

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 04/02/2018.

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

**EXIGÊNCIA EM PROTEÍNA BRUTA PARA LARVAS E
JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E O
USO DE MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS COMO
SUBSTITUTO PARCIAL DA PROTEÍNA**

Juliana Tomomi Kojima

Zootecnista

2016

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

**EXIGÊNCIA EM PROTEÍNA BRUTA PARA LARVAS E
JUVENIS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*) E O
USO DE MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS COMO
SUBSTITUTO PARCIAL DA PROTEÍNA**

Juliana Tomomi Kojima

Orientadora: Profa. Dra. Maria Célia Portella

Co-orientador: Dr. Rodrigo Takata

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

2016

K79e Kojima, Juliana Tomomi
Exigência em proteína bruta para larvas e juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o uso de mistura de aminoácidos cristalinos como substituto parcial da proteína / Juliana Tomomi Kojima. -- Jaboticabal, 2016
viii, 101 p. : il ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientador: Maria Célia Portella

Banca examinadora: Rosangela Kiyoko Jomori Bonichelli, Natalia de Jesus Leitão, Débora Machado Fracalossi, Wilson Massamitu Furuya

Bibliografia

1. Aminoácidos indispensáveis. 2. Aminoácidos dispensáveis. 3. Crescimento inicial. 4. Crescimento muscular. 5. Dieta semipurificada. 6. Níveis de proteína bruta. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 639.3.0341

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EXIGÊNCIA EM PROTEÍNA BRUTA PARA LARVAS E JUVENIS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*) E O USO DE MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS COMO SUBSTITUