO TECIDO MUSCULAR

RESUMO – Três experimentos foram conduzidos para determinar a digestibilidade de aminoácidos dos principais alimentos utilizados na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), estimar a exigência em aminoácidos digestíveis para esta espécie e com estas informações avaliar o efeito da suplementação de lisina e/ou metionina em dietas práticas no *turnover* dos isótopos estáveis de carbono-13 e nitrogênio-15 em tecido muscular. No estudo 1, foram utilizados 390 juvenis de tambaqui ($70 \pm 8,6$ g) para avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos (AA) de trezes alimentos. Para os alimentos energéticos, altos valores de digestibilidade para todos os aminoácidos essenciais foram observados para o milho (94,60%) e o farelo de trigo (91,93%) e menores para a quirera de arroz (75,66%) e o sorgo (72,84%). Para os alimentos proteicos, em geral, os valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de aminoácidos essenciais (AAE) e aminoácidos não essenciais (AANE) foram elevados (de 79,47 a 98,46%), com exceção da levedura de álcool (68,44% para AAE e 76,68% para AANE). O triptofano foi o aminoácido que apresentou-se como o mais limitante para maioria dos alimentos estudados, com os menores escores químicos (de 6,21 a 51,25), exceto para o farelo de trigo, glúten de milho e farelo de soja em que a lisina foi o primeiro limitante. O maior índice de aminoácidos essenciais digestíveis (IAAE) foi apresentado pelo farelo de soja (102,38%), que foi o alimento mais completo em relação ao perfil de aminoácidos, ao contrário do glúten de trigo, que apresentou o menor IAAE (48,03%). Realizou-se o ensaio 2, de dose resposta, para determinar a exigência nutricional em lisina digestível para juvenis de tambaqui e desta forma estimar as exigências nutricionais dos outros aminoácidos. Os peixes com peso médio de $7,74 \pm 1,01$ g foram alimentados com sete dietas contendo os níveis de lisina digestível de: 0,92; 1,22; 1,50; 1,71; 1,94; 2,20 e 2,46 %. A exigência de lisina digestível determinada através do ajuste dos dados pelo modelo quadrático associado ao platô do *Linear Response Plateau* (LRP), com base nos valores médios de retenção de proteína foi de 1,76%. As exigências dos aminoácidos

estimados utilizando o conceito de proteína ideal, foram: arginina (0,90%), histidina (0,37%), isoleucina (0,64%), leucina (1,19%), metionina (0,48%), fenilalanina (0,59%), treonina (0,53%), triptofano (0,17%), valina (0,72%), cistina (0,24%) e tirosina (0,51%). Por fim, o terceiro experimento teve como objetivo estudar o *turnover* isotópico do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) no tecido muscular ao longo do tempo, de acordo com o crescimento dos animais em resposta às exigências nutricionais. Após um período de padronização isotópica em que 2800 juvenis de tambaqui ($1,16\pm 0,22\text{g}$) foram alimentados com dieta de assinatura isotópica predominante de plantas C_4 durante 60 dias, 640 peixes ($8,16\pm 0,42\text{g}$) foram selecionados e distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de fibra de vidro (450 L). Desta forma, os grupos de peixes passaram a receber durante 120 dias, as quatro dietas experimentais (D - deficiente, L - suplementada com lisina, M - suplementada com metionina e LM - suplementada com ambos os aminoácidos) com assinaturas isotópicas predominante de plantas do ciclo fotossintético C_3 , para avaliação do desempenho produtivo e do *turnover* isotópico. Quando os animais receberam a dieta que atende completamente as exigências em lisina e metionina (LM), estes apresentaram médias dos parâmetros de desempenho produtivo melhores em relação aos demais e *turnover* isotópico do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) mais acelerado.

Palavras-chave: Escore químico, ingredientes, isótopos estáveis, L-lisina, nutrição, peixes, perfil de aminoácidos, proteína ideal, qualidade da proteína e *turnover* isotópico.

LEVELS OF DIGESTIBLE AMINO ACIDS FOR TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* AND MUSCLE TISSUE ISOTOPIC TURNOVER OF CARBON-13 AND NITROGEN-15

ABSTRACT – Three experiments were conducted to determine the amino acid digestibility of the principal ration ingredients fed to juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*), to estimate this species' requirements for digestible amino acids and with this information, to evaluate the effect of lysine and/or methionine supplementation in diets on the turnover of stable carbon-13 and nitrogen-15 isotopes in muscle tissue. In the first study, 390 tambaqui juveniles (70 ± 8.6 g) were used to evaluate the apparent digestibility coefficients (ADC) of the amino acids (AA) of thirteen common feed ingredients. For energy feedstuffs, high digestibility values for all essential amino acids were observed for corn (94.60%) and wheat middling (91.93%) and lower values for broken rice (75.66%) and sorghum (72.84%). For protein feedstuffs, the apparent digestibility coefficients (ADC) for both essential amino acids (EAA) and non-essential amino acids (NEAA) were high (79.47 to 98.46%), with the exception of alcohol yeast (68.44% for EAA and 76.68% for NEAA). For most of the foods studied, tryptophan was found to be the most limiting AA, with the lowest chemical scores (6.21 to 51.25). However, lysine was found to be the first limiting for wheat middling, corn gluten and soybean meal. Soybean meal was the most complete food as respects to the amino acid profile, with an index of digestible essential amino acids (IAAE) of 102.38%, unlike wheat gluten, which had the lowest IAAE at 48.03%. In the second test, dose response was carried out to determine the digestible lysine requirements for tambaqui. The nutritional requirements of other amino acids could be estimated from the lysine requirements, thereby designing an amino acid profile (called "ideal protein") through the relationship between the best digestible dietary lysine and the amino acid profile of white tambaqui muscle. Fish with an average weight of 7.74 ± 1.01 g were fed diets containing seven lysine levels: 0.92; 1.22; 1.50; 1.71; 1.94; 2.20 and 2.46%. The digestible lysine requirement was determined by fitting the data using the quadratic model associated with the plateau Linear Response Plateau (LRP), based on the protein retention values average of 1.76%. The other amino acid requirements estimated using the ideal protein concept were: arginine – 0.90; histidine – 0.37; isoleucine

– 0.64; leucine – 1.19; methionine – 0.48; phenylalanine – 0.59; threonine – 0.53; tryptophan 0.17; valine 0.72; cystine 0.24 and tyrosine 0.51. Finally, the third objective was to study the turnover rate of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes in muscle tissue, according to the animals' growth in response to nutrient requirements. After a period of isotopic standardization in which 2,800 tambaqui juveniles (1.16 ± 0.22 g) were fed a predominantly isotopic signature diet of C_4 plants for 60 days, 640 fish (8.16 ± 0.42 g) were selected and randomly distributed into 20 fiberglass tanks (450 L). These groups then received four dietary treatments for 120 days: D – poor, L – supplemented with lysine, M – supplemented with methionine, and LM – supplemented with either amino acid, with the predominant isotopic signatures of photosynthetic cycle C_3 plants, for productive performance evaluation and isotopic turnover. When the animals were fed the diet that completely met the lysine and methionine requirements (LM), their average production performance parameters were better and they had and faster isotopic nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) turnover.

Keywords: Amino acid profile, chemical score, fish, ideal protein, ingredients, L-lysine, nutrition, protein quality, stable isotopes and turnover isotopic.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução geral

O Brasil é hoje um dos países com maior capacidade de crescimento na aquicultura, uma vez que, possui a maior reserva de água doce do planeta (cerca de 8 mil km³), imensa variedade de espécies de peixes com potencial para produção em cativeiro e clima favorável a esta prática na maioria dos estados da nação. Além disso, o Brasil possui mercado interno em constante crescimento, sendo a média atual de consumo anual de 9,75 quilos por habitante, e deste pescado, somente 66% está sendo produzido no país (BRASIL, 2013).

No entanto, a atividade aquícola no Brasil ainda encontra-se pouco estruturada, com número insuficiente de profissionais capacitados, manejos incorretos, ausência de pacotes tecnológicos para produção e elevada necessidade de informações nutricionais que favoreçam a intensificação e o crescimento da atividade; entre estas informações, estão os coeficientes de digestibilidade e a exigências em nutrientes para espécies nativas.

Neste cenário está o tambaqui, *Colossoma macropomum*, que embora seja o peixe nativo mais produzido no Brasil (BRASIL, 2013), com inúmeras características favoráveis à piscicultura como rusticidade, sabor da carne, crescimento rápido, boa oferta de juvenis e hábito alimentar onívoro (ARAÚJO-LIMA; GOMES, 2005), não tem sido suficientemente estudado; sendo assim, são escassas as informações sobre a alimentação e nutrição da espécie.

À medida que intensifica-se a atividade, tornam-se necessários estudos que visem determinar os coeficientes de digestibilidade específicos para cada espécie, já que sem estas informações, os nutricionistas arriscam-se em superdosagens, que elevam a ineficiência e o custo de produção, ou em subdosagens, que podem reduzir as taxas de crescimento e, de outras formas, o desempenho dos peixes (GONÇALVES; CARNEIRO, 2003). Também, o uso de rações não balanceadas reduzem a absorção de nutrientes pelos peixes, podendo resultar em excesso de matéria orgânica nos sistemas de produção, reduzindo a concentração de oxigênio dissolvido no período noturno, induzindo estresse respiratório e bioquímico com sérios riscos à saúde dos peixes e possíveis perdas no sistema de produção (CYRINO et al., 2010).

Em estudos de exigências nutricionais, especificamente com aminoácidos, a metodologia mais utilizada tem sido a dose resposta, onde os animais são alimentados com dietas com diferentes níveis de suplementação e por meio de parâmetros de desempenho produtivo, estabelece-se o nível mais indicado (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007). O presente estudo, além de determinar as exigências com esta metodologia muito bem fundamentada na literatura, também utilizará o *turnover* isotópico muscular do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$), como ferramentas complementares a esta metodologia.

2. Espécie estudada

O Brasil possui inúmeras espécies de peixes com potencial para piscicultura; dentre estas destaca-se o tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). Esta espécie de piracema, nativa das bacias dos rios Solimões, Amazonas e Orinoco, é amplamente distribuída na parte tropical da América do Sul e na Amazônia Central (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1998), possui um alto potencial de cultivo e grande importância econômica e social para as famílias ribeirinhas do Amazonas (MELO et al., 1998; VAL et al., 2000), podendo em ambiente natural alcançar de 90 a 100 cm de comprimento, com peso entre 30 a 40 kg (GOULDING; CARVALHO, 1982), o que o torna o segundo maior peixe de escamas da Amazônia.

Esta espécie de peixe é a nativa mais produzida na atualidade, representando 20,4% do total de pescado proveniente da piscicultura continental do país, estando atrás somente da tilápia-do-nilo, que hoje representa 46,6% de toda produção. Entre os anos de 2003 e 2011, a produção cresceu em torno de 533%, aumentando de 20.833 t para 111.084 t, respectivamente (BRASIL, 2013). Este crescimento deve-se a características como boa conversão alimentar, à sua qualidade de carne, rápido crescimento e ótima taxa de eficiência alimentar, já que o aproveitamento da energia e da proteína são elevados tanto para ingredientes de origem animal como vegetal. Esta aptidão está relacionada ao hábito alimentar da espécie, por ser onívoro, com tendência à herbívoro, filtrador e frugívoro (NUNES et al., 2006); a sua dieta natural inclui zooplâncton, frutos e sementes. Além disso, aceita facilmente rações artificiais e adapta-se bem ao cativeiro (SANTOS et al., 2010).

Apesar da grande representatividade da produção aquícola atual e da inserção do tambaqui nesta atividade, ainda há escassez de informações sobre as necessidades de nutrientes, principalmente de aminoácidos, e os coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes comumente usados em dietas formuladas para a espécie. Somente com estas informações, será possível formular dietas que busquem reduzir os custos com alimentação, os mais expressivos dentro da cadeia produtiva do pescado, e tornar a produção desta espécie em cativeiro cada vez mais eficiente, com dietas balanceadas e específicas para cada fase de crescimento.

3. Estudos de digestibilidade com peixes

Os coeficientes de digestibilidade quantificam as diferentes formas que cada espécie aproveita os alimentos (ANDRIGUETO, 1999). Assim, o seu conhecimento é de extrema importância para o atendimento das exigências nutricionais. Sem os dados de digestibilidade, não é possível saber se os nutrientes fornecidos realmente são aproveitados, o que pode levar a um desbalanceamento de proteína ou de outro nutriente, ao incremento nos custos de produção e produção de dietas pouco eficientes (GONÇALVES; CARNEIRO, 2003). Além disso, a digestibilidade dos ingredientes é um dos principais fatores que afetam os efluentes das pisciculturas, e para minimiza-los, deve-se iniciar pela melhora na formulação das dietas (CHO; BUREAU, 2001).

Em peixes, como há dificuldade na coleta total das fezes e na medição precisa da quantidade de alimento consumido, utiliza-se o método indireto de medição de digestibilidade, que consiste na coleta parcial das fezes por meio da utilização de um marcador inerte na dieta. O marcador mais utilizado em estudos de digestibilidade em peixes é o óxido de cromo III (AUSTRENG, 1978; BREMER NETO et al., 2003).

Estudos de digestibilidade com peixes vêm sendo conduzidos há algumas décadas. Para espécies como a tilápia-do-nilo, e o salmão do Atlântico, muitos são os resultados obtidos; com isso, as indústrias que produzem alimentos para estas espécies vêm se aprimorando a cada ano, formulando dietas cada vez mais eficientes.

Por outro lado, para o tambaqui o cenário é bastante diferente, pois são poucos os estudos de digestibilidade para esta espécie; além disso, a maioria

desses estudos foram conduzidos com o objetivo de determinar a digestibilidade e ingredientes alternativos e regionais (SILVA et al., 2003; OISHI, 2007 e ANSELMO, 2008). Para ingredientes convencionais, os estudos foram iniciados recentemente por Guimarães et al. (2014), que determinaram a digestibilidade da proteína e da energia de oito alimentos para juvenis de tambaqui e por Buzollo (2014) que determinou a digestibilidade da proteína, lipídio e energia e 16 alimentos; porém, este é apenas o início, já que novos alimentos precisam ser testados, além de outros nutrientes, como é o caso dos aminoácidos.

Para Köprücü e Özdemir (2005), somente com o conhecimento da digestibilidade de todos os aminoácidos que compõe a fração proteica dos alimentos, bem como dos outros nutrientes e energia, os alimentos poderão ser utilizados com eficiência na alimentação dos animais. Mesmo havendo uma correlação entre os coeficientes de digestibilidade da proteína e dos aminoácidos (HOSSAIN; JAUNCEY, 1989), é importante determinar a digestibilidade individual de cada aminoácido, pois a digestibilidade da proteína de um alimento, nem sempre reflete a disponibilidade de alguns aminoácidos essenciais (WILSON et al., 1981; MASUMOTO et al., 1996; DE SILVA et al., 2000).

A indústria tem demandado cada vez mais informações sobre a digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos, pois quando utilizados ingredientes de baixa qualidade ou que apresentam desbalanço de aminoácidos, faz-se necessário a suplementação com aminoácidos sintéticos (ABIMORAD, 2008), e somente com estas informações esta suplementação pode ser realizada com segurança.

4. Níveis de aminoácidos em dietas para peixes

Além do conhecimento dos coeficientes de digestibilidade, outro parâmetro muito importante é o escore químico. Para Van Der Meer e Verdegem (1996), seria um dos índices que poderiam estabelecer, de forma mais eficaz, a relação entre a composição da proteína e sua qualidade nutricional, quando comparada com o perfil de aminoácidos de uma proteína de referência, como, a do músculo da espécie estudada, permitindo estabelecer os aminoácidos limitantes para o crescimento da espécie.

Em peixes, os aminoácidos oriundos da dieta ou da quebra de proteínas, desempenham numerosas funções, e uma das principais é a construção de

blocos de proteínas (BALLANTYNE, 2001). No entanto, são também necessários para a síntese de outros compostos associados com o metabolismo, incluindo hormônios, neurotransmissores, purinas e enzimas metabólicas. Além disso, podem ser catabolizados para suprir a demanda energética metabólica. Os aminoácidos para estas funções são provenientes da dieta e, o seu *turnover* nos tecidos ocorre constantemente (HALVER; HARDY, 2002).

Substituir a proteína da farinha de peixe por uma fonte mais barata para reduzir o custo de produção já é uma opinião generalizada na atualidade. Com isso, torna-se necessário determinar as exigências em aminoácidos para cada espécie, e incluir os aminoácidos sintéticos de modo a atender as necessidades nutricionais dos animais, já que há uma variação relativamente grande nas exigências em lisina e metionina para peixes de cativeiro, devido a diferenças entre espécies, sistemas de criação, fase de desenvolvimento e composição das dietas experimentais (NUNES et al., 2014).

As necessidades dietéticas em metionina para peixes de cativeiro variam de 1,4 a 2,9% da proteína da dieta e 0,5 a 1,5% da dieta. Já as necessidades dietéticas em lisina variam na faixa de 3,0 a 8,6% da proteína da dieta e 1,2 a 3,3% da dieta (NRC, 2011). Utilizando níveis adequados de metionina e lisina para cada espécie, melhora-se a utilização de outros aminoácidos essenciais, já que eles têm a capacidade de reduzir a taxa de oxidação de outros aminoácidos (KERR; EASTER, 1995).

Para Furuya et al. (2004), a lisina geralmente é o primeiro ou segundo aminoácido limitante em dietas para peixes, sendo encontrada em elevada proporção na carcaça. A lisina, junto com a metionina, é a precursora da carnitina que é requerida para o transporte intracelular de ácidos graxos de cadeia longa no interior da célula (WALTON et al., 1984). Tendo em vista a importância da lisina no metabolismo animal, torna-se necessária a suplementação deste aminoácido em dietas deficientes, sendo a L-lisina HCl, a forma mais utilizada de lisina sintética pela indústria na alimentação de animais (NUNES et al., 2014).

Segundo Ruchimat et al. (1997), a metionina é um dos aminoácidos indispensáveis, sendo imprescindível para o crescimento normal do organismo, sendo requerida para síntese proteica e vários outros processos metabólicos. De acordo com o NRC (2011) a metionina pode ser parcialmente poupada pela

cistina, já que a cistina é sintetizada através da metionina. A cistina pode representar de 40% a 60% da exigência total de aminoácidos sulfurados (metionina + cistina). Esse efeito poupador, muitas vezes dificulta a determinação da exigência em metionina (NUNES et al., 2014). A forma mais comum de utilização da metionina sintética na suplementação animal é a DL - metionina, uma mistura dos isômeros D e L metionina (GOFF; GATLIN, 2004).

De maneira geral, os animais necessitam de um adequado balanceamento entre aminoácidos essenciais e não essenciais, que constituam uma cadeia polipeptídica, assim, para que a proteína ingerida em uma dieta se transforme em tecido muscular ela é hidrolisada até aminoácidos, sendo estes deslocados até as células para síntese de novas proteínas (ABIMORAD, 2008). Estes aminoácidos podem ser obtidos pela combinação de ingredientes e/ou pela suplementação com aminoácidos sintéticos (STOREBAKKEN et al., 2000).

O conceito de proteína ideal baseia-se no balanceamento de aminoácidos livres ou ligados a proteínas, prontamente disponíveis à digestão e ao metabolismo, para obter-se ótimo desempenho produtivo (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007). A relação entre os aminoácidos da proteína ideal, teoricamente deveria ser idêntica ao perfil de aminoácidos do corpo e à exigência do animal para crescimento e manutenção das atividades metabólicas (PARSONS; BAKER, 1994). Segundo Cyrino et al. (2010) o uso do “conceito de proteína ideal” é a técnica mais adequada para otimizar a absorção de aminoácidos dietéticos e diminuir a excreção de amônia pelos peixes.

5. Isótopos estáveis ambientais na nutrição

Os isótopos estáveis do carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O) e nitrogênio (N) ocorrem naturalmente na atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. O termo isótopo vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato de que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. A expressão *estáveis* significa que não emitem radiação. Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico (mesmo número de prótons), mas que diferem em número de nêutrons, apresentando diferentes massas. Cada elemento químico apresenta um isótopo estável *leve*, dominante: carbono-12 (^{12}C), hidrogênio-1 (^1H), oxigênio-16 (^{16}O) e nitrogênio-14 (^{14}N), e um ou dois isótopos *pesados*: carbono-13 (^{13}C), hidrogênio-2 (^2H), oxigênio-17 (^{17}O), oxigênio-18 (^{18}O) e

nitrogênio-15 (^{15}N), com abundância ou concentração natural expressa em átomos % (DUCATTI, 2007a).

Metabolicamente, o crescimento muscular reflete a incorporação dos nutrientes da dieta, especificamente dos bioelementos, como os átomos de carbono, nitrogênio, hidrogênio, oxigênio e enxofre, que são os responsáveis por mais de 90% de todos os tecidos vivos. A incorporação dos átomos das dietas nos tecidos animais pode ser mensurada pela técnica dos isótopos estáveis, uma vez que o *turnover* destes elementos químicos nos tecidos vivos está associado ao crescimento dos animais (DUCATTI, 2007b).

Os isótopos estáveis mais utilizados em estudos biológicos são os de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$). Os resultados baseiam-se na determinação da proporção $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, respectivamente (MANETTA; BENEDITO-CECILIO, 2003). A razão isotópica é mensurada através de espectrômetro de massa, que mede a razão entre o isótopo pesado e o leve de uma amostra, em comparação a um padrão (DUCATTI, 2007b).

O uso dos isótopos estáveis como marcadores baseia-se nas observações de que o tecido animal reflete praticamente a composição isotópica da dieta, devido ao pequeno fracionamento associado aos processos de respiração e de incorporação destes elementos pelo animal (DENIRO; EPSTEIN, 1978), e o valor de fracionamento caracteriza a diferença entre o tecido animal e o sinal “puro” da dieta. Plantas do ciclo fotossintético C_4 são mais ricas em carbono-13 que plantas do ciclo fotossintético C_3 , com uma diferença média de 14%. Essa variação isotópica oferece a possibilidade de utilizar as plantas e seus subprodutos como marcadores naturais em animais, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados como os isótopos radioativos, que possuem controle de uso e restrição de segurança, além da possibilidade de danos à saúde (DUCATTI, 2007b). Embora as plantas não fracionem o nitrogênio nas vias biossintéticas, existe uma variação na composição da fonte de nitrogênio que induz as plantas a terem sinais isotópicos distintos (GANNES et al., 1998).

Isotopicamente, o *turnover* consiste na síntese do novo tecido corporal e na degradação do velho. A taxa de *turnover* está associada ao crescimento, refletindo a composição isotópica da dieta nos tecidos animais. Grande parte dos estudos envolvendo *turnover* de compostos celulares concentra-se em

proteínas; e, em peixes, a taxa de *turnover* proteico tem sido avaliada em alguns estudos (LANGAR; GUILLAUME, 1994; DE LA HIGUERA et al., 1999; PERAGÓN et al., 2001; ZUANON et al., 2006; JOMORI et al., 2011 e ABIMORAD et al., 2014). O tecido muscular apresenta pronunciadas mudanças na taxa de síntese e degradação proteica em resposta à qualidade da proteína dietética (DE LA HIGUERA et al., 1999).

6. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi determinar a digestibilidade de aminoácidos dos principais alimentos utilizados na alimentação de juvenis de tambaqui, estimar a exigência em aminoácidos digestíveis para esta espécie e com estas informações avaliar o efeito da suplementação de lisina e/ou metionina em dietas práticas no *turnover* dos isótopos estáveis de carbono-13 e nitrogênio-15 em tecido muscular.

7. Referências

ABIMORAD, E. G. **Digestibilidade e exigência de aminoácidos para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus***. 2008. 82 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2008.

ABIMORAD, E. G.; DUCATTI, C.; CASTELLANI, D.; JOMORI, R. K.; PORTELLA, M. C.; CARNEIRO, D. J. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein turnover and amino acid utilization in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 433, p. 119-124, 2014.

ANDRIGUETO, J. M. **Nutrição animal**. São Paulo: Nobel, 1999. p. 395.

ANSELMO, A. A. S. **Resíduos de frutos amazônicos como ingredientes alternativos em rações extrusadas para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum***. 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. p. 175-193.

ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, M. **Os frutos do Tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Brasília, DF: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq/ Rainforest Alliance, 1998. 186 p.

AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of gastrointestinal tract. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 265-272, 1978.

BALLANTYNE, J. S. Amino acid metabolism. In: WRIGHT, P. A.; ANDERSON, P. M. (Ed). **Nitrogen excretion**. San Diego: Academic Press, 2001. v. 20, p. 77-107. (Fish Physiology Series).

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aqüicultura 2013**. [Brasília, DF, 2013]. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>>. Acesso em: 22 abr. 2014.

BREMER NETO, H.; GRANER, C.; PEZZATO, L.; PADOVANI, C. R.; CANTELMO, O. Diminuição do teor de óxido de cromo (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 2, p. 249-255, 2003.

BUZOLLO, H. **Exigência de proteína digestível em juvenis de tambaqui e a dinâmica do crescimento muscular por aspectos morfológicos e turnover isotópico do carbono-13 e do nitrogênio-15**. 2014. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

CHO, C. Y.; BUREAU, D. P. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 32, p. 349-360, 2001. Supplement 1.

CYRINO, J. E. P.; BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J. K. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, p. 68-87, 2010. Suplemento Especial.

DE LA HIGUERA, M.; AKHARBACH, H.; HIDALGO, M. C.; PERAGÓN, J.; LUPIÁÑEZ, J. A.; GARCÍA-GALLEG, M. Liver and white muscle protein turnover rates in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects of dietary protein quality. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1, p. 203-216, 1999.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Kidlington, v. 42, n. 5, p. 495-506, 1978.

DE SILVA, S. S.; GUNASEKARA, R. M.; GOOLEY, G. Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peellii* (Mitchell) and Australian shortfin eel *Anguilla australis* Richardson. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 31, n. 2, p. 195-205, 2000.

DUCATTI, C. Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 01-10, 2007a. Suplemento Especial.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu, 2007b. 204 p. [Apostila da disciplina “Aplicação de Isótopos Estáveis Ambientais” do Curso de Pós Graduação em Zootecnia da FMVZ/ UNESP.]

FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; NEVES, P. R.; SILVA, L. C. R.; HAYASHI, C. Exigência de lisina pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na terminação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1571-1577, 2004.

GANNES, L. Z.; MARTINEZ DEL RIO, C.; KOCH, P. Natural abundance variation in stable isotopes and their uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular Integrative Physiology**, Philadelphia, v. 119A, n. 3, p. 725–737, 1998.

GOFF, J. B.; GATLIN III, D. M. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 241, n. 1, p. 465-477, 2004.

GONÇALVES, E. G.; CARNEIRO, D. J. Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 4, p. 779 –786, 2003.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, Viçosa, MG, v. 1, n. 2, p. 107-133, 1982.

GUIMARÃES, I. G.; MIRANDA, E. C.; ARAÚJO, J. G. Coefficients of total tract apparent digestibility of some feedstuffs for Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 188, p. 150-155, 2014.

HALVER, J. E.; HARDY, R. W. Nutrient flow and retention. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.). **Fish nutrition**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2002. p. 755-770.

HOSSAIN, M. A.; JAUNCEY, K. Nutritional evaluation of some Bangladeshi oil seed meals as partial substitutes for fish meal in the diet of common carp, *Cyprinus carpio*L. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 20, n. 3, p. 255-268, 1989.

JOMORI, R. K.; DUCATTI, C.; ABIMORAD, E. D.; ASSANO, M. Relative contribution of formulated diet by carbon isotopic turnover in muscle of the fish juveniles. In. WORLD AQUACULTURE 2011, 2011, Natal. **Abstracts...** Baton Rouge, LA: World Aquaculture Society, 2011. p. 574.

KERR, B. J.; EASTER, R. A. Effect of feeding reduced protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 10, p. 3000–3008, 1995.

KÖPRÜCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 250, n. 1, p. 308-316, 2005.

LANGAR, H.; GUILLAUME, J. Effect of feeding pattern and dietary protein source on protein synthesis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v. 108A, n. 2, p. 461-466, 1994.

MANETTA, G. I.; BENEDITO-CECILIO, E. Aplicação da técnica de isótopos estáveis na estimativa da taxa de turnover em estudos ecológicos: uma síntese. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 121-129, 2003.

MASUMOTO, T.; RUCHIMAT, T.; ITO, Y.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 1, p. 109-119, 1996.

MELO, L. A. S.; PEREIRA FILHO, M.; IZIEL, A. C. U.; STORTI FILHO, A. Avaliação econômica de um cultivo de tambaqui, *Colossoma macropomum*, na Amazônia ocidental. In: REUNIÃO DA SBZ, 15., 1998, Botucatu. **Anais...** Brasília, DF: SBZ, 1998, p. 38-41.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes**. Washington: National Academy, 2011. 102 p.

NUNES, A. J. P.; MARCELO, V. S.; CRAIG, L. B.; MERCEDES, V. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 431, p. 20–27, 2014.

NUNES, E. S.; CAVERO, B. A.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 4, n. 1, p. 139-143, 2006.

OISHI, C. A. **Resíduo de castanha da Amazônia (*Bertholletia excelsa*) como ingrediente em ração para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2007.

PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. The concept and usage of ideal proteins in the feeding of nonruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE

NÃO RUMINANTES, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: EDUEM, 1994. p. 119-128.

PERAGON, J.; BARROSO, J. B.; GARCIA-SALGUERO, L.; HIGUERA, M.; LUPIÁÑEZ, J.A. Growth, protein-turnover and nucleic-acid concentrations in the white muscle of rainbow trout during development. **The International of Biochemistry & Cell Biology**, Kidlington, v. 33, n. 12, p.1227-1238, 2001.

RUCHIMAT, T.; MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 150, n. 1, p. 113-122, 1997.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Método dose-resposta para determinar exigências nutricionais. In:_____. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. p. 156-194.

SANTOS, L.; FILHO, M. P.; SOBREIRA, C.; ITUASSÚ, D.; FONSECA, F. D. Exigência Proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 40, n. 3, p. 597-604, 2010.

SILVA, J. A. M. D.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. D. Frutos e sementes consumidos pelo tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 1815-1824, 2003.

STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K. D.; BAEVERFJORD, G.; NIELSEN, B. G.; ÅSGÅRD, T.; SCOTT, T.; DE LAPORTE, A. Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 184, n. 1, p. 115-132, 2000.

VAL, A. L.; ROLIM, P. R.; RABELO, H. Situação atual da aquicultura na região norte. In: VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. (Ed.)

Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília, DF: CNPq/MCT, 2000. 399 p.

VAN DER MEER, M. B.; VERDEGEM, M. C. J. Comparasion of amino acid profiles of feeds and fish as a quick method for selection of feed ingredients: a case study for *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Chichester, v. 27, n. 7, p. 487-495, 1996.

WALTON, M. J.; COWEY, C. B.; ADRON, J. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 52, n. 1, p. 115-122, 1984.

WILSON, R. P. Amino acid requirements of finfish. In: D'MELLO, J. P. F. **Amino acids in farm animal nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994. Cap. 16, p. 377-399.

WILSON, R. P.; ROBINSON, E. H.; POE, W. E. Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredientes for channel catfish. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 111, n. 5, p. 923-929, 1981.

ZUANON, J. A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. Muscle d13C change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects of growth and carbon turnover. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry & Molecular Biology**, Philadelphia, v. 145, p. 101-107, 2006.

CAPÍTULO 2 – Coeficientes de digestibilidade aparente de aminoácidos de alimentos para o tambaqui *Colossoma macropomum*

RESUMO – Neste estudo foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos (AA), de trezes alimentos utilizados em dietas para tambaquís. Foram utilizados 390 juvenis de tambaqui ($70 \pm 8,58\text{g}$). As determinações dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos foram realizadas pelo método de coleta parcial de excretas. O marcador inerte utilizado foi o óxido de cromo-III (Cr_2O_3), com inclusão de 0,5% na dieta. Para os alimentos energéticos, altos valores médios de digestibilidade para aminoácidos essenciais foram observados para o milho (94,60%) e farelo de trigo (91,93%) e menores para a quirera de arroz (75,66%) e sorgo (72,84%). Para os alimentos proteicos, em geral, os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de aminoácidos essenciais (AAE) e aminoácidos não essenciais (AANE) foram elevados (de 79,47 a 98,46%), com exceção da levedura de álcool (68,44 e 76,68% para AAE e AANE, respectivamente). O triptofano foi o aminoácido mais limitante para maioria dos alimentos estudados, com os menores escores químicos (de 6,21 a 51,25), exceto para o farelo de trigo, glúten de milho e farelo de soja em que a lisina foi o primeiro limitante. O maior índice de aminoácidos essenciais digestíveis (IAAE) foi apresentado pelo farelo de soja (102,38%), que foi o alimento mais completo em relação ao perfil de aminoácidos, ao contrário do glúten de trigo, que apresentou o menor IAAE (48,03%). Em geral, pode-se observar que a espécie aproveita de forma bastante eficiente a fração proteica dos alimentos proteicos e energéticos.

Palavras-chave: Aminoácidos digestíveis, escore químico, ingredientes, nutrição, peixes, qualidade da proteína.

1. Introdução

O tambaqui é uma das espécies mais importantes cultivadas atualmente no Brasil, e entre as de clima tropical, é a mais produzida, representando 20,4% de todo o pescado proveniente da piscicultura continental. Entre os anos de 2003 e 2011, a sua produção cresceu em torno de 533%, aumentando de 20.833 t para 111.084 t (BRASIL, 2013). Este incremento na produção só foi possível pelas características favoráveis para cultivo que esta espécie apresenta, como a fácil adaptação ao cativeiro e à alimentação artificial, o rápido crescimento e grande apreciação devido ao seu sabor e aparência.

Para se obter sucesso na produção sustentável de peixes, a utilização de dietas balanceadas e de alta digestibilidade são requisitos essenciais. A determinação da digestibilidade quantifica a fração do nutriente não excretada nas fezes: quanto maior o coeficiente de digestibilidade do alimento, maior será o seu aproveitamento pelos animais, com reflexos positivos nos índices produtivos, e diminuição da excreção de nutrientes no ambiente de cultivo (OLIVEIRA FILHO; FRACALOSSO, 2006).

Poucos são os trabalhos encontrados na literatura sobre a digestibilidade dos aminoácidos presentes nos alimentos utilizados em dietas comerciais para peixes. Para o tambaqui, ainda não existem estudos com estas informações e conseqüentemente, as indústrias têm dificuldade para formular dietas balanceadas específicas para utilização na sua produção. Isto pode ser um entrave para o aumento na sua produtividade, onerando os custos de produção e elevando os níveis de nitrogênio, fósforo e matéria orgânica liberados nos efluentes das pisciculturas. Assim, o conhecimento da eficiência de utilização dos nutrientes dos principais alimentos torna-se primordial para formulação de melhores dietas para diversas espécies de peixes de elevado potencial produtivo, como é o tambaqui.

Diante disto, o objetivo deste estudo foi determinar os coeficientes de digestibilidade aparente dos aminoácidos de 13 alimentos utilizados em dietas para tambaqui, que foram divididos em dois grupos: **a) energéticos:** milho, sorgo, quirera de arroz e farelo de trigo; **b) proteicos:** farelo de soja, glúten de milho, glúten de trigo, levedura de álcool, farelo de algodão, farinha de salmão, farinha de resíduos de filetagem da tilápia, farinha de vísceras de aves e farinha de penas. Outro objetivo foi estimar os aminoácidos digestíveis limitantes em

cada ingrediente, por meio da avaliação do seu escore químico, relação entre os valores de aminoácidos destes alimentos e do músculo branco do tambaqui.

2. Material e métodos

O ensaio experimental foi realizado na Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) e conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotado pelo colégio brasileiro de experimentação (COBEA) e aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA), protocolo n° 016114/11.

2.1. Material biológico e instalações

Foram utilizados 390 juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, procedentes da piscicultura Agroindustrial Tambaqui Ltda., localizada em Manaus-AM, com peso médio inicial de $70 \pm 8,58$ g. Os animais foram distribuídos em 26 tanques experimentais de 430 litros, com aeração e abastecimento contínuo por água proveniente de poço artesiano, com taxa de renovação de aproximadamente 10 vezes ao dia. Durante o ensaio, foram monitoradas as seguintes variáveis físico-químicas da água: pH (PHTEK – pH100), temperatura, oxigênio dissolvido (YSI- *Yellow Springs Instruments* 550A), condutividade elétrica (PHTEK – CD203), alcalinidade, amônia, nitrato, nitrito e fósforo total (KOROLEFF, 1976; GOLTERMAN et al., 1978; MACKERETH et al., 1978). Os valores apresentados na Tabela 1 foram considerados dentro do recomendado para a aquicultura (SIPAÚBA-TAVARES, 2013).

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o período experimental

PARÂMETROS	MÉDIA
Temperatura (°C)	29,72 ± 0,34
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	5,71 ± 0,34
pH	7,85 ± 0,17
Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	150,75 ± 17,62
Alcalinidade (µg L ⁻¹)	88,67 ± 0,82
Amônia (µg L ⁻¹)	189,17 ± 59,29
Nitrato (µg L ⁻¹)	419,96 ± 100,28
Nitrito (µg L ⁻¹)	28,68 ± 39,09
Fósforo Total (µg L ⁻¹)	200,89 ± 61,00

Um protocolo de limpeza, que consistia na sifonagem dos resíduos no fundo dos tanques e na lavagem das pedras porosas, foi realizado a cada dois dias, evitando-se piora na qualidade da água.

2.2. Dietas experimentais

Para determinação da digestibilidade de cada alimento, uma dieta de referência foi elaborada para conter 23,7% de proteína bruta e 3898 kcal/kg de energia bruta (Tabela 2). Avaliaram-se 13 ingredientes, divididos em dois grupos: **a) energéticos**: milho, farelo de trigo, quirera de arroz e sorgo; **b) protéicos**: glúten de milho, farelo de soja, farinha de vísceras de aves, farinha de salmão, farinha de resíduos de filetagem da tilápia, glúten de trigo, farinha de penas, farelo de algodão e levedura de álcool. Com estes alimentos (Tabela 3), foram formuladas 13 dietas-teste constituídas por 69,5% da dieta de referência, acrescidas de 30% do alimento testado, com exceção do glúten de trigo que foi incluído a dieta de referência em 10%, devido a suas propriedades de coesão e visco-elasticidade, que podem fazer com que o pelete fique muito duro e com textura de borracha (DAY et al., 2006). O marcador inerte utilizado foi o óxido de cromo-III (Cr_2O_3), com inclusão de 0,5%. Para confecção das dietas, os ingredientes foram moídos, misturados manualmente, umedecidos e processados em extrusora *Extec*, modelo *Ex Micro*. Os peletes foram desidratados em estufa de ventilação forçada à 55°C, por 24 horas.

2.3. Coleta de fezes

As determinações dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos foram realizadas pelo método de coleta parcial de excretas. Para as coletas de fezes, utilizaram-se 13 coletores de fibra de vidro com aproximadamente 100 litros de capacidade, construídos de acordo com o Sistema de Ghelph modificado (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004), e equipados com um sistema de circulação contínua de água.

Após o período de aclimação de 15 dias, durante o qual os peixes receberam somente a dieta de referência, foi realizada uma coleta inicial de fezes, para determinação da digestibilidade da dieta de referência; em seguida, iniciou-se o arraçoamento com as dietas-teste, que foram fornecidas durante sete dias, até a saciedade aparente, duas vezes ao dia. No oitavo dia, os peixes

foram alimentados três vezes (8h00min, 14h00min e às 18h00min) e, logo após a última alimentação, foram transferidos imediatamente para os coletores. As fezes foram coletadas com intervalos de três horas até a manhã do dia seguinte (este horário de coletas foi o mais indicado, facilitando o manejo e diminuindo o estresse dos animais, de acordo com projeto piloto realizado previamente).

Tabela 2. Formulação e composição da dieta de referência (valores com base na matéria natural)

Ingredientes	%
Farinha de tilápia (Resíduos de filetagem)	20,20
Farelo de soja	8,89
Milho	33,51
Farelo de trigo	22,00
Quirera de arroz	14,00
Fosfato bicálcico	0,80
Calcário calcítico	0,10
Suplemento vitamínico e mineral ¹	0,50
<i>Composição analisada</i>	
Matéria seca (%)	88,54
Proteína bruta (%)	23,70
Proteína digestível (%) ²	21,22
Lipídios (%)	6,01
Lipídios digestíveis (%) ²	5,11
Energia bruta (kcal/kg)	3898,50
Energia digestível (kcal/kg) ²	3286,05
Fibra bruta (%)	7,46
Matéria mineral (%)	8,14
Extrato não nitrogenado (%) ³	43,23
Calcio (%) ⁴	1,49
Fósforo (%) ⁴	0,75
Arginina (%)	1,57
Fenilalanina (%)	0,89
Histidina (%)	0,43
Isoleucina (%)	0,75
Leucina (%)	1,43
Lisina (%)	1,11
Metionina (%)	0,62
Treonina (%)	0,69
Triptofano (%)	0,13
Valina (%)	0,94
Ac. aspártico (%)	1,49
Ac. glutâmico (%)	3,34
Alanina (%)	1,58
Cistina ½ (%)	0,58
Glicina (%)	1,90
Serina (%)	0,92
Prolina (%)	1,51
Tirosina (%)	0,59

¹ Suplemento vitamínico e mineral: ácido fólico (1.250 mg); pantotenato de cálcio (1.200 mg); cobre (2.500 mg); ferro (15 g); iodo(375mg); manganês (12,5g); selênio (87,5 mg); zinco (12,5 mg); cobalto (125 mg); Vit A (2.500 UI); Vit B12 (4.000 mg); Tiamina B1 (4.000 mg); Riboflavina B2 (4.000 mg); Piridoxina B6 (4.000mg); Vit C(50.000 mg); Vit D3 (6000.000 UI); Vit E (37.500 UI); Vit K3 (3.750 mg); Niacina (122.500mg); Biotina (15 mg)

²Valores calculados com base nos coeficientes de digestibilidade determinados por Buzollo (2014)

³ENN=MS – (PB+EE+MM+FB)

⁴Valores Calculados Segundo Rostagno et al. (2005).

Tabela 3. Composição dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais para juvenis de tambaqui (valores com base na matéria natural)

	Ingredientes												
	ML	FT	QAR	SO	GM	FS	FV	FPS	FPT	GT	FP	FA	LV
Matéria Seca (%)	88,16	90,07	88,72	89,14	91,91	89,62	96,87	91,91	98,03	94,46	94,92	91,37	95,23
Proteína Bruta (%)	8,16	16,59	8,19	9,24	63,20	47,44	65,82	66,35	60,23	80,55	76,24	44,60	36,27
Lípidios (%)	3,61	3,96	1,53	3,96	4,05	2,88	14,21	8,34	10,48	4,22	12,82	1,31	2,21
Matéria mineral (%)	1,24	5,08	0,80	1,29	2,10	6,56	16,39	15,00	25,20	0,57	3,30	5,71	7,27
Energia Bruta (cal/g)	3869	3889	3754	3934	3652	4174	5001	4391	4269	5112	5647	4048	4317
Arginina (%)	0,43	1,07	0,72	0,40	2,31	3,75	5,34	6,00	5,24	2,76	6,00	4,69	1,95
Fenilalanina (%)	0,37	0,63	0,41	0,38	3,69	2,30	2,10	2,07	1,65	3,75	3,56	1,75	1,58
Histidina (%)	0,20	0,35	0,17	0,17	1,20	1,13	2,10	2,08	1,01	1,42	0,62	0,88	0,72
Isoleucina (%)	0,26	0,49	0,32	0,35	2,81	2,23	2,71	2,34	2,00	2,90	3,64	1,23	1,95
Leucina (%)	0,97	1,01	0,65	1,21	10,63	3,56	4,54	4,25	3,61	5,55	5,69	2,31	2,39
Lisina (%)	0,24	0,73	0,33	0,28	1,34	3,14	5,32	4,61	4,52	1,04	3,52	1,26	4,18
Metionina (%)	0,22	0,23	0,25	0,19	1,42	0,62	2,05	2,67	1,83	1,27	0,86	0,60	0,75
Treonina (%)	0,30	0,50	0,34	0,36	2,19	1,83	2,78	2,90	2,48	1,86	3,66	1,32	2,02
Triptofano (%)	0,02	0,19	0,01	0,05	0,14	0,43	0,26	0,40	0,33	0,079	0,06	0,173	0,14
Valina (%)	0,34	0,68	0,44	0,42	2,74	2,04	2,71	2,76	2,36	2,76	4,63	1,69	1,98
Ac. Aspártico (%)	0,59	1,15	0,81	0,71	4,59	5,62	4,49	5,43	3,10	2,73	5,63	3,40	3,99
Ac. Glutâmico (%)	1,61	3,62	1,54	2,07	15,20	9,19	9,40	8,07	7,07	30,27	9,41	7,44	4,60
Alanina (%)	0,61	0,73	0,45	0,84	5,78	2,06	4,50	4,77	4,79	1,97	3,58	1,65	2,32
Cistina ½ (%)	0,28	0,37	0,27	0,25	1,28	0,69	1,13	1,43	0,69	2,19	4,52	0,86	0,72
Glicina (%)	0,29	0,75	0,34	0,29	1,66	1,96	5,25	6,35	7,25	2,45	5,66	1,34	1,57
Serina (%)	0,36	0,66	0,37	0,39	3,26	2,41	2,47	2,91	2,23	3,55	7,83	1,42	1,94
Prolina (%)	0,69	1,08	0,35	0,70	5,87	2,27	3,56	3,76	4,37	9,30	8,07	1,48	1,23
Tirosina (%)	0,27	0,42	0,34	0,35	3,34	1,66	1,80	1,87	1,55	2,52	2,63	1,17	1,26

ML – Milho; FT – Farelo de trigo; QAR – Quireira de arroz; SO – Sorgo; GM – Glúten de milho; FS – Farelo de soja; FV – Farinha de vísceras; FPS – Farinha de salmão; FPT – Farinha de tilápia (resíduos de filetagem); GT – Glúten de trigo; FP – Farinha de penas; FA – Farelo de algodão; LV – Levedura de álcool.

Para evitar a degradação das fezes durante o intervalo entre as coletas, os tubos utilizados na extremidade inferior (modelo Falcon) foram protegidos por pequenas caixas térmicas contendo gelo (Figura 1). Após coletadas, as fezes foram armazenadas em freezer (-18°C), até que fosse atingida a quantidade suficiente para determinação das análises laboratoriais. Terminada a fase de coleta, as amostras de fezes foram liofilizadas e após, foram retiradas eventuais escamas para não adulterar as amostras, que em seguida foram moídas em micro moinho e posteriormente analisadas.



Figura 1. Coletores de fezes adaptados com isopores e gelo.

2.4. Análises laboratoriais

As concentrações de óxido de cromo-III das fezes e das dietas foram determinadas por digestão nitro-perclórica, de acordo com a metodologia descrita por Furukawa e Tsukahara (1966). As análises de aminoácidos totais foram realizadas por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC), no Laboratório de Fontes Proteicas da Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP.

A partir da análise quantitativa do marcador, e de posse dos valores dos aminoácidos presentes nas dietas teste e de referência, e também nas fezes, os coeficientes de digestibilidade aparente das dietas (CDA) foram estimados conforme Nose (1966):

$$CDA = 100 - \left[100 \times \left(\frac{\% \text{ marcador na dieta}}{\% \text{ marcador nas fezes}} \times \frac{\% \text{ aa nas fezes}}{\% \text{ aa na dieta}} \right) \right]$$

Os valores de CDA dos aminoácidos dos ingredientes foram calculados de acordo com a fórmula descrita por Forster (1999):

$$CDA_{\text{ingrediente}} = \frac{[(a + b) \times CDA_{\text{dieta teste}} - (a) \times CDA_{\text{dieta de referência}}]}{b}$$

Onde: a = contribuição do aminoácido da dieta de referência ao conteúdo de aminoácido da dieta-teste (% do aminoácido na dieta de referência X 0,65); b = contribuição do aminoácido do ingrediente-teste ao conteúdo de aminoácido da dieta-teste (% do aminoácido no ingrediente teste).

As limitações de cada aminoácido nos alimentos estudados foram avaliadas pelo método do escore químico (EQ) e por meio do índice de aminoácidos essenciais (IAAE), segundo a equação:

$$EQ = \frac{\% \text{ AAE digestível na proteína do ingrediente avaliado}}{\% \text{ do correspondente AAE na proteína do músculo}} \times 100$$

Ambos os métodos comparam os valores dos aminoácidos digestíveis dos alimentos em relação ao perfil de aminoácidos do tecido muscular de juvenis de tambaqui (HEPHER, 1988). Para isso, nove peixes ($42 \pm 5,76$ g) da mesma população dos utilizados no experimento foram sacrificados por imersão em gelo e amostras do músculo branco foram retiradas para as análises de aminoácidos.

O aminoácido essencial que apresentou o menor valor do EQ foi considerado como o primeiro limitante de cada ingrediente. O índice de aminoácidos essenciais (IAAE) é um cálculo mais apurado, dado pela média

geométrica da taxa de todos os aminoácidos essenciais obtidos pelo escore químico, considerando que a proteína de melhor qualidade é a que apresenta o maior valor do IAAE.

$$IAAE = \sqrt[n]{\frac{100a}{a_p} \times \frac{100b}{b_p} \times \frac{100c}{c_p} \times \dots \times \frac{100j}{j_p}}$$

Onde: a, b, c... j são as porcentagens de AAE digestível na proteína do ingrediente avaliado; a_p , b_p , c_p ... j_p são as porcentagens de AAE na proteína do músculo do tambaqui; n = número de aminoácidos considerados.

2.5. Delineamento experimental e análises estatísticas

Os alimentos foram analisados separadamente, sendo os alimentos energéticos em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (alimentos testados) e quatro repetições, e os alimentos proteicos também em delineamento inteiramente casualizado, porém com nove tratamentos (alimentos testados) e quatro repetições. A normalidade dos dados e a homogeneidade da variância foram testadas antes da aplicação da análise de variância (ANOVA). Quando encontradas diferenças estatísticas entre as variáveis analisadas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas através do software R versão, 3.0.0.

3. Resultados

Durante o período experimental, não foram observados sinais clínicos de enfermidades e nem mortalidade. Os juvenis permaneceram bem adaptados às condições ambientais e às dietas oferecidas.

Em geral, todos os ingredientes avaliados apresentaram altos valores de digestibilidade para a maioria dos aminoácidos, e diferenças foram observadas entre os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos dos ingredientes ($P < 0,05$). Os valores médios de CDA para AAE e AANE dos alimentos energéticos estão apresentados na Tabela 4. Altos valores médios de digestibilidade para maioria dos aminoácidos (em geral superiores a 75%) foram

observados, sendo os maiores para o milho (94,98%) e o farelo de trigo (91,97%) e menores para a quirera de arroz (78,70%) e o sorgo (74,63%).

Os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos dos ingredientes proteicos estão apresentados na Tabela 5. Os valores dos CDA de AAE e AANE para maioria dos alimentos proteicos apresentados são elevados, com exceção da levedura de álcool, que para alguns aminoácidos, apresentou valores menores que 70% de digestibilidade. Nota-se ainda que as melhores médias de CDA dos AAE foram apresentados pelo glúten de milho (96,89%) e farelo de soja (96,65%), da mesma forma que para as médias dos AA totais (97,58 e 96,62%, respectivamente).

Na Tabela 6 é possível observar os valores de aminoácidos brutos e digestíveis dos alimentos proteicos e energéticos estudados. Estes dados foram utilizados para o cálculo do escore químico e dos índices dos aminoácidos essenciais digestíveis dos alimentos em relação à proteína do músculo branco do tambaqui (Tabela 7).

O triptofano foi o aminoácido mais limitante para a maioria dos alimentos estudados, com exceção do farelo de trigo, glúten de milho e farelo de soja em que a lisina foi o primeiro limitante. Desta forma, utilizando diferentes alimentos, com aminoácidos limitantes diferentes é possível formular dietas completas para a espécie estudada, minimizando os custos com suplementação de aminoácidos cristalinos.

O maior índice de aminoácidos essenciais digestíveis foi apresentado pelo farelo de soja (102,38%), sendo este o alimento mais completo em relação ao perfil de aminoácidos do músculo branco de juvenis de tambaqui, ao contrário do glúten de trigo, que apresentou o menor índice de aminoácidos essenciais digestíveis (48,03%).

Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) dos ingredientes energéticos avaliados para o tambaqui

Aminoácidos	Coeficiente de digestibilidade aparente (%)				ANOVA Valores de P	Valores de F	CV (%)
	Milho	Farelo de Trigo	Quirera de Arroz	Sorgo			
A AE							
Arginina	97,08±0,36 ^a	94,94±0,38 ^a	71,36±0,41 ^b	61,22±0,33 ^c	5.55e-09	178,6	19,63
Fenilalanina	98,83±0,49 ^a	91,39±0,52 ^a	78,18±0,57 ^b	63,90±0,66 ^c	3.28e-06	34,96	17,47
Histidina	94,14±0,49 ^a	89,24±0,36 ^a	71,86±0,61 ^b	73,26±0,57 ^b	1.86e-05	25,09	13,18
Isoleucina	96,82±0,58 ^a	91,77±0,49 ^a	81,18±0,61 ^b	71,71±0,43 ^b	2.91e-05	22,99	12,71
Leucina	98,53±0,39 ^a	93,25±0,47 ^a	81,23±0,42 ^b	78,64±0,43 ^b	1.3e-06	41,51	10,14
Lisina	91,44±0,40 ^a	89,37±0,51 ^a	84,11±0,39 ^a	74,91±0,39 ^b	0.000217	18,35	8,37
Metionina	96,94±0,23 ^a	90,24±0,69 ^{ab}	80,13±0,67 ^b	98,75±0,51 ^a	0.0132	5,993	9,92
Triptofano	75,27±0,22 ^c	99,74±0,27 ^a	90,95±0,14 ^b	77,56±0,16 ^c	7.37e-11	658,2	12,05
Treonina	99,60±0,59 ^a	88,13±0,66 ^a	58,24±0,63 ^b	40,98±0,70 ^c	7.87e-07	53,06	34,57
Valina	97,32±0,60 ^a	91,22±0,51 ^a	76,61±0,45 ^b	70,24±0,41 ^b	2.28e-06	37,42	14,09
Média AAE	94,60±0,43 ^a	91,93±0,49 ^a	75,66±0,40 ^b	72,84±0,43 ^b	4.05e-07	51,34	12,30
A ANE							
Ac_Aspártico	97,54±0,24 ^a	95,96±0,58 ^a	93,19±0,74 ^a	79,06±0,50 ^b	0.00185	9,328	9,88
Ac_Glutâmico	98,30±0,29 ^a	98,22±0,21 ^a	91,07±0,38 ^b	78,56±0,36 ^c	4.05e-09	115,6	9,24
Alanina	97,01±0,41 ^{ab}	90,97±0,49 ^{bc}	87,40±0,48 ^c	98,86±0,25 ^a	0.00616	7,599	5,85
Cistina	84,30±0,38 ^{ab}	87,18±0,30 ^a	82,75±0,28 ^{ab}	80,58±0,37 ^b	0.0179	5,735	3,57
Glicina	94,33±0,38 ^a	89,89±0,40 ^{ab}	90,13±0,35 ^{ab}	87,17±0,31 ^b	0.0039	7,716	3,60
Serina	96,14±0,55 ^a	90,63±0,57 ^a	66,12±0,52 ^b	60,74±0,28 ^b	7.83e-08	68,87	20,63
Prolina	97,44±0,36 ^a	94,76±0,39 ^a	85,57±0,44 ^b	73,47±0,29 ^c	1.81e-08	89,14	11,27
Tirosina	98,59±0,48 ^a	88,54±0,57 ^a	63,82±0,79 ^b	56,47±0,84 ^b	2.28e-05	24,12	25,07
Média AANE	95,46±0,39 ^a	92,02±0,37 ^a	82,50±0,32 ^b	76,86±0,32 ^c	5.03e-08	74,46	9,05
Média geral dos AA	94,98±0,41 ^a	91,97±0,43 ^a	78,70±0,32 ^b	74,63±0,34 ^b	6.98e-08	70,30	10,72

Médias (n=4) ± erro padrão da média; CV=coeficiente de variação; Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem estatisticamente (Tukey P > 0,05).

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) dos aminoácidos dos ingredientes proteicos avaliados para o tambaqui

Aminoácidos	Coeficiente de digestibilidade aparente (%)										ANOVA Valores de P	Valores de F	CV (%)	
	Glúten de milho	Farelo de soja	Farinha de visceras	Farinha de salmão	Farinha de tilápia	Glúten de trigo	Farinha de penas	Farelo de algodão	Levedura de álcool	ANOVA Valores de P				
AANE														
Arginina	99,11±0,22 ^a	99,21±0,20 ^a	80,24±0,31 ^b	81,56±0,50 ^b	92,22±0,26 ^a	51,28±0,50 ^d	69,10±0,41 ^c	81,31±0,48 ^b	53,84±0,55 ^d	<2e-16	117,4	21,75		
Histidina	98,31±0,20 ^a	95,82±0,23 ^a	99,80±0,24 ^a	99,84±0,35 ^a	83,98±0,37 ^c	99,15±0,27 ^a	85,32±0,46 ^{bc}	85,26±0,25 ^{bc}	89,67±0,37 ^b	2,26e-11	40,18	7,27		
Isoleucina	98,78±0,19 ^a	97,09±0,22 ^{ab}	93,32±0,18 ^c	93,77±0,21 ^{bc}	84,74±0,35 ^e	95,36±0,20 ^{abc}	88,64±0,36 ^d	84,38±0,25 ^e	69,44±0,30 ^f	<2e-16	181,4	9,80		
Leucina	99,96±0,17 ^a	97,24±0,26 ^{ab}	93,60±0,23 ^{abc}	90,94±0,47 ^{abcd}	86,98±0,30 ^d	94,89±0,55 ^{ab}	87,17±0,25 ^{cd}	84,60±0,49 ^d	73,49±0,43 ^e	6,64e-12	34,31	8,87		
Lisina	93,50±0,35 ^a	94,52±0,35 ^a	91,36±0,24 ^a	92,86±0,21 ^a	85,90±0,35 ^{ab}	65,40±0,81 ^d	78,67±0,60 ^{bc}	67,18±0,68 ^{cd}	72,28±0,30 ^{cd}	3,27e-10	23,26	14,62		
Metionina	99,48±0,34 ^a	95,15±0,35 ^{abc}	97,58±0,27 ^{ab}	90,27±0,58 ^{bcd}	89,83±0,42 ^{cd}	99,62±0,24 ^a	83,42±0,52 ^d	91,89±0,34 ^{abcd}	86,17±0,49 ^d	5,04e-07	12,49	6,62		
Fenilalanina	99,92±0,21 ^a	98,25±0,22 ^{ab}	91,47±0,23 ^{bcd}	90,33±0,48 ^{bcd}	85,46±0,36 ^d	93,88±0,61 ^{abc}	85,80±0,57 ^{cd}	87,00±0,53 ^{cd}	71,88±0,39 ^e	4,26e-10	22,73	9,56		
Triptofano	81,18±0,52 ^{ab}	94,16±0,15 ^a	92,84±0,65 ^a	84,79±0,20 ^{ab}	85,36±0,70 ^{ab}	92,06±0,59 ^a	72,18±0,80 ^b	90,81±0,67 ^a	72,49±0,50 ^b	4,2e-05	7,38	11,33		
Treonina	99,44±0,24 ^a	98,12±0,25 ^a	77,88±0,50 ^b	84,74±0,28 ^b	82,46±0,29 ^b	60,23±0,33 ^c	82,12±0,53 ^b	44,88±0,35 ^d	44,39±0,41 ^d	<2e-16	208	26,49		
Valina	99,26±0,21 ^a	96,98±0,28 ^{ab}	87,11±0,22 ^{cd}	87,52±0,28 ^{bcd}	84,54±0,36 ^{cd}	88,65±0,69 ^{bc}	88,67±0,58 ^{bc}	77,36±0,32 ^d	50,75±0,47 ^e	9,16e-14	57,26	16,48		
<i>Média AAE</i>	96,89±0,26 ^a	96,65±0,22 ^a	90,52±0,25 ^b	89,66±0,34 ^b	86,15±0,35 ^{bc}	84,05±0,49 ^{cd}	82,11±0,45 ^{cd}	79,47±0,40 ^d	68,44±0,34 ^e	2e-15	62,56	10,18		
AANE														
Ac. Aspártico	99,96±0,23 ^a	99,54±0,21 ^{ab}	96,88±0,28 ^{bc}	96,18±0,19 ^c	92,45±0,26 ^d	76,33±0,30 ^g	81,10±0,24 ^f	86,69±0,25 ^e	76,20±0,20 ^g	<2e-16	228,9	10,37		
Ac. Glutâmico	99,76±0,16 ^a	98,94±0,20 ^{ab}	95,21±0,27 ^c	96,14±0,29 ^{bc}	94,56±0,26 ^c	99,10±0,24 ^{ab}	86,88±0,09 ^e	91,39±0,36 ^d	74,44±0,35 ^f	<2e-16	149,0	8,38		
Alanina	99,98±0,21 ^a	97,00±0,27 ^{ab}	98,74±0,58 ^{ab}	99,33±0,61 ^{ab}	90,32±0,34 ^b	99,42±0,63 ^{ab}	99,95±0,30 ^a	99,56±0,39 ^a	99,80±0,50 ^a	0,0305	2,592	4,59		
Cistina	91,27±0,39 ^{abc}	90,95±0,30 ^{abc}	97,15±0,38 ^a	94,35±0,41 ^{ab}	83,95±0,41 ^d	87,94±0,65 ^{bcd}	81,32±0,40 ^d	72,14±0,49 ^e	85,06±0,09 ^{cd}	1,2e-08	21,18	8,88		
Glicina	90,32±0,33 ^a	93,88±0,33 ^{ab}	87,17±0,35 ^c	89,98±0,50 ^{bc}	86,48±0,34 ^c	55,31±0,41 ^e	85,61±0,39 ^c	83,57±0,39 ^c	71,29±0,45 ^d	1,34e-13	60,24	15,06		
Serina	99,50±0,18 ^a	96,25±0,25 ^a	99,87±0,35 ^a	99,40±0,35 ^a	85,06±0,27 ^b	97,31±0,58 ^a	85,50±0,58 ^b	75,89±0,47 ^c	63,29±0,36 ^d	1,06e-14	58,87	14,10		
Prolina	99,83±0,17 ^a	97,86±0,31 ^{ab}	89,40±0,30 ^{cd}	93,90±0,15 ^{bc}	86,78±0,35 ^d	95,10±0,49 ^{ab}	86,04±0,38 ^d	72,98±0,41 ^e	73,09±0,41 ^e	3,99e-15	69,13	10,88		
Tirosina	99,01±0,22 ^a	98,19±0,27 ^a	93,49±0,47 ^{ab}	93,51±0,25 ^{ab}	85,23±0,47 ^c	73,37±0,46 ^{de}	87,82±0,46 ^{bc}	81,40±0,36 ^{cd}	70,26±0,31 ^e	1,28e-11	42,52	11,66		
<i>Média AANE</i>	98,46±0,18 ^a	96,58±0,26 ^{ab}	94,74±0,30 ^b	95,35±0,25 ^{ab}	88,10±0,29 ^c	85,07±0,39 ^{cd}	86,94±0,34 ^c	82,95±0,26 ^d	76,68±0,31 ^e	<2e-16	101,80	7,94		
<i>Média geral dos AA</i>	97,58±0,23 ^a	96,62±0,24 ^{ab}	92,40±0,26 ^{bc}	92,19±0,30 ^c	87,02±0,31 ^d	84,51±0,45 ^{de}	84,26±0,40 ^{de}	81,02±0,30 ^e	72,10±0,31 ^f	<2e-16	83,49	9,07		

Médias (n=4) ± erro padrão da média; CV=coeficiente de variação; Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem estatisticamente (Tukey P > 0,05).

Tabela 6. Valores de aminoácidos brutos e digestíveis dos ingredientes para o tambaqui (valores com base na matéria natural).

	Ingredientes												
	Milho	Farelo de trigo	Quirera de arroz	Sorgo	Glúten de milho	Farelo de soja	Farinha de vísceras	Farinha de salmão	Farinha de titíapia	Glúten de trigo	Farinha de penas	Farelo de algodão	Levedura de álcool
AAE													
Arginina (%)	0,43 (0,42) ¹	1,07 (1,02)	0,72 (0,51)	0,40 (0,24)	2,31 (2,29)	3,75 (3,72)	5,34 (4,28)	6,00 (4,89)	5,24 (4,83)	2,76 (1,42)	6,00 (4,15)	4,69 (3,81)	1,95 (1,05)
Fenilalanina (%)	0,37 (0,35)	0,63 (0,56)	0,41 (0,29)	0,38 (0,28)	3,69 (3,63)	2,30 (2,20)	2,10 (2,10)	2,07 (2,07)	1,65 (1,39)	3,75 (3,72)	3,56 (3,04)	1,75 (1,49)	1,58 (1,42)
Histidina (%)	0,20 (0,19)	0,35 (0,32)	0,17 (0,14)	0,17 (0,12)	1,20 (1,19)	1,13 (1,10)	2,10 (1,96)	2,08 (1,95)	1,01 (0,86)	1,42 (1,35)	0,62 (0,55)	0,88 (0,74)	0,72 (0,50)
Isoleucina (%)	0,26 (0,26)	0,49 (0,46)	0,32 (0,26)	0,35 (0,28)	2,81 (2,81)	2,23 (2,17)	2,71 (2,54)	2,34 (2,13)	2,00 (1,74)	2,90 (2,75)	3,64 (3,17)	1,23 (1,04)	1,95 (1,43)
Leucina (%)	0,97 (0,89)	1,01 (0,90)	0,65 (0,55)	1,21 (0,91)	10,63 (9,94)	3,56 (3,36)	4,54 (4,15)	4,25 (3,95)	3,61 (3,10)	5,55 (3,63)	5,69 (4,48)	2,31 (1,55)	2,39 (1,73)
Lisina (%)	0,24 (0,23)	0,73 (0,66)	0,33 (0,26)	0,28 (0,28)	1,34 (1,33)	3,14 (2,99)	5,32 (5,19)	4,61 (4,16)	4,52 (4,06)	1,04 (1,04)	3,52 (2,94)	1,26 (1,16)	4,18 (3,60)
Metionina (%)	0,22 (0,22)	0,23 (0,21)	0,25 (0,20)	0,19 (0,12)	1,42 (1,42)	0,62 (0,61)	2,05 (1,88)	2,67 (2,41)	1,83 (1,56)	1,27 (1,19)	0,86 (0,74)	0,60 (0,52)	0,75 (0,54)
Treonina (%)	0,30 (0,23)	0,50 (0,50)	0,34 (0,31)	0,36 (0,28)	2,19 (1,78)	1,83 (1,72)	2,78 (2,58)	2,90 (2,46)	2,48 (2,12)	1,86 (1,71)	3,66 (2,61)	1,32 (1,20)	2,02 (1,46)
Triptofano (%)	0,02 (0,02)	0,19 (0,17)	0,01 (0,01)	0,05 (0,02)	0,14 (0,14)	0,43 (0,42)	0,26 (0,20)	0,40 (0,34)	0,33 (0,27)	0,08 (0,05)	0,06 (0,05)	0,17 (0,08)	0,14 (0,06)
Valina (%)	0,34 (0,33)	0,68 (0,62)	0,44 (0,34)	0,42 (0,30)	2,74 (2,72)	2,04 (1,98)	2,71 (2,36)	2,76 (2,42)	2,36 (2,00)	2,76 (2,45)	4,63 (3,20)	1,69 (1,31)	1,98 (1,00)
AAAE													
Ac. Aspártico (%)	0,59 (0,58)	1,15 (1,10)	0,81 (0,75)	0,71 (0,56)	4,59 (4,59)	5,62 (5,59)	4,49 (4,35)	5,43 (5,22)	3,10 (2,87)	2,73 (1,40)	5,63 (3,89)	3,40 (2,95)	3,99 (2,15)
Ac. Glutâmico (%)	1,61 (1,58)	3,62 (3,56)	1,54 (1,40)	2,07 (1,63)	15,20 (15,16)	9,19 (9,09)	9,40 (8,95)	8,07 (7,76)	7,07 (6,69)	30,27 (15,52)	9,41 (6,50)	7,44 (6,80)	4,60 (2,48)
Alanina (%)	0,61 (0,59)	0,73 (0,66)	0,45 (0,39)	0,84 (0,83)	5,78 (5,78)	2,06 (2,00)	4,50 (4,44)	4,77 (4,74)	4,79 (4,33)	1,97 (1,01)	3,58 (2,47)	1,65 (1,64)	2,32 (1,25)
Cistina ½ (%)	0,28 (0,24)	0,37 (0,32)	0,27 (0,22)	0,25 (0,20)	1,28 (1,17)	0,69 (0,63)	1,13 (1,10)	1,43 (1,35)	0,69 (0,58)	2,19 (1,12)	4,52 (3,12)	0,86 (0,62)	0,72 (0,39)
Glicina (%)	0,29 (0,27)	0,75 (0,67)	0,34 (0,31)	0,29 (0,25)	1,66 (1,50)	1,96 (1,84)	5,25 (4,58)	6,35 (5,71)	7,25 (6,27)	2,45 (1,26)	5,66 (3,91)	1,34 (1,21)	1,57 (0,85)
Serina (%)	0,36 (0,35)	0,66 (0,60)	0,37 (0,24)	0,39 (0,24)	3,26 (3,24)	2,41 (2,32)	2,47 (2,47)	2,91 (2,89)	2,23 (1,90)	3,55 (1,82)	7,83 (5,51)	1,42 (1,08)	1,94 (1,04)
Prolina (%)	0,69 (0,67)	1,08 (1,02)	0,35 (0,30)	0,70 (0,51)	5,87 (5,86)	2,27 (2,22)	3,56 (3,18)	3,76 (3,53)	4,37 (3,79)	5,87 (3,01)	8,07 (5,58)	1,48 (1,08)	1,23 (0,66)
Tirosina (%)	0,27 (0,27)	0,42 (0,37)	0,34 (0,22)	0,35 (0,20)	3,34 (3,31)	1,66 (1,63)	1,80 (1,68)	1,87 (1,75)	1,55 (1,32)	3,34 (1,71)	2,63 (1,82)	1,17 (0,98)	1,26 (0,68)

⁽¹⁾ – Aminoácidos digestíveis.

Tabela 7. Escore Químico e índice de aminoácidos essenciais digestíveis (IAAE) dos alimentos em relação a proteína do músculo branco de juvenis de tambaqui

AAE	Músculo branco de juvenis de tambaqui (g/100g de PB) ¹	Escore Químico (%)												
		Milho	Farelo de trigo	Quirera de arroz	Sorgo	Glúten de milho	Farelo de soja	Farina de vísceras	Farina de salmão	Farinha de tilápia	Glúten de trigo	Farinha de penas	Farelo de algodão	Levedura de álcool
Arginina	5,37	95,85	114,51	115,93	48,38	67,47	146,04	121,08	137,25	149,33	32,83	101,37	159,06	53,91**
Fenilalanina	3,52	121,85	95,91	100,57	86,11	163,17	131,76	90,63	88,64	65,56	131,20	113,28	94,90	111,22
Histidina	2,2	105,83	87,69	77,68	59,05	85,58	105,41	135,35	133,60	64,90	76,18	32,79**	75,41	62,66
Isoleucina	3,85	82,76	72,03**	82,44	78,73	115,48	118,82	100,23	83,39	75,03	88,68	108,00	60,56	102,40
Leucina	7,14	152,75	75,99	94,03	137,97	220,27	99,21	88,30	83,38	72,08	63,12	82,30	48,67	66,80
Lisina	10,55	26,72**	37,71*	30,08**	28,73**	19,95*	59,75*	74,74**	59,43**	63,89**	12,24**	36,55	24,65**	94,07
Metionina	2,87	196,41	111,33	178,64	120,70	142,79	91,08	157,74	197,47	123,79	99,92	176,41	89,05	89,34
Treonina	3,19	88,36	94,49	118,63	95,02	88,29	113,67	122,87	116,23	110,34	66,55	107,32	84,34	126,18
Triptofano	1,00	24,51*	102,48	12,21*	21,65*	22,15**	88,54**	30,38*	51,25*	44,83*	6,21*	6,56*	17,94*	16,54*
Valina	4,32	93,61	86,52	96,07	75,18	99,62	96,62	82,99	84,43	76,86	70,41	97,16	67,98	63,82
IAAE (%)		83,57	84,49	74,48	65,41	81,73	102,38	92,93	96,03	79,69	48,03	65,60	61,37	70,13

¹ Valores médios analisados (n=9)

* 1º Aminoácido limitante

**2º Aminoácido limitante

4. Discussão

4.1. Alimentos energéticos

O grão de milho e o farelo de trigo são ingredientes bastante utilizados na formulação de rações, sendo o milho um dos alimentos mais difundidos na aquicultura, e a base de muitas dietas para diversas espécies de peixes. Ambos apresentaram os mais elevados coeficientes de digestibilidade, tanto para os aminoácidos essenciais quanto para os não essenciais, além dos maiores índices de aminoácidos essenciais digestíveis.

A utilização deste grão não possui limitações de uso, salvo o custo comparativo com o dos outros alimentos de sua categoria e a presença de fungos, micotoxinas, sementes tóxicas e resíduos de pesticidas (SARTORI et al., 2002). Também é muito utilizado na formulação de rações para animais monogástricos onívoros (suínos e aves), por sua alta digestibilidade nestes animais (ROSTAGNO et al., 2005). Em peixes, entretanto, a digestibilidade do milho varia conforme a capacidade de digestão das diferentes espécies (HALVER; HARDY, 2002). Guimarães et al. (2014), ao testarem a digestibilidade da proteína bruta, gordura e matéria seca de alguns alimentos para tambaquis, encontraram um coeficiente de digestibilidade para proteína do milho de 87,5%, valor este superior aos demais alimentos estudados pelos autores. Abimorad e Carneiro (2004) e Fernandes et al. (2004) em estudo semelhante, com juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), também encontraram valores elevados de digestibilidade da proteína do milho.

No presente estudo, com exceção do CDA do triptofano, todos os aminoácidos essenciais presentes no milho tiveram uma digestibilidade superior a 90%. Abimorad (2008) encontrou valores inferiores para o pacu, variando entre 79,8 a 92,5% para AAE e 77,8 a 93,20% para AANE.

Diferentemente do presente trabalho, em que um elevado aproveitamento do farelo de trigo (semelhante ao milho) foi observado, os autores Furuya et al. (2001) em estudo com tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), Abimorad (2008), em estudo com pacu e Wilson et al. (1981) em estudo com o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), observaram menores valores médios de CDA da proteína e aminoácidos do farelo de trigo em relação ao milho. Para Furuya et al. (2001) este fato pode estar relacionado ao menor tempo de trânsito do farelo de trigo e aos elevados teores de fibra bruta e polissacarídeos não-amiláceos presentes.

Alguns destes podem atuar como redutores da digestibilidade, como por exemplo, as pentosanas e beta-glucanos presentes no triticales, que causam aumento da viscosidade intestinal, prejudicando a ação enzimática (FURLAN et al., 1997).

A quirera de arroz é composta pelos grãos defeituosos e quebrados resultantes do polimento do grão e pode ser empregada na alimentação animal (TEIXEIRA, 1997). De acordo com Rostagno et al. (2005), a quirera de arroz é um produto de alta qualidade, possui níveis de PB semelhantes ao do milho, e superiores em 15 e 20% para lisina e metionina, respectivamente. Butolo (2002) relatou que a quirera de arroz apresenta níveis elevados de inibidores da tripsina, tendo como vantagem a ausência ou o nível reduzido de micotoxinas na sua constituição.

No presente estudo, os CDA dos aminoácidos encontrados para quirera de arroz foram em média 16 e 13% menores quando comparados ao milho e farelo de trigo, respectivamente. Já, Oliveira Filho e Fracalossi (2006), estudando a digestibilidade da fração proteica, observaram que para a quirera de arroz, o jundiá (*Rhamdia quelen*) apresentou valores médios de digestibilidade superiores aos encontrados para o milho. Outros peixes apresentaram valores mais elevados de digestibilidade da fração proteica para quirera do arroz: a tilápia-do-nilo 94,9% (PEZZATO et al., 2002) e o pacu, 80,8% (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004). Alguns peixes carnívoros, no entanto, apresentam valores ainda mais baixos de digestibilidade para quirera de arroz que os encontrados para o tambaqui. O pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), por exemplo, apresentou 43,2% de digestibilidade da proteína (GONÇALVES; CARNEIRO, 2003) e o striped bass híbrido, *Morone saxatilis* x *M. chrysops*, 71,4% (SULLIVAN; REIGH, 1995).

Nas indústrias, o sorgo tem sido utilizado como eventual substituto do milho. Segundo Butolo (2002), o sorgo, em relação ao milho, possui menor teor de óleo e menor quantidade de lisina e metionina, e quantidades semelhantes de triptofano. Porém, quantidades superiores de lipídios, lisina e triptofano foram encontradas no sorgo em relação ao milho, para os grãos utilizados. Para tilápia-do-nilo, o sorgo também apresentou coeficientes de digestibilidade da fração proteica inferiores ao milho (PEZZATO et al., 2002), o que pode estar relacionado a presença do tanino, que é um fator antinutricional, e também ao

diferente balanceamento de aminoácidos, já que IAAE apresentado pelo sorgo também foi inferior ao milho.

Em geral, o tambaqui aproveitou de forma bastante eficiente a fração proteica dos alimentos energéticos, podendo todos os alimentos testados, serem utilizados de forma satisfatória na formulação de dietas para espécie. Esta elevada capacidade no aproveitamento dos alimentos testados pode ser explicado pela capacidade da espécie em digerir alimentos com elevados teores de fibra (SILVA et al., 1999, 2003).

4.2. Alimentos proteicos

O glúten de milho, um subproduto da fabricação do amido de milho, é um ingrediente de origem vegetal bastante estudado como alternativa de fonte protéica (TACON, 1987) e, entre os ingredientes testados, foi o que apresentou os melhores índices de digestibilidade para o tambaqui, juntamente ao farelo de soja. Em outros estudos testando a digestibilidade deste ingrediente em peixes onívoros e carnívoros, também foram observados resultados superiores de digestibilidade: 96,0% da PB, em tilápia-do-nilo (PEZZATO et al., 2002); 93,6% em black bass (PORTZ; CYRINO, 2004); 92,3% em haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (TIBBETTS et al., 2004); 94,4% em bijupirá, *Rachycentron canadum* (ZHOU et al., 2004); 95,0% em jundiá (OLIVEIRA FILHO; FRACALLOSSI, 2006) e 95,6% em pacu (ABIMORAD et al., 2008). Embora o glúten de milho tenha se comportado como uma fonte de proteína de elevada digestibilidade para diversas espécies, Kubitzka (1998) salientou que o desequilíbrio em aminoácidos essenciais e elevado teor de carotenoides desse alimento que podem alterar a cor dos filés, são as principais limitações para o seu uso.

Entre as fontes de origem vegetal, o farelo de soja destaca-se como fonte de proteína que apresenta o perfil de aminoácidos mais favorável e também mais palatável para a maioria dos peixes (COLDEBELLA; RADÜNZ NETO, 2002). Além disso, está disponível nos mercados mundiais a um custo relativamente baixo comparando-se à farinha de peixe. Neste estudo, o farelo de soja apresentou-se como a fonte de proteína de melhor qualidade pelo maior índice de aminoácidos digestíveis essenciais (102.38%). Isto também tem sido reportado para outras espécies como o bagre do canal (LIM et al. 1998), tilápia-do-nilo (FURUYA et al., 2001; KÖPRÜCÜ; ÖZDEMİR, 2005), truta arco-íris,

Oncorhynchus mykiss (CHENG et al., 2003), largemouth bass, *Micropterus salmoides* (PORTZ; CYRINO 2004), Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*, Australian shortfin eel, *Anguilla australis* (DE SILVA et al., 2000) e pacu (ABIMORAD, 2008). No entanto, outras pesquisas reportaram redução no crescimento de peixes, particularmente carnívoros, quando utilizaram o farelo de soja como principal fonte proteica nas dietas, principalmente devido à presença de fatores antinutricionais e deficiência de metionina (DEGANI, 1987; ANDERSON et al., 1992; BAEVERFJORD; KROGDAHL, 1996; GARCIA-GALLEGO et al., 1998). Mas, o farelo de soja para o tambaqui, por apresentar alto coeficiente de digestibilidade de aminoácidos, pode ser utilizado para substituir fontes proteicas como a farinha de peixe.

A utilização dos subprodutos do abate das aves, como a farinha de vísceras em rações é uma realidade (NASCIMENTO et al., 2002). A farinha de vísceras de aves, da mesma maneira que a farinha de peixe, é um alimento de composição bastante variável e com alta porcentagem de cinzas (HARDY, 1996), pois depende da proporção de penas e de outras partes, como pés, cabeças, carcaças e resíduos de produção (BOSCOLO et al., 2005). A proteína da farinha de vísceras é deficiente nos aminoácidos treonina, fenilalanina e lisina (KUBITZA, 1997).

Para a tilápia-do-nilo, a farinha de vísceras possui coeficiente de digestibilidade aparente de 82,03% para a proteína (MEURER et al., 2003). Ao contrário do observado no presente estudo, Abimorad e Carneiro (2004), em estudo com juvenis de pacu não encontraram para farinha de vísceras de aves, valores de CDA superior ao da farinha de peixe.

As farinhas de peixe são os principais ingredientes proteicos utilizados na fabricação de rações para peixes, haja vista sua ótima palatabilidade e o bom balanço de aminoácidos (TACON, 1987), embora sejam ingredientes caros com oferta sazonal (MACEDO-VIEGAS; SOUZA, 2004). No mercado existem diferentes tipos de farinha, sendo a principal diferença relacionada à qualidade da matéria prima.

Neste estudo, testou-se duas farinhas, uma brasileira produzida através dos resíduos oriundos do processo de filetagem da tilápia e outra importada do Chile, fabricada com resíduos dos processos de industrialização do salmão. Os menores CDA dessa farinhas em relação ao glúten de milho, farelo de soja e

farinha de vísceras, pode estar relacionado à qualidade da matéria-prima (conteúdo de ossos, cartilagens, vísceras, escamas, etc.), que eleva o conteúdo de matéria mineral (KÖPRÜCÜ; ÖZDEMİR, 2005) e aos processamentos empregados para sua obtenção (calor e solvente), que afetam a qualidade de sua proteína e, em particular, a disponibilidade de seus aminoácidos, além de redução do teor de gordura (CONTRERAS, 1999; ALLAN et al., 2000; FURUYA et al., 2001; PORTZ; CYRINO, 2004).

Nota-se uma superioridade de 5% da farinha de salmão na média dos CDA dos aminoácidos totais, ao comparar com a farinha de tilápia, resultado este que pode ser explicado por um melhor balanço de aminoácidos, uma vez que o IAAE apresentado pela farinha de salmão foi de 96,03% e da farinha de tilápia 79,69%. Os teores de proteína bruta e cinzas são outros parâmetros que mostram uma melhor qualidade da farinha de salmão, já que as porcentagens de proteína bruta encontradas foram de 66,35 e 60,23%, respectivamente, e de cinzas, 15,00 e 25,20%, respectivamente. Esses valores indicam possivelmente maior quantidade de ossos na farinha de tilápia, o que resulta em pior qualidade biológica desse ingrediente.

Com a redução dos estoques pesqueiros e considerando o alto preço, muitos estudos têm sido realizados na tentativa de substituir as farinhas de peixes por outros ingredientes proteicos, principalmente os de origem vegetal (GOMES et al., 1995; FABREGAT et al., 2011; BITTARELLO et al., 2013; PEREIRA JUNIOR et al., 2013).

O glúten de trigo é uma fonte proteica que contém de 70 à 80 % de proteína bruta, extraída do trigo (FILIPETTO, 2004). Storebakken et al. (2000) em estudo com salmão, *Salmo salar*, observaram que a utilização do glúten de trigo em até 35% da proteína bruta da dieta não reduz a digestibilidade da gordura e da energia, e proporciona um ótimo crescimento. Sua desvantagem é o elevado custo que limita seu uso e a deficiência em lisina. Os autores também indicam o ingrediente como um importante aglutinante no processamento de dietas para peixes.

O glúten de trigo é uma excelente fonte proteica, com alta digestibilidade e palatabilidade. Pode substituir acima de 40 % da farinha de peixe em rações para salmões e trutas (HARDY, 1996). Em estudos com a digestibilidade aparente de ingredientes alternativos em rações para perca prateada, *Bydianus*

bydianus, Allan et al. (2000) encontraram para o glúten de trigo, um teor de proteína bruta de 76,9 %, digestibilidade aparente de 90 % da matéria seca e o coeficiente de disponibilidade aparente para os aminoácidos de cerca de 100 %. Para o tabaqui, o CDA médio encontrado para aminoácidos totais foi de 84,51%; porém, o balanço de aminoácidos não foi satisfatório para espécie, já que o IAAE foi de apenas 48,03%, o menor dentre todos os alimentos testados.

Pezzato et al. (2002) compararam a digestibilidade da proteína entre os alimentos proteicos para tilápia-do-nilo, os autores também observaram que a farinha de penas apresenta menores CDA (29,12%) em comparação a farinha de vísceras de aves (87,24%) e farinha de peixes (78,55%). No entanto, pela sua disponibilidade e baixo custo, estudos sobre a potencialidade de utilização desses alimentos em rações devem ter continuidade, com avaliações de desempenho e custo de arraçamento, de forma a contribuir para a nutrição mais econômica de peixes (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004).

O farelo de algodão tem sido utilizado como fonte proteica alternativa a fim de obter dietas mais econômicas, em rações para peixes tropicais (SALARO et al., 1999). Entretanto, apresenta como fator antinutricional o gossipol, potente toxina que forma complexos estáveis com cátions, podendo produzir anemia (ABOU-DONIA et al., 1970), uma vez que interfere nos processos bioquímicos e inibe a atividade de várias enzimas (BEAUDOIN, 1985).

Robinson et al. (1984) observaram que níveis de gossipol acima de 0,2% na dieta de tilápias-do-nilo prejudicam a conversão alimentar. Para Kubitza (1997), níveis acima de 0,1% podem causar perda de apetite, redução no crescimento, aumento no depósito de lipídios no fígado e prejudicar o desempenho reprodutivo dos peixes.

A levedura de álcool produzida pela indústria sucroalcooleira é um alimento proteico composto por células de levedura (*Saccharomyces* sp) obtidas da fermentação anaeróbica do caldo de cana ou do melaço no processo de produção de álcool. Quando obtida diretamente da centrifugação do caldo de cana fermentada ou do vinho, é denominada de levedura de recuperação, e levedura de centrifugação da vinhaça quando obtida deste processo após a destilação do leite deslevedurado (SCAPINELLO et al., 1996).

A levedura de cana-de-açúcar é um ingrediente de média atrato-palatabilidade (PEREIRA-DA-SILVA; PEZZATO, 2000). Os baixos CDA

encontrados no presente estudo corroboram aos encontrados por Storebakken et al. (1998), quando substituíram parte da farinha de peixe pela levedura em dietas para salmão. Os autores atribuem este resultado à baixa digestibilidade de certos aminoácidos contidos na levedura. Para o tambaqui, aminoácidos essenciais como a arginina, treonina e valina foram aproveitados em menos de 54%. Porém, existem trabalhos que recomendam a inclusão de levedura em dietas para peixes. Para Meurer et al. (2000), 6,0% na ração de juvenis de tilápia-do-nilo revertidos sexualmente na fase inicial melhorou o desempenho e não afetou o consumo.

O elevado número de alimentos avaliados no presente trabalho de forma inédita, terão grande impacto na nutrição do tambaqui, uma vez que estas informações auxiliarão nutricionistas a formularem dietas mais específicas e eficientes para espécie, além de favorecerem futuros estudos de exigências nutricionais, principalmente em aminoácidos.

5. Conclusão

De maneira geral, juvenis de tambaqui, aproveitam de forma bastante eficiente os aminoácidos tanto de ingredientes de proteicos quanto energéticos.

O milho e o farelo de trigo apresentaram as maiores médias gerais dos CDA do AA dentre os alimentos energéticos avaliados (94,98 e 91,97%, respectivamente) e o glúten de milho e o farelo de soja, dentre os proteicos (97,58 e 96,62%, respectivamente).

Todos os alimentos avaliados podem ser utilizados em dietas práticas para esta espécie.

Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo 2012/09126-4) e bolsa (2011/12964-9) concedidos.

6. Referências

ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D. J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos

para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1101- 1109, 2004.

ABIMORAD, E. G. **Digestibilidade e exigência de aminoácidos para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus***. 2008. 82 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da UNESP – Campus de Jaboticabal. 2008.

ABOU-DONIA, M. B.; LYMAN, C. M.; DIECKERT, J. W. Metabolic fate of gossypol: the metabolism of ¹⁴C-gossypol in rats. **Lipids**, v. 5, n.11, p. 938-946, 1970.

ANDERSON, S. J.; LALL, S. P.; ANDERSON, D. M.; MCNIVEN, M. A. Quantitative dietary lysine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fingerlings. **Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences**, v. 50, p. 316–322, 1992.

BAEVERFJORD, G.; KROGDAHL, Å. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. **Journal of Fish Diseases**, v. 19, p. 375-387, 1996.

BEAUDOIN, A. R. The embriotoxicity of gossypol. **Teratology**. v. 32, n. 1, p. 251-257, 1985.

BITTARELLO, A. C.; FRIES, E. M.; FINKLER, J. K.; SIVIDANES, V. P.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A. Farinha de minhoca para alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Agrarian**, v. 6, n. 21, p. 326-332, 2013.

BOSCOLO, W. R.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; HAYASHI, C.; REIDEL, A.; GENTELINE, A. L. Farinha de vísceras de aves em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 373-377, 2005.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2013**. [Brasília, DF, 2013]. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>>. Acesso em: 22 abr. 2014.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. 1 ed. Botucatu/SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, 2002. 430p.

BUZOLLO, H. **Exigência de proteína digestível em juvenis de tambaqui e a dinâmica do crescimento muscular por aspectos morfológicos e turnover isotópico do carbono-13 e do nitrogênio-15**. 2014. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

CHENG, Z.J.; HARDY, R.W.; USRY, J. L. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. **Aquaculture**, v. 218, n.1, p. 553-565, 2003.

COLDEBELLA, I. J.; RADUNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v.32, n.3, p.499-503, 2002.

CONTRERAS, G. E. A new approach to the evaluation of fish meal quality by reaction with 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid. In: **Advances in Extrusion Technology** (ed. by Y.K.Chang & S.S.Wang), Technomic Public, 1999, p. 179–189.

DAY, L.; AUGUSTIN, M. A.; BATEY, I. L.; WRIGLEY, C. W. Wheat-gluten uses and industry needs. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, n.2, p. 82-90, 2006.

DE SILVA, S. S.; GUNASEKARA, R. M.; GOOLEY, G. Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient incorporated diets by Murray cod

Maccullochella peelii peelii (Mitchell) and Australian shortfin eel *Anguilla australis* Richardson. **Aquaculture Research**, v. 31, p. 195–205, 2000.

DEGANI, G. Effect of replacement of fish and chicken meal by soybean meal in a purified diet on growth and body composition of juvenile European eel *Anguilla anguilla*. **Indian Journal of Fisheries**, v. 34, p. 213–217, 1987.

FABREGAT, T. E. H. P.; PEREIRA, T. S.; BOSCOLO, C. N.; ALVARADO, J. D.; FERNANDES, J. B. K. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. **Boletim Instituto Pesca**, v. 37, p. 289-294, 2011.

FERNANDES, J. B. K.; LOCHMANN, R.; BOCANEGRA, F. A. Apparent digestible energy and nutrient digestibility coefficients of diet ingredients for Pacu (*Piaractus brachypomus*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 35, n. 2, p. 237-244, 2004.

FILIPETTO, J. E. S. **Substituição de fígado bovino por glúten de trigo, glúten de milho e farelo de soja em rações para pós-larvas de piava (*Leporinus obtusidens*)**. 2004. 52f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

FORSTER, I. A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. **Aquaculture Nutrition**, v. 5, p. 143-145, 1999.

FURLAN, A. C.; FRAIHA, M.; MURAKAMI, A. E. Utilização de Complexo Multienzimático em Dietas de Frangos de Corte Contendo Triticale. Ensaio de Digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.4, p.759-764, 1997.

FURUKAWA, A.; TSUKAHARA, H. On the acid digestion for the determination of chromic oxide as index substance in the study digestibility of fish feed. **Bulletin of the Japanese Society of Fisheries**, v. 32, n. 6, p. 502-506, 1966.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; MIRANDA, E. D. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1143-1149, 2001.

GARCIA-GALLEGO, M.; AKHARBACH, H.; DE LA HIGUERA, M. Use of protein sources alternatives to fish meal in diets with amino acids supplementation for the European eel (*Anguilla anguilla*). **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 285–292, 1998.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwater**. London: IBP, Blackwell Science Publishing, 1978, p.213.

GOMES, F. E.; REMA, P.; KAUSHIK, S. J. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. **Aquaculture**, v.130, n.1, p.177-186, 1995.

GONCALVES, E. G.; CARNEIRO, D. J. Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p. 779 - 786, 2003.

GUIMARAES, I. G.; MIRANDA, E. C.; ARAUJO, J. G. Coefficients of total tract apparent digestibility of some feedstuffs for Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Animal Feed Science and Technology**, v. 188, p.150-155, 2014.

HALVER, J. E.; HARDY, R. W. Nutrient Flow and Retention. In: Halver, J. E.; HARDY, R. W. (eds). **Fish Nutrition**, 3 ed, Academic Press, 2002. p. 755-770.

HARDY, R. W. Alternate protein sources for salmon and trout diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, p. 71-80, 1996.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. p. 404.

KÖPRÜCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.250, n.1, p.308-316, 2005.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: Granshoffk (ed.). **Methods of seawater analysis**. Verlag Chemie Weinheim, p. 117 – 187, 1976.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes**. Piracicaba: ISBN, 1997. 74p.

KUBITZA, F. **Nutrição e Alimentação de peixes cultivados**. Edição do autor. Campo Grande, MS. 1998. 108p.

LIM, C.; KLESIUS, P. H.; HIGGS, D. A. Substitution of canola meal for soybean meal in diets for channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Journal of World Aquaculture Society**, v.29, n. 2, p. 161-168, 1998.

MACEDO-VIEGAS, E. M.; CASTAGNOLLI, N.; CARNEIRO, D. J. Níveis de proteína bruta em dietas para o crescimento do tambaqui *Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818 (PISCES CHARACIDAE). **Acta Scientiarum**, v. 18, n. 2, p. 321-333, 1996.

MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. D. **Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Funep, 405-480. 2004.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water analysis: some revised methods for limnologists**. London: Freshwater Biological Association, 1978. p.120.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; BOSCOLO, W. R. Utilização de levedura spray dried na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Acta Scientiarum**, v.22, n.2, p.479-484, 2000.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, 2003.

NASCIMENTO, A. H.; GOMES, P. C.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; ROBLEDO, A. Composição química e valores de energia metabolizável das farinhas de penas e vísceras determinados por diferentes metodologias para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1409-1417, 2002.

NOSE, T. Recent advances in the study of fish digestion in Japan. In: SYMPOSIUM ON FEEDING TROUT AND SALMON CULTURE, 7., 1966. Belgrade. **Proceedings...** Belgrade: EIFAC, 1966. p.17.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C.; FRACALLOSSI, D. M. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, 2006.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; PEZZATO, L. E. Respostas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) à atratividade e palatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1273-1280, 2000.

PEREIRA JUNIOR, G. P.; PEREIRA, E. M. D. O.; PEREIRA FILHO, M.; BARBOSA, P. D. S.; SHIMODA, E.; BRANDÃO, L. V. Performance of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) fed diets containing crueira manioc flour (*Manihot esculenta*, Crantz) in replacement of corn (*Zea mays*). **Acta Amazonica**, v. 43, n.2, p. 217-226, 2013.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. D.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M.; PEZZATO, A. C. Digestibilidade aparente de ingredientes para a tilápia

do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

PORTZ, L.; CYRINO, J. E. Digestibility of nutrients and amino acids of different protein sources in practical diets by largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture Research**, v.35, n.4, p.312-320, 2004.

ROBINSON, E. H.; RAWLES, S. D.; OLDENBURG, P. W.; STICKNEY, R. R. Effects of feeding glandless or glanded cotton seed products and gossypol to *Tilapia aurea*. **Aquaculture**, v. 38, n.2, p. 145-154, 1984

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. A. T.; DONZELLE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 141p.

SALARO, A. L.; PEZZATO, L. E.; VICENTINI, C. A.; BARROS, M. M. Efeito da inclusão do farelo e da farinha de semente de algodão em rações para reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 6, n. 28, p. 1169-1176, 1999.

SARTORI, J. R.; COSTA, C.; PEZZATO, A. C.; MARTINS, C. L.; CARRIJO, A. S.; CRUZ, V. C. D.; PINHEIRO, D. F. Silagem de grãos úmidos de milho na alimentação de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 1009-1015, 2002.

SCAPINELLO, C; FURLAN, A. C.; MOREIRA, I; MURAKAMI, A. E.; OLIVEIRA, P. B. Utilização da levedura de recuperação (*Saccharomyces sp*), seca pelo método spray-dry para coelhos em crescimento. **Revista Unimar**, v.18, n. 3, p.587-598, 1996.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Digestibility of seeds consumed by tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818): an

experimental approach. In: Val, A.L., Almeida-Val, V.M.F. (Eds.), **Biology Tropical Fishes**. INPA, Manaus, p. 137–148, 1999.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Fruits and seeds consumed by tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818) incorporated in the diets. Gastrointestinal tract digestibility and transit velocity. **Revista Brasileira de Zootecnia** v. 32, p. 1815–1824, 2003

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Uso Racional da Água em Aquicultura**. 1. ed. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel - ME, 2013. v. 1. 190p .

STOREBAKKEN, T.; KVIEN, I. S.; SHEARER, K. D.; GRISDALE-HELLAND, B.; HELLAND, S. J.; BERGE, G. M. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybeanmeal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo solar*): evaluation of different faecal collection methods. **Aquaculture**, v. 169, n.3, p. 195-210, 1998.

STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K. D.; BAEVERFJORD, G.; NIELSEN, B. G.; ÅSGÅRD, T.; SCOTT, T.; DE LAPORTE, A.. Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. **Aquaculture**, v.184, n.1, p. 115-132, 2000.

SULLIVAN, J. A.; REIGH, R. C. Apparent digestibility of selected feedstuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone sax- atilis* ´ *Morone chrysops*). **Aquaculture**, v. 138, n.1, p. 313-322, 1995.

TACON, A.G.J. **Nutrition and feeding of farmed fish and shrimp: a training manual**. Redmond: Argent Laboratories Press, 1987. 454p.

TEIXEIRA, A.S. **Alimentos e alimentação dos animais**. 4. ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 402p.

TIBBETTS, S. M.; SANTOSH, P. H.; MILLEY, J. E. Apparent digestibility of common feed ingredients by juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus*. **Aquaculture Research**, v.35, n.7, p.643-651, 2004.

WILSON, R. P.; ROBINSON, E. H.; POE, W. E. Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for channel catfish. **Journal of Nutrition**, v. 111, p. 923–929, 1981.

ZHOU, Q. C.; TAN, B. P.; MAI, K. S.; Liu, Y. J. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia, *Rachycention canadum*. **Aquaculture**, v.241, n.1-4, p.441-451, 2004.

CAPÍTULO 3 - Lisina digestível e estimativa das exigências de aminoácidos essenciais para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*

RESUMO – Realizou-se um ensaio dose resposta com o objetivo de determinar a exigência nutricional em lisina digestível para juvenis de tambaqui e desta forma estimar as exigências nutricionais dos outros aminoácidos, projetando um perfil de aminoácidos (denominado “proteína ideal”), por meio das relações entre o melhor nível de lisina digestível e o perfil de aminoácidos do músculo branco do tambaqui. Os peixes com peso médio de $7,74 \pm 1,01$ g foram alimentados com sete dietas contendo os níveis de lisina digestível de: 0,92; 1,22; 1,50; 1,71; 1,94; 2,20 e 2,46 %. A exigência de lisina digestível determinada através do ajuste dos dados pelo modelo quadrático associado ao platô do Linear Response Plateau (LRP), com base nos valores médios de retenção de proteína foi de 1,76%. As exigências dos aminoácidos estimados utilizando o conceito de proteína ideal foram: arginina (0,90%), histidina (0,37%), isoleucina (0,64%), leucina (1,19%), metionina (0,48%), fenilalanina (0,59%), treonina (0,53%), triptofano (0,17%), valina (0,72%), cistina (0,24%) e tirosina (0,51%).

Palavras-chave: L-lisina, nutrição, peixes, perfil de aminoácidos, proteína ideal.

1. Introdução

O tambaqui, espécie de piracema, nativa das bacias dos rios Solimões, Amazonas e Orinoco, é amplamente distribuída na parte tropical da América do Sul e na Amazônia Central (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1997). Na natureza, pode alcançar de 90 a 100 cm de comprimento, com peso entre 30 a 40 kg (GOULDING; CARVALHO, 1982). Sua dieta natural inclui zooplâncton, frutos e sementes, sendo considerada onívora com tendência a frugívora (HONDA, 1974). Devido a várias características favoráveis à criação em cativeiro, esta espécie e seus híbridos têm sido a mais cultivada no Brasil entre as nativas. No ano de 2011, a produção de tambaqui no Brasil alcançou 111.084 t (BRASIL, 2013).

O custo com alimentação continua sendo o maior dentro da cadeia produtiva do pescado. Com o intuito de reduzir estes custos e tornar a atividade cada vez mais lucrativa, as indústrias buscam produzir dietas mais eficientes para cada espécie de peixe, fazendo com que haja uma melhor conversão alimentar e conseqüentemente um menor impacto ambiental.

Nos últimos anos, muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de determinar o melhor nível de proteína bruta em dietas de peixes; porém, somente após determinar as exigências em aminoácidos digestíveis será possível substituir alimentos de maior custo por alimentos de menor custo, juntamente com a suplementação das dietas com aminoácidos sintéticos. Atendendo o conceito da proteína ideal, é preconizado o balanço exato de aminoácidos, utilizando a lisina como o aminoácido referência e estabelecendo sua proporção aos demais aminoácidos essenciais, de forma a se obter um perfil ideal de aminoácidos que atenda às exigências de manutenção e produção (BOTARO et al., 2007).

Considerando que ainda são poucas as informações sobre as exigências de aminoácidos digestíveis para espécies nativas, e realmente escassas para o tambaqui, o presente trabalho teve o objetivo de determinar a exigência em lisina digestível (com base no experimento de dose-resposta) através dos resultados de desempenho produtivo e de eficiência de utilização de nutrientes e energia em juvenis de tambaqui e desta forma, estimar as exigências dos outros aminoácidos, ou seja, projetar um perfil de aminoácidos (denominado “proteína ideal”), por meio das relações entre o nível de lisina digestível que apresentou

melhores resultados de desempenho e o perfil de aminoácidos do músculo branco do tambaqui.

2. Material e métodos

O ensaio experimental foi realizado na Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) e conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotado pelo colégio brasileiro de experimentação (COBEA) e aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA), protocolo n° 016114/11.

2.1. Material Biológico e condições experimentais

Foram utilizados 510 juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* com peso inicial médio de $7,74 \pm 1,01$ g, provenientes do Laboratório de Reprodução do Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, distribuídos aleatoriamente em 35 aquários de cimento amianto com capacidade de 150 L, numa densidade de estocagem de 14 peixes/aquário.

Os aquários foram abastecidos continuamente por água proveniente de poço artesiano, com temperatura em torno de 30°C e com taxa de renovação de aproximadamente 10 vezes ao dia. Para melhorar as condições ambientais, foi utilizado aeração.

Durante o ensaio, as variáveis físico-químicas monitoradas foram: pH (PHTEK – pH100), temperatura, oxigênio dissolvido (YSI-Yellow Springs Instruments 550A), amônia, nitrato, nitrito e fósforo total (KOROLEFF, 1976; GOLTERMAN et al., 1978 e MACKERETH et al., 1978). Na Tabela 1, é possível observar que todos os parâmetros mantiveram-se dentro do recomendado para criação de peixes (SIPAÚBA-TAVARES, 2013).

2.2. Dietas experimentais e manejo

Para a formulação das dietas, foram utilizados os valores de aminoácidos digestíveis determinados no Capítulo 2 e os valores de proteína, extrato etéreo e energia digestíveis dos alimentos, obtidos por Buzollo (2014). As dietas foram extrusadas no LANOA, em extrusora *Exteec*, modelo *Ex Micro*, com dimensões de grânulos variando de 2 a 4 mm de diâmetro.

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o período experimental

PARÂMETROS	MÉDIA
Temperatura (°C)	30,37 ± 0,20
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	6,11 ± 0,69
pH	7,89 ± 0,44
Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	190,71 ± 1,18
Alcalinidade (µg L ⁻¹)	90,10 ± 0,79
Amônia (µg L ⁻¹)	48,11 ± 18,83
Nitrato (µg L ⁻¹)	110,80 ± 16,09
Nitrito (µg L ⁻¹)	7,30 ± 5,14
Fósforo Total (µg L ⁻¹)	28,93 ± 33,40

Médias ± desvio padrão

Para avaliar a exigência nutricional em lisina digestível para juvenis de tambaqui, foi formulada uma dieta basal contendo 23,5% de proteína digestível (priorizando o mínimo de lisina digestível) que foi suplementada com sete níveis de lisina sintética: 0; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 e 1,8% (Tabela 2). Os níveis dos outros aminoácidos foram mantidos para atender as exigências do pacu, um peixe da mesma família, e com hábito alimentar semelhante, segundo Abimorad et al. (2010), já que para a espécie em estudo, não existem dados na literatura atual (Tabela 3).

Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente, três vezes ao dia (8h00min; 12h00min e 18h00min), numa proporção que possibilitou máxima ingestão, mas sem perdas de ração.

Todos os peixes foram pesados no início do período experimental e aos 84 dias. Para tal, foi utilizada uma balança digital com 0,01g de precisão, sendo as pesagens antecedidas por um período de 24 horas de jejum.

Antes do início do experimento, uma amostra inicial constituída de um grupo de 20 juvenis e 14 peixes de cada parcela no final do experimento, foram sacrificados para análises da composição corporal. Após jejum de 24 horas, estes peixes foram eutanasiados através do aprofundamento do plano anestésico, com benzocaína (concentração de 0,2g/L), em seguida, foram congelados, para posterior moagem. O material moído foi liofilizado, e em seguida determinou-se a matéria seca, proteína bruta, aminoácidos, lipídios, cinzas e energia bruta (AOAC, 2000).

Tabela 2. Formulação e composição das dietas experimentais para o crescimento de juvenis de tambaqui

Dieta	Suplementação de lisina (%)						
	0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8
Dieta Basal (%) ¹	98,2	98,2	98,2	98,2	98,2	98,2	98,2
<i>Ingredientes variáveis (%)</i>							
L-lisina 99,9%	0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8
L-ácido glutâmico 99,9%	1,8	1,5	1,2	0,9	0,6	0,3	0
<i>Composição analisada (%)</i>							
Matéria seca	94,46	93,58	94,93	94,18	94,68	94,97	94,87
Proteína bruta	25,55	25,79	25,93	25,88	26,15	26,50	26,51
Proteína digestível ²	23,51	23,73	23,86	23,81	24,06	24,38	24,39
Lipídios	9,85	9,68	9,48	9,29	9,88	9,66	9,77
Lipídios digestíveis ²	9,16	9,00	8,81	8,64	9,18	8,98	9,08
Energia bruta (cal/g)	4554	4507	4552	4540	4548	4580,5	4550,5
Energia digestível ² (cal/g)	3734	3696	3733	3723	3729	3756	3731
Ca disponível ³	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
P total ³	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Fibra bruta ³	6,51	6,51	6,51	6,51	6,51	6,51	6,51
Matéria mineral	7,55	7,53	7,63	7,39	7,64	7,56	7,37
Extrativo não nitrogenado ⁴	41,29	41,29	41,29	41,29	41,29	41,29	41,29

¹Dieta Basal (%): farinha de salmão = 9,5; farelo de soja = 6,56; glúten de milho = 12,0; milho = 40,69; farelo de trigo = 15,0; quirera de arroz = 6,0; óleo de peixe = 2,5; óleo de soja = 2,5; L-triptofano = 0,15; fosfato bicálcico = 1,8; calcário calcítico = 2,47; antifúngico = 0,3; BHT = 0,03; suplemento vit. e min.⁵ = 0,5

²Valores determinados com dados inéditos

³Valores calculados Segundo Rostagno et al. (2005)

⁴ENN = MS – (PB+EE+MM+FB)

⁵ Suplemento vitamínico e mineral: ácido fólico (1.250 mg); pantotenato de cálcio (1.200 mg); cobre (2.500 mg); ferro (15 g); iodo (375mg); manganês (12,5g); selênio (87,5 mg); zinco (12,5 mg); cobalto (125 mg); vit A (2.500 UI); vit B12 (4.000 mg); tiamina B1 (4.000 mg); riboflavina B2 (4.000 mg); piridoxina B6 (4.000mg); vit C(50.000 mg); vit D3 (6000.000 UI); vit E (37.500 UI); vit K3 (3.750 mg); niacina (122.500mg); biotina (15 mg).

Tabela 3. Valores dos aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) das dietas experimentais para o crescimento de juvenis de tambaqui

Composição analisada (%)	Dietas com níveis de suplementação de lisina						
	0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8
AAE							
Arginina	1,28	1,39	1,40	1,28	1,29	1,27	1,26
Histidina	0,44	0,51	0,38	0,46	0,50	0,44	0,38
Isoleucina	0,82	0,85	0,87	0,82	0,81	0,81	0,80
Leucina	2,25	2,33	2,41	2,25	2,28	2,27	2,26
Lisina	1,00 (0,92)¹	1,30 (1,22)	1,58 (1,50)	1,79 (1,71)	2,02 (1,94)	2,28 (2,20)	2,54 (2,46)
Metionina	0,48	0,48	0,51	0,49	0,49	0,48	0,46
Fenilalanina	1,27	1,35	1,33	1,21	1,23	1,27	1,27
Treonina	0,82	0,87	0,87	0,83	0,82	0,82	0,82
Triptofano	0,30	0,28	0,28	0,30	0,30	0,27	0,28
Valina	1,21	1,23	1,27	1,21	1,21	1,18	1,18
AANE							
Ácido aspártico	1,73	1,83	1,77	1,80	1,65	1,66	1,70
Ácido glutâmico	5,64	5,52	5,38	4,97	4,58	4,33	4,26
Alanina	1,47	1,53	1,58	1,47	1,49	1,50	1,48
Cistina	0,32	0,34	0,37	0,33	0,33	0,33	0,34
Glicina	1,06	1,10	1,05	1,08	1,08	1,05	0,99
Prolina	1,56	1,62	1,68	1,57	1,57	1,58	1,57
Serina	1,14	1,15	1,07	1,14	1,14	1,13	1,01
Tirosina	0,83	0,83	0,87	0,82	0,85	0,81	0,83

¹Valores brutos de AA (Valores digestíveis de AA)

AAE - Aminoácido essencial

AANE – Aminoácido não essencial

2.3. Avaliação do desempenho produtivo e da eficiência nutricional

O desempenho produtivo foi avaliado pela taxa de sobrevivência, ganho em peso médio, taxa de crescimento específico, consumo médio de dieta, conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica, de acordo com as seguintes equações:

$$\text{Taxa de sobrevivência (\%)} = \frac{n^{\circ} \text{ inicial de peixes} - n^{\circ} \text{ final de peixes}}{n^{\circ} \text{ inicial de peixes}} \times 100$$

$$\text{Ganho em peso médio (g)} = \text{peso médio final} - \text{peso médio inicial}$$

$$\text{Taxa de crescimento específico (\%/dia)} = \frac{(\text{Ln peso final} - \text{Ln peso inicial}) \times 100}{\text{tempo (dias)}}$$

$$\text{Convers\~{a}o alimentar aparente} = \frac{\text{consumo de dieta}}{\text{ganho em peso}}$$

$$\text{Taxa de efici\~{e}ncia proteica} = \frac{\text{ganho em peso vivo}}{\text{proteína bruta consumida}}$$

Com os resultados da composiç\~{a}o corporal e do desempenho, foram realizados os c\~{a}lculos de efici\~{e}ncia de retenç\~{a}o de proteína bruta e de lipídios, ganho em proteína bruta, ganho em lisina e ganho em lipídios de acordo com as equaç\~{o}es que se seguem:

$$\text{Efici\~{e}ncia de retenç\~{a}o de proteína bruta (\%)} = \frac{[(PBf \times Pf) - (PBi \times Pi) \times 100]}{CPB}$$

$$\text{Ganho em proteína bruta (g)} = \frac{[(PBf \times Pf) - (PBi \times Pi) \times 100]}{\text{Ganho em Peso/peixe}}$$

$$\text{Ganho em lisina (g)} = \frac{[(LISf \times Pf) - (LISi \times Pi) \times 100]}{\text{Ganho em Peso/peixe}}$$

$$\text{Efici\~{e}ncia de retenç\~{a}o de lipídios (\%)} = \frac{[(LIPf \times Pf) - (LIPi \times Pi) \times 100]}{CLIP}$$

$$\text{Ganho em lipídios (g)} = \frac{[(Lipf \times Pf) - (Lipi \times Pi) \times 100]}{\text{Ganho em Peso/peixe}}$$

Onde:

PBf, PBi = proteína bruta final e inicial no corpo do animal

LISf, LISi = lisina final e inicial no corpo do animal

LIPf, LIPi = lipídios final e inicial no corpo do animal

Pf, Pi = peso médio inicial e final

CPB, CLIP = consumo de proteína bruta e lipídios

Após as análises estatísticas para obtenção do nível mais indicado de lisina digestível, foi determinada a relação proteína digestível: lisina digestível adequada para juvenis de tambaqui e projetado um perfil de aminoácidos denominado “proteína ideal”, através da relação entre os aminoácidos do músculo branco do tambaqui (aminoácido essencial em relação ao total de aminoácidos essenciais), de acordo com a fórmula sugerida por ARAI (1981): relação A/E = (aminoácido essencial / total de aminoácidos essenciais + Cistina + Tirosina) × 1000.

2.4. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos constituídos pelos níveis de lisina e cinco repetições, com 14 peixes por parcela. A normalidade dos dados e a homogeneidade da variância foram testadas antes da aplicação da análise de variância (ANOVA).

A determinação dos melhores valores para os parâmetros de desempenho produtivo, em função do nível mínimo necessário de lisina foi realizada através do ajuste dos dados pelo modelo quadrático associado ao platô do *Linear Response Plateau* (LRP) no software R, versão 3.0.0.

3. Resultados

Durante os 84 dias experimentais, não foram observados sinais clínicos de enfermidades e nem mortalidade. Os juvenis permaneceram bem aclimatados às condições ambientais e aceitaram bem as dietas oferecidas.

As médias dos resultados de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes estão apresentados na Tabela 4. Para os parâmetros avaliados, a adição de lisina influenciou diretamente nas respostas animais ($P < 0,05$).

As médias dos dados observados para os parâmetros de ganho em peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), consumo de ração (CR), conversão alimentar aparente (CA), taxa de eficiência proteica (TEP) e eficiência de retenção de proteína (ERP) foram submetidas a ajuste de dados pelo modelo quadrático associado ao platô do *Linear Response Plateau* (considera-se o primeiro ponto de intersecção da curva quadrática no platô do LRP) para indicação do melhor nível (Tabela 5). Os níveis ótimos de lisina digestível

estimados com base nos parâmetros avaliados apresentaram valores muito próximos, 1,71% para TEP; 1,76% para ERP; 1,78% para PF, GP e CR; 1,79% para TCE e CA.

Para os cálculos do perfil ideal de aminoácidos para espécie, considerou-se o nível ótimo de lisina digestível (1,76%) resultante da equação para ERP. Na Tabela 6, são apresentados os valores de aminoácidos essenciais do músculo de juvenis de tambaqui, a relação $AAE / \Sigma AAE$ no tecido muscular (ARAI, 1981) e o perfil de aminoácidos essenciais ideal para espécie. Para determinar o perfil de aminoácidos essenciais, foi realizada uma estimativa da exigência dos demais aminoácidos essenciais digestíveis por meio do nível adequado de lisina digestível (determinado no estudo de dose resposta).

Tabela 4. Valores médios dos parâmetros de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes de juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de lisina

	Nível de lisina digestível							CV (%)	ANOVA Valores de P	Valores de F
	0,92	1,22	1,50	1,71	1,94	2,20	2,46			
Peso médio inicial (g)	7,68±0,03	7,76±0,05	7,74±0,09	7,82±0,05	7,72±0,06	7,76±0,06	7,71±0,06	1,29	0,703	0,148
Peso médio final (g)	74,06±0,47	85,25±0,42	104,90±0,80	115,48±0,65	118,58±0,66	109,70±0,99	109,15±0,47	19,04	0,0002555	17,041
Ganho em peso (g)	66,38±0,47	77,49±0,41	97,16±0,79	107,65±0,65	119,66±0,93	101,94±0,99	101,44±0,47	22,59	0,0003371	16,109
Taxa de crescimento específico (%/dia)	2,70±0,06	2,85±0,05	3,09±0,08	3,20±0,07	3,32±0,09	3,13±0,10	3,15±0,05	8,02	9,698e-05	19,818
Consumo de ração (g)	89,59±0,50	95,67±0,36	111,33±0,73	121,29±0,61	132,89±0,78	115,61±1,00	112,71±0,45	16,41	9,698e-05	19,818
Conversão alimentar aparente	1,35±0,03	1,24±0,04	1,15±0,05	1,13±0,04	1,12±0,05	1,11±0,03	1,11±0,03	8,07	2,507e-05	24,463
Taxa de eficiência proteica	2,90±0,04	3,14±0,07	3,35±0,08	3,43±0,08	3,42±0,10	3,31±0,08	3,39±0,06	6,94	0,0001941	17,714
Eficiência de retenção de proteína (%)	36,40±0,21	42,66±0,26	49,01±0,35	50,93±0,31	51,05±0,39	49,47±0,38	50,58±0,16	12,16	4,620e-07	39,639
Ganho em proteína (%)	12,56±0,09	13,59±0,08	14,61±0,11	14,86±0,11	14,90±0,10	15,03±0,17	14,91±0,13	6,51	2,298e-08	55,159
Ganho em lisina (%)	0,94±0,03	1,06±0,04	1,20±0,05	1,22±0,05	1,20±0,03	1,24±0,07	1,21±0,05	10,47	7,716 e-09	66,94
Eficiência de retenção de lipídio (%)	156,16±0,48	157,59±0,44	159,29±0,48	158,09±0,59	149,51±0,59	145,33±0,75	145,28±0,50	5,99	0,001678	11,771
Ganho em lipídio (%)	20,77±0,14	18,85±0,15	17,39±0,18	16,59±0,22	16,51±0,17	16,34±0,20	15,78±0,16	10,36	9,435e-05	19,903

Médias (n=5) ± erro padrão da média; CV=coeficiente de variação

Tabela 5. Equações ajustadas para as variáveis de desempenho produtivo para juvenis de tabaquais alimentados com diferentes níveis de lisina digestível

Modelo	Variável	LIS _{ótimo} (%)	R ²
Peso médio final (g), PF			
BL	PF = 112,90 – 52,9829 × (1,6828 – LIS)	1,68	0,6070
PQ	PF = – 36,114 × LIS ² + 146,29 × LIS – 33,048	2,03	0,5968
BL+Pq	112,90 = – 36,114 × LIS ² + 146,29 × LIS – 33,048	1,78	-
Ganho em peso (g), GP			
BL	GP = 107,70 – 53,9799 × (1,7174 – LIS)	1,72	0,5479
PQ	GP = – 40,788 × LIS ² + 163,35 × LIS – 53,756	2,00	0,5514
BL+Pq	107,70 = – 40,788 × LIS ² + 163,35 × LIS – 53,756	1,78	-
Taxa de crescimento específico (%/dia), TCE			
BL	TCE = 3,2022 – 0,6823 × (1,6852 – LIS)	1,68	0,6241
PQ	TCE = – 0,4744 × LIS ² + 1,9162 × LIS + 1,2951	2,02	0,6233
BL+Pq	3,2022 = – 0,4744 × LIS ² + 1,9162 × LIS + 1,2951	1,79	-
Consumo de ração (g), CR			
BL	CR = 120,40 – 41,3953 × (1,7224 – LIS)	1,72	0,4593
PQ	CR = – 34,658 × LIS ² + 135,96 × LIS – 11,072	1,96	0,4726
BL+Pq	120,40 = – 34,658 × LIS ² + 135,96 × LIS – 11,072	1,78	-
Conversão alimentar aparente, CA			
BL	CA = 1,1193 + 0,3427 × (1,5849 – LIS)	1,58	0,7906
PQ	CA = 0,1683 × LIS ² – 0,7141 × LIS + 1,8597	2,12	0,7845
BL+Pq	1,1193 = 0,1683 × LIS ² – 0,7141 × LIS + 1,8597	1,79	-
Taxa de eficiência proteica, TEP			
BL	TEP = 3,3901 – 0,7854 × (1,5441 – LIS)	1,54	0,6244
PQ	TEP = – 0,445 × LIS ² + 1,7845 × LIS + 1,6414	2,01	0,6028
BL+Pq	3,3901 = – 0,445 × LIS ² + 1,7845 × LIS + 1,6414	1,71	-
Eficiência de retenção de proteína (%), ERP			
BL	ERP = 50,5068 – 21,7259 × (1,5732 – LIS)	1,57	0,8244
PQ	ERP = – 11,844 × LIS ² + 48,534 × LIS + 1,8045	2,05	0,8019
BL+Pq	50,5068 = – 11,844 × LIS ² + 48,534 × LIS + 1,8045	1,76	-

R², coeficiente de determinação SQTratamento/SQTotal;

BL, *Broken line*; PQ, polinomial quadrático; BL+PQ, primeiro intercepto da equação PQ com o platô do BL.

Tabela 6. Exigências em aminoácidos essenciais (AAE) digestíveis para juvenis de tambaqui calculadas pelo conceito de proteína ideal e relação AAE digestível : proteína digestível na dieta

	% na proteína do músculo branco do tambaqui ¹	AAE / Σ AAE do músculo * 1000 (ARAI, 1981)	Perfil de AAE ideal ² Referente à exigência em lisina digestível para o tambaqui (% da dieta)
Arginina	5,37	110,77	0,90
Histidina	2,20	45,38	0,37
Isoleucina	3,85	79,41	0,64
Leucina	7,14	147,28	1,19
Lisina	10,55	217,62	1,76
Metionina	2,87	59,20	0,48
Fenilalanina	3,52	72,61	0,59
Treonina	3,19	65,80	0,53
Triptofano	1,00	20,63	0,17
Valina	4,32	89,11	0,72
Cistina	1,44	29,70	0,24
Tirosina	3,03	62,50	0,51
Σ AAE+Cis+Tir	48,48		

¹Analisado (n=4)

²Exigência estimada para os demais AAE digestíveis em relação a exigência em lisina digestível: (1,76 /217,62) * resultado da fórmula de Arai (1981).

4. Discussão

A maioria dos estudos de dose-resposta realizados com o objetivo de determinar os requisitos dos principais aminoácidos para diversas espécies de peixes tem utilizado dietas purificadas ou semi-purificadas. Entretanto, o uso de dietas purificadas ou semi-purificadas pode ser prejudicial para o crescimento dos peixes, pois reduz o consumo de ração em razão da reduzida palatabilidade apresentada (BERGE et al., 2002). Com isso, no presente estudo, optou-se em alimentar os juvenis de tambaquis com dietas práticas e suplementadas com aminoácidos sintéticos, de forma a obterem os níveis nutricionais preconizados.

Ao contrário do observado por Abimorad et al. (2010), em uma investigação sobre a exigência de lisina digestível em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), e por Rampe et al. (2014) em investigação sobre a exigência de lisina digestível em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo, observou-se efeito sobre o consumo de ração para o tambaqui, com a adição de lisina as dietas experimentais.

Da mesma forma como o observado por Bomfim et al. (2010), em estudo com juvenis de tilápia-do-nilo, a inclusão da L-lisina proporcionou melhora para todas as variáveis de desempenho produtivo avaliadas. Este fato pode estar relacionado ao relatado por diversos autores (COWEY; SARGENT, 1979;

BENEVENGA et al., 1993; TANTIKITTI; CHIMSUNG, 2001), onde a falta de um único aminoácido pode prejudicar o crescimento de peixes pela diminuição da síntese proteica e o gasto energético com o catabolismo de outros aminoácidos em desequilíbrio nas dietas e, conseqüentemente, nas vias metabólicas. Desta forma é possível verificar que o adequado balanceamento de aminoácidos nas dietas pode aumentar a disponibilidade da proteína desde o processo de digestão e, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de aminoácidos para a formação muscular (ABIMORAD et al., 2010).

O satisfatório crescimento dos peixes indica que as dietas suplementadas com aminoácidos livres, mesmo com níveis de proteína bruta inferiores às exigências para o tambaqui (30% PB segundo Oishi et al. (2010)) foram suficientes para potencializar o desempenho dos animais, como também observado por Furuya et al. (2005), Bomfim et al. (2008) e Bomfim et al. (2010) para juvenis de tilápia-do-nilo.

A exigência em lisina digestível de 1,76% da dieta total foi estimada pelo modelo quadrático associado ao platô do *Linear Response Plateau* para a retenção de proteína. O nível determinado de 1,76% em resposta a eficiência de retenção de proteína pode ser considerado biologicamente mais adequado em relação aos demais parâmetros zootécnicos (PF, GP, CA e TCE), já que os aminoácidos estão retidos na proteína e os parâmetros que consideram o ganho em peso podem estar mascarados pelo ganho fornecido pela gordura.

Assim, considerou-se que o melhor nível de lisina digestível na dieta, para esta espécie foi de 1,76%, que corresponde a 6,78% da fração proteica. Este valor é superior ao de 5,30% da fração proteica, determinado por Azevedo et al. (2012), porém os autores não realizaram experimento de dose resposta, as exigências em aminoácidos essenciais do tambaqui foram estimadas com base no perfil aminoacídico corporal da espécie descrito por Van Der Meer e Verdegem (1996). Abimorad et al. (2010) também encontraram valores relativamente menores em estudo com juvenis de pacu (1,64% da dieta), que corresponde a aproximadamente 5,57% na fração proteica. Para determinar este nível, os autores optaram em utilizar como principal resposta o ganho em peso, por apresentar um melhor ajuste dos dados ao modelo utilizado. Essa pequena diferença pode ser explicada por algumas semelhanças entre as espécies, como o hábito alimentar, aparelho digestório e habitat. Embora, dentre as espécies

consideradas onívoras, os processos digestivos podem ser distintos e levar a resultados diferentes (ABIMORAD et al., 2010).

Outros trabalhos também determinaram o melhor nível de lisina para outras espécies de peixes (FURUYA et al., 2004; FURUYA et al., 2006; JACKSON; CAPPER, 1982; SANTIAGO; LOVELL, 1988; MONTES-GIRAO; FRACALLOSSI, 2006; TANTIKITTI; CHIMSUNG, 2001 e ROBINSON et al., 1980), porém foram realizados com estes nutrientes na sua forma bruta, dificultando a comparação com o valor de lisina digestível determinado no presente estudo.

Considerando que a máxima eficiência alimentar é alcançada no ponto em que o animal atinge seu potencial para deposição de proteína, menor quantidade de energia deveria estar disponível para deposição de gordura corporal (FONTES et al., 2000; BUREAU et al., 2000; NOBLET, 2001 e ABREU et al., 2006). Isto indica que o melhor balanceamento de aminoácidos na dieta provavelmente evita o catabolismo seletivo de aminoácidos e, conseqüentemente, aumenta a síntese proteica, diminuindo o acúmulo de reservas lipídicas (OZÓRIO et al., 2002 e CONCEIÇÃO et al., 2003). Além disso o nível ideal de lisina circulante induz um processo de anabolismo, por meio da liberação de insulina, aumentando a retenção de proteína e reduzindo a gordura corporal pelo aumento de lipólise (BERNE; LEVY, 1990).

O conceito de proteína ideal é utilizado como método para estimar a exigência de todos os AAE, quando somente um é conhecido, por meio da taxa ideal de um aminoácido em relação ao total de AAE dos tecidos do peixe (ARAI, 1981; KAUSHIK, 1998 e KIM; LALL, 2000).

Observou-se que o perfil estimado para o tambaqui, em relação aos AAE do músculo branco, não foi tão diferente do perfil determinado para pacu por Abimorad et al. (2010). Para lisina e metionina os níveis estiveram 6,82 e 20,83% acima do recomendado para o pacu, respectivamente. Já para arginina, histidida, isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina, valina, cistina e tirosina os níveis estiveram 21,74; 15,91; 12,33; 17,36; 20,27; 36,14; 10,00; 50,00 e 12,07% abaixo do recomendado para o pacu, respectivamente.

Azevedo et al. (2012) utilizaram os valores de aminoácidos da carcaça de juvenis de tambaqui, analisados por Van Der Meer e Verdegem (1996), e com esses valores fizeram recomendações de um perfil de aminoácidos ideal para o crescimento do tambaqui, apesar de não terem realizado nenhum experimento

de dose resposta, nem mesmo de digestibilidade de aminoácidos. Mesmo assim os resultados do perfil recomendado foram próximos ao observado para exigência de aminoácidos digestíveis no presente estudo: para lisina, metionina+cistina e triptofano os níveis estiveram 21,82; 21,21 e 50,77% abaixo do estimado, respectivamente. Já para arginina, fenilalanina+tirosina, histidina, isoleucina, leucina, treonina e valina os níveis estiveram 19,11; 8,03; 5,96; 15,17; 5,95; 30,14 e 15,55% acima do recomendado no presente estudo, respectivamente.

O nível dietético adequado de lisina digestível (1,76%) foi determinado com base na disponibilidade da lisina nas dietas experimentais. A exigência estimada dos demais AAE digestíveis, pelo uso do conceito de proteína ideal, permitirá a elaboração de dietas com adequado balanceamento de aminoácidos que atendam exatamente as exigências em aminoácidos digestíveis.

5. Conclusão

O nível de lisina digestível de 1,76% da dieta total ou 6,78% da proteína da dieta proporcionaram melhores taxas de eficiência proteica para juvenis de tambaqui com peso de 7 a 118 gramas.

As exigências estimadas dos demais aminoácidos digestíveis com uso do conceito de proteína ideal (arginina - 0,90; histidina - 0,37; isoleucina - 0,64; leucina - 1,19; metionina - 0,48; fenilalanina - 0,59; treonina - 0,53; triptofano - 0,17; valina - 0,72; cistina - 0,24 e tirosina - 0,51% da dieta total) poderá contribuir para formulação de dietas que atendam exatamente as exigências em aminoácidos digestíveis, maximizando a eficiência de utilização da proteína.

Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo 2012/09126-4) e bolsa (2011/12964-9) concedidos.

6. Referências

ABIMORAD, E. G.; FAVERO, G. C.; SQUASSONI, G. H.; CARNEIRO, D. Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, v.16, p. 370-377, 2010.

ABREU, M. L. T. D.; DONZELE, J. L.; OLIVEIRA, R. F. M. D.; OLIVEIRA, A. L. S. D.; HAESE, D.; PEREIRA, A. A. Níveis de lisina digestível em rações, utilizando-se o conceito de proteína ideal, para suínos machos castrados de alto potencial genético dos 15 aos 30 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1039-1046, 2006 (supl.).

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Assoc. Anal. Chem., Arlington, VA, 2000.

ARAI, S. A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. **Bulletin of the Japanese Society for the Science Fisheries** v.47, p. 547-550, 1981.

ARAÚJO-LIMA, C. R. M.; GOULDING, M. **So fruitful fish: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui**. New York: Columbia University Press, 1997. 157 p.

AZEVEDO, K.S.P.; ALMEIDA, R.G.S.; SANTOS, M.C.; RESENDE, A.M.; BICUDO, A.J.A. 2012 Valores da exigência de aminoácidos essenciais do tambaqui *Colossoma macropomum* estimados pelo perfil de aminoácidos corporais. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, 5., Palmas, 1-5/jul./2012. **Anais...** Palmas: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p.R0495-1.

BENEVENGA, N. J.; GAHL, M. J.; BLEMININGS, K. P. Role of protein synthesis in amino acid catabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 123, p. 332–336, 1993.

BERGE, G.E.; SVEIER, H.; LIED, E. Effects of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) imbalanced levels of lysine and arginine. **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.239-248, 2002.

BERNE, R.M.; LEVY M.N. Metabolismo corporal total e hormônio das ilhotas pancreáticas. In: **Fisiologia** (Berne, R.M. & Levy M.N. ed.) pp. 668-697, 2th edn. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 1990.

BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; ABREU, M. L. T. D.; RIBEIRO, F. B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1713-1720, 2008.

BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F. B.; SOUZA, M. P. Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 1-8, 2010.

BOTARO, D.; FURUYA, W. M.; SILVA, L. C. R.; SANTOS, L. D.; SILVA, T. D. C.; SANTOS, V. D. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 517-525, 2007.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aqüicultura 2013**. [Brasília, DF, 2013]. Disponível em:<<http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>>. Acesso em: 22 abr. 2014.

BUREAU, B.P.; AZEVEDO, P.A.; TAPIA-SALAZAR, M. et al. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, Avances em Nutrición Acuicola, 5., 2000, Mérida, Yucatán, Mexico. **Memorias...** Mérida: 2000. (CD-ROM).

BUZOLLO, H. **Exigência de proteína digestível em juvenis de tambaqui e a dinâmica do crescimento muscular por aspectos morfológicos e turnover isotópico do carbono-13 e do nitrogênio-15**. 2014. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

CONCEIÇÃO, L. E. C.; GRASDALEN, H.; RØNNESTAD, I. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. **Aquaculture**, v. 227, p. 221-232, 2003.

COWEY, B.C.; SARGENT, J.R. (1979) Nutrition. In: **Fish Physiology**, Vol. VIII. Bioenergetics and Growth (HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. eds), p. 1-69.

FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; MACEDO, R. M. G.; SANTOS, V. G.; SILVA, L. C. R.; SILVA, T. C.; BARRIVIERA, V. R.; SALES, P. J. P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1433-1441, 2005.

FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; NEVES, P. R.; SILVA, L. C. R.; HAYASHI, C. Exigência de lisina pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na terminação. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1571-1577, 2004.

FURUYA, W. M.; SANTOS, V. G.; SILVA, L. C. R.; FURUYA, V. R. B; SAKAGUTI, E. S. Digestible lysine requirement of Nile tilapia juveniles. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 35, n. 9, p. 37-942, 2006.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwater**. London: IBP, Blackwell Science Publishing, 1978, p.213.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 2, p. 107-133, 1982.

HONDA, E. M. S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas – II: alimentação de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). **Acta Amazônica**, v. 4, p. 47-53, 1974.

JACKSON, A. J.; CAPPER, B. S. Investigations into the requirements of the tilapia (*Sarotherodon mossambicus*) for dietary methionine, lysine and arginine in simisynthetic diets. **Aquaculture**, v. 29, p. 289-297, 1982.

KAUSHIK, S. J. Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. **Aquatic Living Resource**, v. 11, p. 355-358, 1998.

KIM, J. D.; LALL, S.P. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellow-tail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, v. 187, p. 367-373, 2000.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: Granshoffk (ed.). **Methods of Seawater Analysis**. Verlag. Chemic. Weinheim., p. 117 – 187, 1976.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water analysis: some revised methods for limnologists**. London: Freshwater Biological Association, 1978. p.120.

MONTES-GIRAO, P.; FRACALOSSO, D. M. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundiá, *Rhamdia quelen*. **The Journal of the World Aquaculture Society**, v. 37, p. 388-396, 2006.

NOBLET, J. Avaliação energética em suínos. In: WORKSHOP LATINO-AMERICANO AJINOMOTO BIOLATINA DE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: 2001. p.2-17.

OISHI, C. A.; NWANNA, L. C.; PEREIRA FILHO, M. Optimum dietary protein requirement for Amazonian Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fish meal free diets. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 4, p. 757-762, 2010.

OZÓRIO, R. O. A.; BOOMS, G. H. R.; HUISMAN, E. A.; VERRETH, J. A. J. Changes in amino acid composition in the tissues of African catfish (*Clarias gariepinus*) as a consequence of dietary L-carnitine supplements. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 18, p. 140-147, 2002.

RAMPE, M. C. C.; PACHECO, M. L.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; GIANNOTTI, J. D. G.; DEMUNER, L. F.; MARIN, J. F. V. Adição de lisina digestível em rações experimentais para juvenis de tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, 2014.

ROBINSON, E. H.; WILSON, R. P.; POE, W. E. Re-evaluation of the lysine requirement and lysine utilization by fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, v. 110, p. 2313- 2316, 1980.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. A. T.; DONZELLE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 141p.

SANTIAGO, C. B.; LOVELL. R. T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **The Journal of Nutrition**, v. 118, p. 1540-1546, 1988.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Uso Racional da Água em Aquicultura**. 1. ed. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel - ME, 2013. v. 1. 190p .

TANTIKITTI, C.; CHIMSUNG, N. Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). **Aquaculture Research**, v. 32, p. 135-14, 2001.

VAN DER MEER, M. B.; VERDEGEM, M. C. J. Comparison of amino acid profiles of feeds and fish as a quick method for selection of feed ingredients: A case study of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 27, p. 487-495, 1996.

CAPÍTULO 4 - *Turnover* isotópico de carbono $\delta^{13}\text{C}$ e nitrogênio $\delta^{15}\text{N}$ no tecido muscular de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* alimentados com dietas suplementadas com lisina e/ou metionina

RESUMO – Foi conduzido um estudo para avaliar crescimento e *turnover* de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio em tecido muscular de juvenis de tambaqui em função da suplementação dietética de lisina e/ou metionina. Após um período de padronização isotópica de 60 dias com uma dieta de assinatura isotópica predominante de plantas C_4 , 640 peixes ($8,16 \pm 0,42$ g) foram selecionados e distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de fibra de vidro (450 L). Os peixes passaram a receber quatro dietas experimentais (D - basal (deficiente), L – basal suplementada com lisina, M - basal suplementada com metionina e LM – basal suplementada com ambos os aminoácidos) com assinaturas isotópicas predominante de plantas do ciclo fotossintético C_3 , durante 120 dias para avaliação do desempenho produtivo e do *turnover* isotópico. O *turnover* isotópico para $\delta^{15}\text{N}$ de juvenis de tambaqui alimentados com dieta suplementada com DL-metionina mais L-lisina, em níveis que atendem as exigências nutricionais, foi mais acelerado do que animais alimentados com dietas deficientes de metionina e/ou lisina, confirmando os resultados de desempenho.

Palavras-chave: aminoácidos, DL-metionina, isótopos estáveis, músculo, nutrição, peixes, L-lisina.

1. Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma das espécies mais cultivadas no Brasil, disseminado praticamente em todo país, com exceção das regiões com temperaturas mais baixas, já que seu crescimento pode ser limitado em temperaturas inferiores a 20°C (ZANIBONI FILHO; MEURER, 1997). Alguns aspectos favorecem o cultivo desta espécie, como o hábito alimentar onívoro e a adaptação aos diferentes sistemas de produção, podendo utilizar diferentes fontes proteicas e energéticas com eficiência numa ampla faixa de combinações entre elas.

A busca por novas tecnologias de produção para espécies nativas como o tambaqui, tem incentivado diferentes estudos sobre a alimentação e nutrição; porém, as exigências nutricionais em peixes são comumente estimados a partir de resultados de crescimento, desempenho produtivo, composição corporal e eficiência nutricional, embora, outras ferramentas podem ser utilizadas para avaliar o metabolismo e assimilação de nutrientes dos alimentos. O uso de isótopos estáveis naturais surge como alternativa segura para avaliar a deposição dos elementos de potenciais constituintes alimentares (DUCATTI, 2007a). Além disso permiti a verificação dos diferentes momentos em que os peixes iniciam a utilização dos nutrientes da dieta, por meio da retenção dos átomos de carbono e nitrogênio nos tecidos (JOMORI et al., 2008) e assim, possibilita o estudo das taxas de *turnover* desses elementos nos tecidos animais durante o crescimento.

Os isótopos estáveis mais utilizados em estudos biológicos são os de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$). Os resultados baseiam-se na determinação da proporção $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, respectivamente (MANETTA; BENEDITO-CECILIO, 2003). A razão isotópica é mensurada através de espectrômetro de massa, que mede a razão entre o isótopo pesado e o leve de uma amostra, em comparação a um padrão (DUCATTI, 2007a).

O *turnover* consiste na síntese do novo tecido no corpo e da degradação do velho. A velocidade na qual ocorre a degradação do tecido velho refere-se ao *turnover* metabólico e pode ser determinada pela comparação nas alterações observadas da composição isotópica relativa ao crescimento. A taxa de *turnover* está associada à taxa de crescimento, porque um indivíduo que cresce rapidamente terá uma rápida taxa de *turnover*, comparado com os organismos

que têm crescimento relativamente mais lento (MANETTA; BENEDITO-CECILIO, 2003). A taxa de *turnover* proteico em peixes, tem sido avaliada em alguns estudos (LAN GAR; GUILLAUME, 1994; DE LA HIGUERA et al., 1999; PERAGÓN et al., 2001; ZUANON et al., 2006 e JOMORI et al., 2011) e pode ser alterada em resposta à qualidade da proteína dietética (DE LA HIGUERA et al., 1999).

Tendo em vista a pouca quantidade de publicações relacionadas a alimentação e nutrição desta espécie, e a importância destes estudos para obtenção de dietas nutricionalmente completas e economicamente eficientes, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de lisina e/ou metionina em dietas práticas no *turnover* dos isótopos estáveis de carbono-13 e nitrogênio-15 em tecido muscular de juvenis de tambaqui.

2. Material e métodos

O ensaio experimental foi realizado na Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) e conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotado pelo colégio brasileiro de experimentação (COBEA) e aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA), protocolo nº 016114/11.

2.1. Condições Experimentais

2.1.1. Padronização isotópica – pré experimento

Antes de iniciar o ensaio de desempenho com as dietas experimentais, um pré-experimento de 60 dias foi conduzido com o objetivo de padronizar as assinaturas isotópicas de carbono-13 e nitrogênio-15 no tecido muscular dos peixes.

Inicialmente, os alimentos foram analisados quanto à composição bromatológica e isotópica. Em seguida, uma dieta pré-experimental foi formulada com assinatura isotópica predominante “C4”, com 27% de proteína digestível e 3587,7 cal/g de energia digestível (Tabela 1), determinada com base nos coeficientes de digestibilidade aparente dos alimentos (BUZOLLO, 2014). O teor de proteína digestível foi estabelecido com base nos resultados obtidos por

Abimorad et al. (2014) para juvenis de pacu, uma vez que na literatura os dados para espécie estudada são escassos.

Tabela 1. Formulação, composição bromatológica e sinais isotópicos dos ingredientes e da dieta com assinatura isotópica C₄ (valores com base na matéria natural)

Ingredientes	Constituintes	Composição Isotópica (‰)	
	%	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Farinha de salmão	23,31	-20,40 ± 0,10	12,01 ± 0,04
Glutenose de milho 60	13,50	-15,19 ± 0,05	1,88 ± 0,07
Levedura de álcool	5,00	-12,35 ± 0,05	2,85 ± 0,13
Milho	34,31	-12,76 ± 0,13	3,47 ± 0,03
Sorgo	9,00	-14,16 ± 0,13	1,13 ± 0,05
Quirera de Arroz	13,00	-30,22±0,18	7,13±0,29
Fosfato bicálcico	0,25		
Calcário	0,80		
Antifungico	0,30		
BHT, antioxidante	0,03		
Premix ⁽¹⁾	0,50		
Total	100		
Composição Bromatológica analisada ²			
Matéria Seca (%)	90,39		
Proteína Bruta (%)	31,00		
Proteína Digestível (%)	27,0		
Lipídios (%)	5,82		
Energia Bruta (cal/g)	4216,4		
Energia Digestível (cal/g)	3587,7		
Fibra Bruta (%)	5,20		
Matéria Mineral (%)	6,78		
Extrato Não Nitrogenado (%) ⁽³⁾	42,2		
Composição Isotópica analisada da Dieta C₄			
Carbono-13 (‰)		-17,30 ± 0,11	
Nitrogênio-15 (‰)		7,59 ± 0,03	

(1) Suplemento vitamínico e mineral: ácido fólico (1.250 mg); pantotenato de cálcio (1.200 mg);cobre (2.500 mg); ferro (15 g); iodo (375 mg); manganês (12,5 g); selênio (87,5 mg); zinco (12,5 mg); cobalto (125 mg); Vit A (2.500 U I); Vit B12 (4000 mg); Tiamina B1 (4000 mg); Riboflavina B2 (4000 mg); Piridoxina B6 (4000 mg); Vit C (50.000 mg); Vit D3 (600.000 UI); Vit E (37.500); Vit K3 (3.750 mg); niacina (122.500 mg); biotina (15 mg)

(2) Composição analisada após o processo de extrusão

(3) ENN = MS – (PB + EE + MM + FB)

Nesta fase pré-experimental, 2800 juvenis de tambaqui de peso inicial médio 1,16±0,22 gramas e comprimento total médio de 42,17±2,88 milímetros, provenientes de uma piscicultura comercial de Manaus-AM, foram distribuídos

aleatoriamente em 16 tanques de fibrocimento com capacidade de 150 L, sob aeração e abastecimento contínuos, por água proveniente de poço artesiano, com taxa de renovação de aproximadamente 3,5 vezes ao dia, na densidade de 175 peixes por tanque. Os peixes receberam a dieta pré-experimental “C4”, processada em extrusora *Exteec*, modelo *Ex Micro*. Os pellets com diâmetros de 2mm foram fornecidos diariamente às 8h, 14h e 18h, durante 60 dias, para que o tecido muscular dos tambaquis passasse a ter uma composição isotópica semelhante ao da dieta pré-experimental, considerando os fracionamentos para cada isótopo ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$). Neste período, oito peixes foram capturados aleatoriamente em cada um dos dias 0, 3, 6, 10, 20, 30, 40, 50 e 60, para obtenção dos fragmentos de músculo a serem isotopicamente analisados.

Para obtenção do fragmento dorsal do músculo branco, os juvenis de tambaqui foram eutanaziados por imersão em gelo. As amostras foram devidamente acondicionadas, identificadas e congeladas, até a preparação para as análises isotópicas que foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociência da UNESP/Botucatu.

Durante o pré ensaio, as variáveis físico-químicas monitoradas foram: pH (PHTEK – pH100), temperatura, oxigênio dissolvido (YSI-Yellow Springs Instruments 550A), amônia, nitrato, nitrito e fósforo total (KOROLEFF, 1976; GOLTERMAN et al., 1978 e MACKERETH et al., 1978). Na Tabela 2, é possível observar que todos os parâmetros mantiveram-se dentro do recomendado para criação de peixes (SIPAÚBA-TAVARES, 2013). A cada sete dias, foi realizada a sifonagem do fundo dos tanques para retirada de resíduos de alimento e fezes, e a lavagem das pedras porosas, evitando-se piora na qualidade da água.

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante 60 dias de criação de juvenis de tambaqui

PARÂMETROS	MÉDIA
Temperatura (°C)	29,95 ± 0,52
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	5,35 ± 0,48
pH	7,68 ± 0,35
Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	188,52 ± 1,33
Alcalinidade (µg L ⁻¹)	91,00 ± 1,00
Amônia (µg L ⁻¹)	87,52 ± 39,50
Nitrato (µg L ⁻¹)	72,75 ± 29,31
Nitrito (µg L ⁻¹)	5,22 ± 3,31
Fósforo Total (µg L ⁻¹)	20,1 ± 9,60

Médias ± desvio padrão.

2.1.2. Fase experimental

Após o pré-experimento de padronização isotópica, 640 peixes com peso inicial médio de $8,16 \pm 0,42$ gramas e comprimento total médio de $62,10 \pm 2,10$ milímetros foram selecionados e distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de fibra de vidro (450 L providos de aeração e abastecimento com água proveniente de poço artesiano, com taxa de renovação de 3,5 vezes aos dia), para compor quatro tratamentos e cinco repetições, na densidade de 32 peixes por tanque. Desta forma, os grupos de peixes passaram a receber os quatro tratamentos dietéticos com diferentes formas de suplementação dos aminoácidos e dietas com assinaturas isotópicas predominantes de plantas do ciclo fotossintético C_3 , durante 120 dias para avaliação do desempenho produtivo e do *turnover* isotópico.

Durante o ensaio, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (10h00min, e 18h00min), até a saciedade aparente. As variáveis físico-químicas monitoradas foram: pH (PHTEK – pH100), temperatura, oxigênio dissolvido (YSI-Yellow Springs Instruments 550A), amônia, nitrato, nitrito e fósforo total (KOROLEFF, 1976; GOLTERMAN et al., 1978 e MACKERETH et al., 1978). Na Tabela 3, observa-se que todos os parâmetros mantiveram-se dentro do recomendado para criação de peixes (SIPAÚBA-TAVARES, 2013). A cada sete dias foi realizada a sifonagem do fundo dos tanques para retirada de resíduos de alimento e fezes, e a lavagem das pedras porosas, evitando-se piora na qualidade da água.

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante 120 dias de criação de juvenis de tambaqui

PARÂMETROS	MÉDIA
Temperatura (°C)	$29,52 \pm 0,91$
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	$4,75 \pm 0,32$
pH	$7,38 \pm 0,66$
Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	$198,52 \pm 1,38$
Alcalinidade ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$93,00 \pm 2,00$
Amônia ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$85,52 \pm 29,32$
Nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$42,56 \pm 22,87$
Nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$4,98 \pm 2,99$
Fósforo Total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$22,9 \pm 10,1$

Médias \pm desvio padrão

2.2. Dietas experimentais

Uma dieta basal deficiente em lisina e metionina com sinal característico de plantas “C₃” foi formulada para conter 22,6% de proteína digestível e 3264,3 cal/g de energia digestível. Os valores digestíveis utilizados são provenientes de uma base de dados ainda não publicada (BUZOLLO, 2014). A partir desta dieta obteve-se quatro tratamentos dietéticos, utilizadas no experimento de desempenho, seguindo a suplementação dos aminoácidos: D - dieta basal (deficiente), L – dieta basal suplementada com lisina, M - dieta basal suplementada com metionina e LM – dieta basal suplementada com ambos os aminoácidos (Tabelas 4 e 5). Os níveis de lisina e metionina suplementados foram determinados com base nos resultados apresentados no Capítulo 3.

As análises bromatológicas dos alimentos utilizados na confecção das dietas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Campus de Jaboticabal, de acordo com as normas da AOAC (2000). As análises de aminoácidos totais foram realizadas por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC), no Laboratório de Fontes Proteicas da Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP. As análises isotópicas foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências da UNESP/Botucatu, SP, Brasil, por espectrometria de massa de razão isotópica, com erro de análise na ordem de 0,2‰.

O processamento das dietas foi realizado na Fábrica de Rações da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – Campus de Jaboticabal. Os ingredientes das dietas foram finamente moídos em moinho, com peneira de malha de 0,8 mm de diâmetro. Cada dieta passou pelo processamento de extrusão, realizado em extrusora Extrucenter, modelo MAB 400S. A temperatura média dos peletes na saída da extrusora foi de 80 °C.

Tabela 4. Formulação e composição de dietas experimentais para juvenis de tambaqui

Dieta	Dietas			
	D	L	M	L+M
Dieta Basal (%) ¹	98,5	98,5	98,5	98,5
<i>Ingredientes variáveis (%)</i>				
L-lisina 81,61%	0	0,79	0	0,79
DL-metionina 99,9%	0	0	0,26	0,26
L-Ácido Glutâmico 99,9%	1,5	0,26	0,79	0
<i>Composição analisada (%)</i> ²				
Matéria Seca	93,91	94,60	93,98	92,25
Proteína Bruta	27,24	27,75	27,08	26,64
Proteína Digestível ³	24,62	25,09	24,48	24,08
Lipídio	7,47	7,78	7,67	7,30
Lipídio Digestível ³	7,10	7,40	7,29	6,94
Energia Bruta (cal/g)	4418,0	4411,0	4460,0	4354,0
Energia Digestível (cal/g) ³	3452,7	3447,2	3485,5	3264,3
Ca disponível ⁴	0,60	0,60	0,60	0,60
P total ⁴	0,71	0,71	0,71	0,71
Fibra Bruta ⁴	4,8	4,8	4,8	4,8
Matéria Mineral	6,07	6,26	6,04	5,98
Extrativo não nitrogenado ⁵	44,3	44,3	44,3	44,3
<i>Composição isotópica analisada média (‰)</i> ²				
Carbono-13	-27,23 ± 0,18			
Nitrogênio-15	2,06 ± 0,13			

D - dieta basal (deficiente), L – dieta basal suplementada com lisina, M - dieta basal suplementada com metionina e LM – dieta basal suplementada com ambos os aminoácidos

¹ Dieta Basal (%): farinha de salmão = 2,0; farelo de soja = 34,40; glúten de trigo = 3,0; farelo de trigo = 6,5; quirera de arroz = 43,32; óleo de peixe = 6,0; óleo de soja = 2,5; L-triptofano = 0,15; fosfato bicálcico = 2,9; antifúngico = 0,3; BHT = 0,03; premix⁶ = 0,5

² Composição analisada após o processo de extrusão

³ Valores determinados com dados de digestibilidade (BUZOLLO, 2014)

⁴ Valores calculados Segundo Rostagno et al. (2005)

⁵ ENN = MS – (PB+EE+MM+FB)

⁶ Suplemento vitamínico e mineral: ácido fólico (1.250 mg); pantotenato de cálcio (1.200 mg); cobre (2.500 mg); ferro (15 g); iodo (375mg); manganês (12,5g); selênio (87,5 mg); zinco (12,5 mg); cobalto (125 mg); vit A (2.500 UI); vit B12 (4.000 mg); tiamina B1 (4.000 mg); riboflavina B2 (4.000 mg); piridoxina B6 (4.000mg); vit C(50.000 mg); vit D3 (6000.000 UI); vit E (37.500 UI); vit K3 (3.750 mg); niacina (122.500mg); biotina (15 mg).

Tabela 5. Valores dos aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) das dietas experimentais

Composição analisada (%) ¹	Dietas Experimentais			
	D	L	M	L+M
<i>AAE</i>				
Arginina	1,76	1,76	1,77	1,77
Histidina	0,58	0,57	0,57	0,55
Isoleucina	1,16	1,12	1,14	1,14
Leucina	1,96	1,94	1,92	1,91
Lisina	1,38 (1,28)²	1,97 (1,87)	1,40 (1,29)	1,96 (1,86)
Metionina	0,35 (0,32)	0,36 (0,33)	0,56 (0,53)	0,54 (0,52)
Fenilalanina	1,40	1,51	1,42	1,44
Treonina	0,80	0,83	0,83	0,90
Triptofano	0,26	0,25	0,25	0,25
Valina	1,32	1,31	1,30	1,27
<i>AANE</i>				
Ácido aspártico	2,64	2,70	2,69	2,70
Ácido glutâmico	6,70	5,55	6,03	5,27
Alanina	1,06	1,05	1,03	1,08
Cistina	0,49	0,42	0,44	0,54
Glicina	1,19	1,19	1,18	1,17
Prolina	1,37	1,37	1,36	1,43
Serina	1,26	1,27	1,26	1,27
Tirosina	1,00	0,99	0,99	0,96
AA totais	26,32	26,17	26,13	26,16

D - dieta basal (deficiente), L – dieta basal suplementada com lisina, M - dieta basal suplementada com metionina e LM – dieta basal suplementada com ambos os aminoácidos

¹ Composição analisada após o processo de extrusão

² Valores brutos de AA (Valores digestíveis de AA)

AAE - Aminoácido essencial

AANE – Aminoácido não essencial.

2.3. Desempenho produtivo

Para avaliação dos parâmetros de desempenho, os peixes foram pesados e medidos. Para determinação da composição corporal, trinta peixes de uma amostra inicial e seis de cada parcela, ao final do período experimental, foram coletados. Antes da coleta, os peixes foram submetidos a jejum de 24 horas, após, foram insensibilizados por imersão em gelo, sacrificados e abertos lateralmente. Em seguida, os peixes foram congelados, para posterior moagem em picador de carne, marca CAF. O material moído foi liofilizado para determinação da matéria seca, proteína bruta e energia bruta (AOAC, 2000).

Com os resultados da composição corporal e do desempenho, foram avaliados os parâmetros de desempenho produtivo (sobrevivência, peso médio final, ganho em peso, taxa de crescimento específico, consumo alimentar, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica) e eficiência de retenção de nutrientes (proteína e energia), de acordo com as seguintes equações:

$$\text{Taxa de sobrevivência (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ inicial de peixes} - \text{n}^\circ \text{ final de peixes}}{\text{n}^\circ \text{ inicial de peixes}} \times 100$$

$$\text{Ganho em peso médio (g)} = \text{peso médio final} - \text{peso médio inicial}$$

$$\text{Taxa de crescimento específico (\%/dia)} = \frac{(\text{Ln peso final} - \text{Ln peso inicial}) \times 100}{\text{tempo (dias)}}$$

$$\text{Conversão alimentar aparente} = \frac{\text{consumo de dieta}}{\text{ganho em peso}}$$

$$\text{Taxa de eficiência proteica} = \frac{\text{ganho em peso vivo}}{\text{proteína bruta consumida}}$$

$$\text{Eficiência de retenção de proteína bruta (\%)} = \frac{[(\text{PBf} \times \text{Pf}) - (\text{PBi} \times \text{Pi})] \times 100}{\text{CPB}}$$

$$\text{Eficiência de retenção de energia bruta (\%)} = \frac{[(\text{EBf} \times \text{Pf}) - (\text{EBi} \times \text{Pi})] \times 100}{\text{CEB}}$$

Onde:

PBf, PBi = proteína bruta final e inicial no corpo do animal

EBf, EBi = energia bruta final e inicial no corpo do animal

Pf, Pi = peso médio inicial e final

CPB, CEB = consumo de proteína bruta e energia bruta

2.4. Amostragem e análises isotópicas

Para projetar a curva exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis de carbono-13 e nitrogênio-15, cinco peixes por tratamento (um de cada réplica) foram coletados ao acaso, nos dias 0, 1, 3, 5, 8, 11, 16, 19, 26, 32, 38, 46, 55, 65, 76, 88, 101 e 120 após o início do experimento. O dia zero teve por objetivo expressar a composição isotópica do alimento consumido antes da troca; neste caso a dieta pré-experimental, com sinal isotópico C₄.

Para obtenção do fragmento dorsal do músculo branco, os juvenis foram insensibilizados por imersão em gelo e sacrificados. As amostras de tecido muscular sem pele foram devidamente acondicionadas, identificadas e imediatamente congeladas a -18 °C, até a preparação para as análises isotópicas. As amostras foram liofilizadas e posteriormente finamente moídas em moinho criogênico a -195 °C. Amostras de aproximadamente 50-70µg e 500-600 µg para as análises de C e N, respectivamente, foram acondicionadas em cápsulas de estanho (6 X 4 mm). As amostras foram analisadas em espectrômetro de massa de razão isotópica, no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociência da UNESP/Botucatu, com erro de análise na ordem de 0,2‰.

As razões ¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N das dietas e amostras de tecido muscular foram determinadas e comparadas com a razão ¹³C/¹²C do padrão internacional PDB (PeeDee Bellemnitella da Carolina do Sul, USA) e a razão ¹⁵N/¹⁴N do padrão internacional do Nitrogênio Atmosférico, respectivamente. As comparações relativas entre as amostras e os padrões foram expressas como enriquecimento relativo em delta *per mil*, pela equação: $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3$, onde *R* é a razão isotópica ¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N, para as amostras e padrões, respectivamente; $\delta_{\text{‰}}^{13}\text{C}$ ou $\delta_{\text{‰}}^{15}\text{N}$ são os enriquecimentos das amostras em relação aos padrões internacionais PDB e N atmosférico, respectivamente.

2.5. Turnover do $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ muscular

Para estimar as taxas de *turnover* de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ no tecido muscular dos juvenis de tambaqui foi utilizado o modelo exponencial descrito por (DUCATTI et al., 2002) por meio da seguinte equação:

$$\delta_t = \delta_f + (\delta_i - \delta_f) e^{-kt}$$

Onde δt é o enriquecimento isotópico do carbono-13 ou nitrogênio-15 no músculo dos peixes em um dado tempo t , expressos em ‰ ^{13}C ou ^{15}N ; δi é a concentração isotópica do carbono-13 ou nitrogênio-15 no músculo dos peixes no dia zero (antes das trocas de dietas); δf é assíntota da expressão, que representa os valores de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ para os peixes em equilíbrio com a mesma dieta; k é a taxa *de turnover* do carbono-13 ou nitrogênio-15 no tecido muscular e t é o tempo em dias.

Baseado no valor de k , as meias-vidas (T_{50}) de ambos, carbono-13 e nitrogênio-15 no tecido muscular dos peixes, expressando a condição de 50% de cada fonte isotópica (dietas) no tecido, foram calculadas de acordo com a equação (DUCATTI et al., 2002):

$$T_{50} = \ln 2 / (k)$$

Também foi aplicado o modelo de Wolfe e Chinkes (2005), que determina a fração de átomos trocados (f) no tempo t , onde $t = (-1/k) \ln(1-f)$, para estimar a quantidade de átomos trocados no final do período pré-experimental.

Com a posse dos valores de δf , para carbono-13 e nitrogênio-15, estimados pelos modelos em cada tratamento, foi calculado a discriminação isotópica (Δ), que mostra o fracionamento isotópico entre a dieta e o tecido ao atingir o equilíbrio isotópico:

$$\Delta \delta^{13}\text{C} \text{ ou } \delta^{15}\text{N} = \delta_f \text{ tecido muscular} - \delta \text{ dieta}$$

2.6. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos dietéticos e cinco repetições. A normalidade e a homogeneidade da variância dos dados foram testadas antes da aplicação da Análise de Variância (ANOVA). Quando encontradas diferenças estatísticas entre as variáveis analisadas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, através do software SAS versão 9.0.

Os dados de enriquecimento isotópico do carbono-13 ou nitrogênio-15, no músculo dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos foram ajustados para o modelo exponencial, usando o programa Origin 6.0 Professional (Microcal

Software Original 6.0 Professional, 1999), para determinar as taxas de *turnover* e meias-vidas.

3. Resultados e discussão

3.1. Padronização Isotópica

Antes de iniciar o período de padronização isotópica, os peixes apresentavam uma composição isotópica de $-19,26\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ e $8,48\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$. Após 60 dias recebendo a dieta com assinatura isotópica C_4 ($-17,30\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ e $7,59\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$), os peixes atingiram o valor médio final de $-16,92\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$, com uma meia-vida de 9,87 dias (Figura 1A), e $9,63\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$, com uma meia-vida de 19,63 dias (Figura 1B). Ao contrário do sinal isotópico do $\delta^{13}\text{C}$ do tecido muscular que aproximou-se do sinal isotópico da dieta, o $\delta^{15}\text{N}$ manteve-se mais distante, o que pode ser, segundo Ducatti (2007b), explicado pelo fato de que o tecido animal tende a ser mais rico que a dieta, em relação ao isótopo mais pesado, mantendo o fator de discriminação isotópica do nitrogênio ($\Delta^{15}\text{N}$), de aproximadamente $2,04\text{‰}$. Este maior fracionamento isotópico deve-se principalmente aos processos de desaminação e descarboxilação de aminoácidos (ABIMORAD et al., 2014).

Embora os valores isotópicos ao término do período de padronização isotópica não tenham atingido os valores finais para o patamar de equilíbrio, o período de 60 dias foi suficiente para garantir as alterações nos sinais isotópicos, necessários para que houvesse diferenças entre os sinais do tecido muscular dos animais e das dietas experimentais (C_3), e também para que os animais não crescessem rapidamente, o que poderia comprometer a fase seguinte de determinação do *turnover* muscular.

De acordo com o modelo de Wolfe e Chinkes (2005), para que 99% dos átomos de carbono e nitrogênio fossem trocados e assim a assíntota da curva exponencial atingida teriam sido necessários 65,57 dias para os átomos de carbono e 130,41 dias para os átomos de nitrogênio. Abimorad et al. (2014), em estudo com juvenis de pacu, verificaram esta mesma porcentagem de troca dos átomos: 86,3 e 88 dias, respectivamente. Já Buzollo (2014) encontrou para juvenis de tambaqui, períodos maiores, para a mesma porcentagem de troca de 99%, 90,47 e 129,72 dias, para carbono e nitrogênio, respectivamente. Embora o período de padronização não tenha sido suficiente para atingir 99% de troca

dos átomos de carbono e nitrogênio, o período de 60 dias está próximo ao utilizado por Abimorad et al. (2014) que foi de 55 dias para juvenis de pacu e ao recomendado por Zuanon et al. (2006), que estudaram a troca isotópica entre dietas C₃ e C₄ com tilápia-do-nylo e definiram que 52,5 e 66,5 dias para as trocas das dietas de C₃ para C₄ e para C₄ para C₃, respectivamente foram suficientes para atingir o ponto de equilíbrio. Este período pode variar de acordo com o tamanho inicial dos peixes e outros fatores ambientais. Como o objetivo deste período foi apenas para padronização do sinal isotópico a serem utilizados na avaliação do *turnover*, considerou-se satisfatório os 60 dias empregados, da mesma forma como observado por Buzollo (2014), com juvenis de tambaqui.

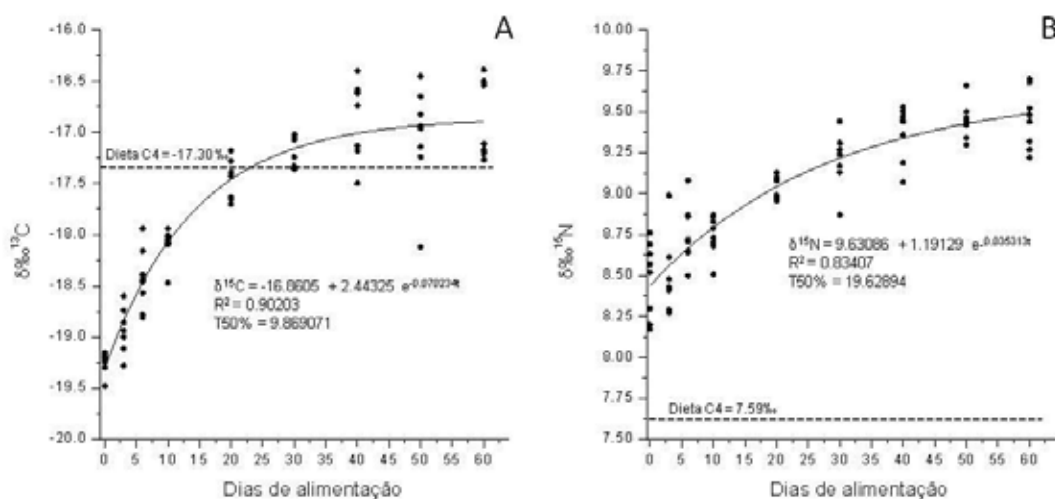


Figura 1 – Troca isotópica do carbono – 13 (**A**) e do nitrogênio – 15 (**B**) no tecido muscular de juvenis de tambaqui, durante 60 dias de alimentação com dieta de sinal isotópico predominante de plantas C₄ (período pré-experimental de padronização isotópica).

3.2. Desempenho produtivo

Durante os 120 dias experimentais não foram observados sinais clínicos e nem mortalidade. Os juvenis permaneceram bem adaptados às condições ambientais e as dietas oferecidas.

As médias dos resultados de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes estão apresentadas na Tabela 6. Houve efeito dos tratamentos para os parâmetros avaliados, o que indica que a adição de aminoácidos influenciou diretamente nas respostas animais ($P < 0,05$).

Quando os animais receberam a dieta que atende completamente as exigências em lisina e metionina (LM), estes apresentaram médias dos parâmetros de desempenho produtivo como PF, GP, TCE, C, CAA, TEP e de ER_{PB} e ER_{EB}, melhores em relação aos demais.

Os estudos da necessidade de suplementação com lisina e/ou metionina em dietas práticas com diferentes níveis de proteína são contraditórios para algumas espécies de peixes, pois o benefício (SHIAU et al., 1988; KUBITZA, 1990; BURTLE; CAI, 1995; ZARATE; LOVELL, 1997 e ABIMORAD et al., 2014) ou não (SHIAU et al., 1989; LI; ROBINSON, 1998 e WEBSTER et al., 2000) desta suplementação depende principalmente de vários fatores, entre os quais estão os hábitos alimentares das espécies e as condições experimentais.

Conforme foi relatado no Capítulo 3, esses resultados de eficiência de retenção de proteína confirmaram que a lisina foi o aminoácido mais limitante para o tambaqui, visto que a sua suplementação em dietas proporcionou uma melhor eficiência de retenção da proteína, quando comparada com a de metionina. O melhor balanceamento de aminoácidos conseguido com a suplementação de lisina pode ser sustentado pela afirmação de D'Mello (1994), segundo o qual o desbalanceamento desses nutrientes reduz a eficiência de utilização da proteína.

Tabela 6. Valores médios dos parâmetros de desempenho produtivo de juvenis de tambaqui alimentados com dietas suplementadas com lisina e/ou metionina

	Dietas				CV (%)	ANOVA Valores de P	Valores de F
	D	L	M	LM			
Peso médio inicial (PI) (g)	8,17±0,05 ^{NS}	8,18±0,07	8,12±0,06	8,20±0,04	1,064342	0,4931	0,84
Peso médio final (PF) (g)	199,54±0,84 ^b	234,57±1,03 ^{ab}	229,97±1,00 ^{ab}	268,11±1,09 ^a	10,77601	0,0052	6,25
Ganho em peso (GP) (g)	191,37±0,84 ^b	226,39±1,03 ^{ab}	221,85±1,00 ^{ab}	259,91±1,10 ^a	11,16138	0,0052	6,25
Taxa de crescimento específico (TCE) (%/dia)	2,66±0,05 ^b	2,79±0,06 ^{ab}	2,78±0,06 ^{ab}	2,90±0,06 ^a	3,129379	0,0045	6,45
Consumo de ração em 120 dias (C) (g)	194,56±0,87 ^b	221,58±0,97 ^{ab}	218,51±0,88 ^{ab}	245,79±0,99 ^a	9,870427	0,0160	4,65
Conversão alimentar aparente (CAA)	1,02±0,03 ^b	0,98±0,03 ^{ab}	0,99±0,03 ^{ab}	0,95±0,03 ^a	2,701102	0,0083	5,55
Taxa de eficiência proteica (TEP) (%)	3,61±0,07 ^b	3,68±0,06 ^b	3,74±0,06 ^b	3,96±0,06 ^a	2,577168	0,0002	12,40
Eficiência de retenção de proteína bruta (ER _{PB}) (%)	53,00±0,20 ^c	56,23±0,28 ^b	54,94±0,27 ^{bc}	60,31±0,19 ^a	1,914790	<0,0001	40,94
Eficiência de retenção de energia bruta (ER _{EB}) (%)	47,04±0,19 ^b	48,84±0,26 ^{ab}	47,75±0,26 ^b	51,08±0,25 ^a	3,144525	0,0040	6,66

Médias (n=5) ± erro padrão da média; CV=coeficiente de variação; Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem estatisticamente (Tukey $P > 0,05$)

^{NS} Não significativo ($P > 0,05$)

D = dieta basal, sem suplementação, L = D suplementada com lisina, M = D suplementada com metionina e LM = D suplementada com lisina e metionina.

3.3. Turnover isotópico

Ao início do período experimental, o sinal isotópico dos animais foi de -17,05 ‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e 9,27 ‰ para $\delta^{15}\text{N}$. Após receberem as dietas experimentais de assinaturas isotópicas oriundas de plantas do ciclo C_3 , por um período de 120 dias, os animais alteraram as suas assinaturas, as quais aproximaram-se das dietas (Figuras 2 e 3).

As taxas de *turnover* (K) e os valores de meia vida (T_{50}) para ^{13}C não apresentaram diferenças significativas para as dietas suplementadas, independente da fonte de aminoácidos ($P > 0,05$) (Tabela 7). Para $\delta^{15}\text{N}$, o K foi maior para dieta LM em relação às demais e os valores de T_{50} menores para dieta LM, o qual também não diferiu da dieta L ($P < 0,05$) (Tabela 8). Os menores valores de meia-vida indicam uma elevada metabolização e incorporação dos isótopos no tecido (DUCATTI et al., 2002). Estes resultados estão coerentes com os resultados de desempenho, em que os animais que receberam as dietas suplementadas com LM, apresentaram uma maior eficiência de retenção de proteína (Tabela 6).

As taxas de troca para carbono foram de 99,77% para os peixes alimentados com as dietas D e L, e 99,85% para dieta M e 99,86% para LM. Para o nitrogênio, observou-se 99,78% para as dietas D e M, 99,88% para dieta L e 99,98% para LM. Com as elevadas taxas de troca do carbono e nitrogênio em todos os tratamentos, pode-se considerar que o período de 120 dias foi suficiente para o equilíbrio isotópico.

Os fatores de discriminação isotópica do ^{13}C ($\Delta^{13}\text{C}_{\text{tecido-dieta}}$) dos peixes alimentados com as dietas experimentais foram de -1,34, -1,36, -1,43, e -1,45‰ para D, L, M e LM, respectivamente. Para discriminação isotópica do ^{15}N ($\Delta^{15}\text{N}_{\text{tecido-dieta}}$), os valores encontrados foram de 2,29 ‰, 2,18, 2,35 e 2,23 ‰ para D, L, M e LM, respectivamente. Os maiores valores de fracionamento isotópico para nitrogênio em relação ao carbono devem-se principalmente aos processos de desaminação e descarboxilação de aminoácidos (ABIMORAD et al., 2014). Maiores fatores de discriminação para ^{15}N em comparação ao ^{13}C também foram relatados por Abimorad et al. (2014), em estudo com juvenis de pacu. Outra forma de avaliar qualidade proteica de dietas é por meio do fator de discriminação isotópica ($\Delta^{15}\text{N}$). Assim, maiores fracionamentos isotópicos, ou

enriquecimento de ^{15}N , têm sido relatados em animais alimentados com dietas de baixa qualidade (ROTH; HOBSON, 2000; WADDINGTON; MACARTHUR, 2008; GAMBOA-DELGADO; LE VAY, 2009 e ABIMORAD et al. 2014). No presente estudo, não foram observadas diferenças para $\Delta^{15}\text{N}$, entre os tratamentos alimentares.

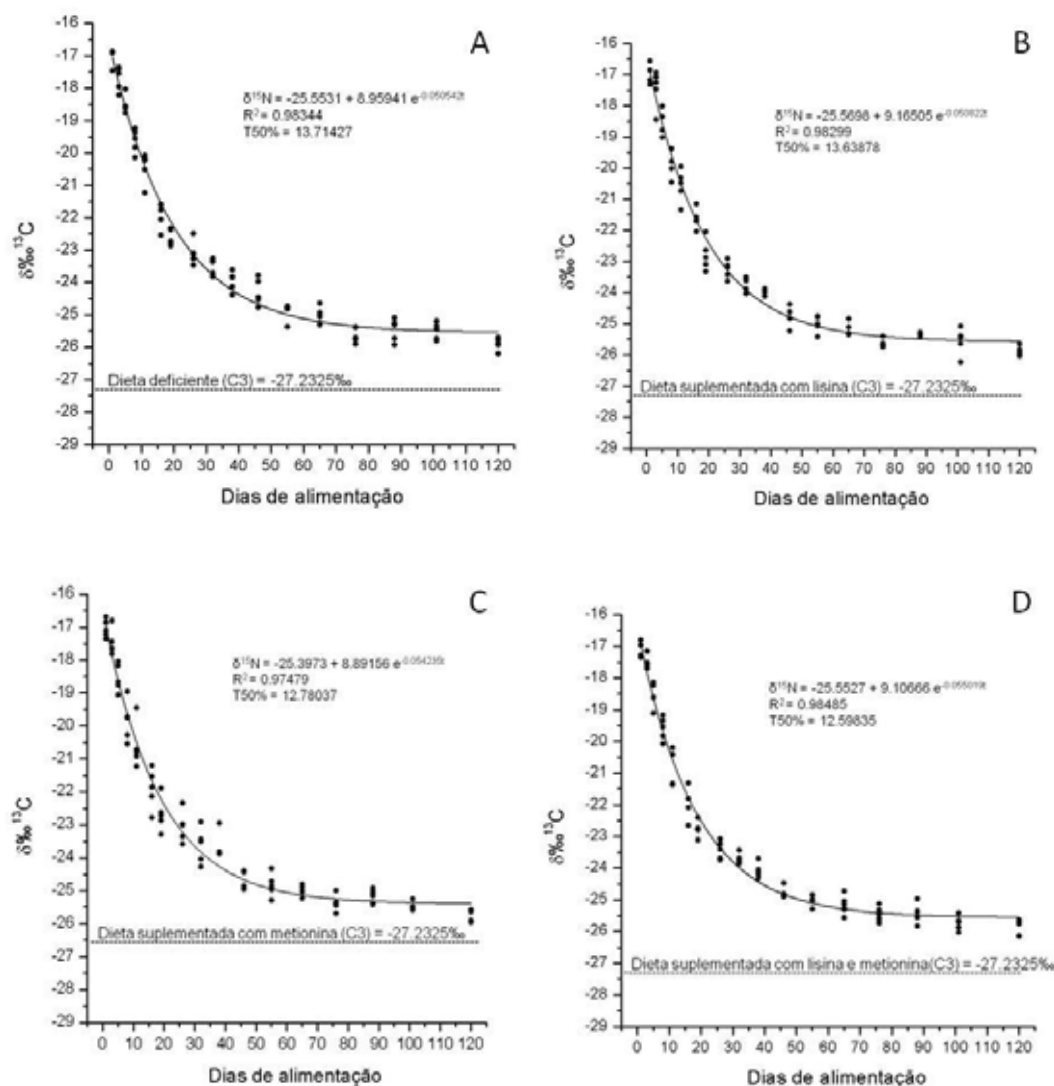


Figura 2 – Troca isotópica do carbono – 13 no tecido muscular de juvenis de tambaqui, durante 120 dias de alimentação com dietas de sinal isotópico predominante de plantas C_3 , deficiente em lisina e metionina (A), suplementadas com lisina (B), metionina (C) e lisina + metionina (D).

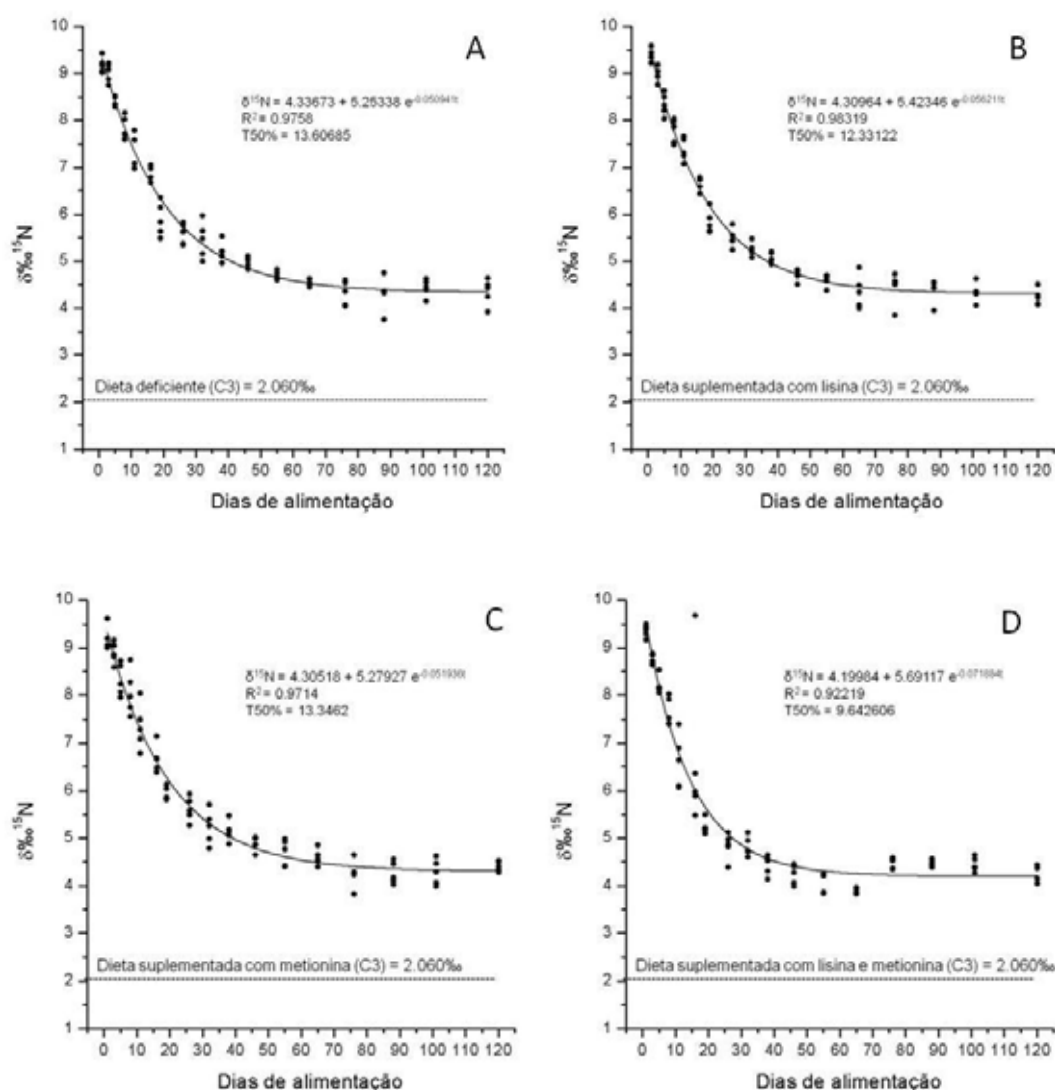


Figura 3 – Troca isotópica do nitrogênio – 15 no tecido muscular de juvenis de tambaqui, durante 120 dias de alimentação com dietas de sinal isotópico predominante de plantas C₃, deficiente em lisina e metionina (A), suplementadas com lisina (B), metionina (C) e lisina + metionina (D).

Tabela 7. Valores médios das taxas de *turnover* (k) e meias-vidas (T₅₀) para o carbono-13 no tecido muscular de juvenis de tambaqui alimentados durante 120 dias com dietas suplementadas com lisina e/ou metionina

	Dietas				CV (%)	ANOVA Valores de P	Valores de F
	D	L	M	LM			
K (d ⁻¹)	0,050542 ^{NS}	0,050822	0,054235	0,055019	11,45151	0,5876	0,66
T ₅₀ (d)	13,71427 ^{NS}	13,63878	12,78037	12,59835	10,96356	0,5969	0,55

Médias (n=5); CV=coeficiente de variação; ^{NS} Não significativo ($P > 0,05$)

D = dieta basal, sem suplementação, L = D suplementada com lisina, M = D suplementada com metionina e LM = D suplementada com lisina e metionina.

Tabela 8. Valores médios das taxas de *turnover* (k) e meias-vidas (T₅₀) para o nitrogênio-15 no tecido muscular de juvenis de tambaqui alimentados durante 120 dias dietas suplementadas com lisina e/ou metionina

	Dietas				CV (%)	ANOVA Valores de P	Valores de F
	D	L	M	LM			
K (d ⁻¹)	0,050941 ^B	0,05621 ^B	0,05193 ^B	0,071884 ^A	12,05555	0,0002	13,56
T ₅₀ (d)	13,60685 ^B	12,3312 ^{AB}	13,3462 ^B	9,642606 ^A	13,82816	0,0078	5,64

Médias (n=5); CV=coeficiente de variação; Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem estatisticamente (Tukey $P > 0,05$)

D = dieta basal, sem suplementação, L = D suplementada com lisina, M = D suplementada com metionina e LM = D suplementada com lisina e metionina.

4. Conclusão

O *turnover* isotópico para $\delta^{15}\text{N}$ de juvenis de tambaqui alimentados com dieta suplementada com DL-metionina mais L-lisina, em níveis que atendem as exigências nutricionais, foi mais acelerado do que animais alimentados com dietas deficientes de metionina e/ou lisina, confirmando os resultados de desempenho.

Os isótopos estáveis apresentaram-se como uma importante ferramenta para auxiliar na compreensão dos dados em experimentos de nutrição.

Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo 2012/09126-4) e bolsa (2011/12964-9) concedidos.

5. Referências

ABIMORAD, E. G.; DUCATTI, C.; CASTELLANI, D.; JOMORI, R. K.; PORTELLA, M. C.; CARNEIRO, D. J. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein turnover and amino acid utilization in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. **Aquaculture**, v. 433, p. 119-124, 2014.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Assoc. Anal. Chem., Arlington, VA, 2000.

BURTLE, G. J.; CAI, Y. J. Additional methionine supplementation required in soybean meal/corn-based diets for channel catfish. **Animal & Dairy Science. Annual Report**, p. 2-10,1995.

BUZOLLO, H. **Exigência de proteína digestível em juvenis de tambaqui e a dinâmica do crescimento muscular por aspectos morfológicos e turnover isotópico do carbono-13 e do nitrogênio-15**. 2014. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

DE LA HIGUERA, M.; AKHARBACH, H.; HIDALGO, M. C.; PERAGÓN, J.; LUPIÁÑEZ, J. A.; GARCÍA-GALLEG, M. Liver and white muscle protein *turnover* rates in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects of dietary protein quality. **Aquaculture**, v.179, n.1, p. 203-216, 1999.

D'MELLO, J. P. F. Amino acid imbalances, antagonism and toxicities. *In*: D'MELLO, J.P.F. **Amino acids in farm animal nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994. cap. 4, p. 63-97.

DUCATTI, C. Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.01-10, 2007a.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu, 2007b. 204 p. [Apostila da disciplina “Aplicação de Isótopos Estáveis Ambientais” do Curso de Pós Graduação em Zootecnia da FMVZ/ UNESP.]

DUCATTI, C.; CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; MANCERA, P. F. A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agricola**, v. 59, p. 29–33, 2002

GAMBOA-DELGADO, J.; LE VAY, L. Natural stable isotopes as indicators of the relative contribution of soy protein and fish meal to tissue growth in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed compound diets. **Aquaculture**, v. 291, n.1, p. 115–123, 2009.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwater**. London: IBP, Blackwell Science Publishing, 1978, p.213.

JOMORI, R. K.; DUCATTI, C.; CARNEIRO, D. J.; PORTELLA, M. C. Stable carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes as natural indicators of live and dry food in *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) larval tissue. **Aquaculture Research**, v. 39, n.4, p. 370-381, 2008.

JOMORI, R.K.; DUCATTI, C.; ABIMORAD, E.D.; ASSANO, M. Relative contribution of formulated diet by carbon isotopic *turnover* in muscle of the fish juveniles. In. World Aquaculture 2011. **Abstracts**. p.574, 2011.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: Granshoffk (ed.). **Methods of Seawater Analysis**. Verlag. Chemic. Weinheim., p. 117 – 187, 1976.

KUBITZA, F. **Substituição total da farinha de peixe pelo farelo de soja em rações para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), suplementadas com metionina**. 1990. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

LANGAR, H.; GUILLAUME, J. Effect of feeding pattern and dietary protein source on protein synthesis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 108A, p. 461-466, 1994.

LI, M. H.; ROBINSON, E. H. Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 163. n.3, p. 297-307, 1998.

MACKERETH, F. J. H., et al. **Water Analyses**. London: Freshwater Biological Association, 120p., 1978.

MANETTA, G. I.; BENEDITO-CECILIO, E. Aplicação da técnica de isótopos estáveis na estimativa da taxa de *turnover* em estudos ecológicos: uma síntese. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 121-129, 2003.

PERAGON, J.; BARROSO, J. B.; GARCIA-SALGUERO, L.; HIGUERA, M.; LUPIÁÑEZ, J.A. Growth, protein-*turnover* and nucleic-acid concentrations in the white muscle of rainbow trout during development. **The International of Biochemistry & Cell Biology**, v. 33, p.1227-1238, 2001.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. A. T.; DONZELLE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.

ROTH, J.D., HOBSON, K.A., Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissue of captive red fox: implications for dietary reconstruction. **Canadian Journal of Zoology**, v. 78, p. 848 – 852, 2000.

SHIAU, S. Y.; KWOK, C. C.; HWANG, J. Y.; CHEN, C. M.; LEE, S. L. Replacement of fishmeal with soybean meal in male tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*) fingerling diets at a suboptimal protein level. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 20, p. 230-235, 1989.

SHIAU, S. Y.; PAN, B. S.; CHEN, S.; YU, H. L.; LIN, S. L. Successful use of soybean meal with a methionine supplement to replace fish meal in diets fed to milkfish *Chanos chanos* Forskal. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 19, p. 14-19, 1988.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Uso Racional da Água em Aquicultura**. 1. ed. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel - ME, 2013. v. 1. 190p .

WADDINGTON, K., MACARTHUR, L. Diet quality and muscle tissue location influence consumer-diet discrimination in captive-reared rock lobster (*Panulirus cygnus*). **Marine Biology**, v. 154, p. 569–576, 2008.

WEBSTER, C. D.; TIU, L. G.; MORGAN, A. M.; GANNAM, A. L. Differences in growth in blue catfish *Ictalurus furcatus* and channel catfish *I. punctatus* fed low-protein diets with and without supplemental methionine and/or lysine. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 31, p. 195-205, 2000

WOLFE, R.R.; CHINKES, D.L. **Isotope Tracers Metabolic Research: Principles and Practice of Kinetic Analysis**, 2th ed. Wiley-Liss, MD, USA. 2005.

ZANIBONI FILHO, E.; MEURER, S. Limitações e potencialidades do cultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum*Cuvier, 1818) na região subtropical do Brasil. **Boletim Instituto Pesca**, v.24(especial), p.169-172, 1997.

ZARATE, D. D.; LOVELL, R. T. Free lysine (Llysine.HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 159, n.1, p. 87-100, 1997.

ZUANON, J. A. S.; PEZZATO, A. C.; PEZZATO, L. E.; PASSOS, J. R. S; BARROS, M. M.; DUCATTI, C. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects of growth and carbon turnover. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n.145, p.101–107, 2006.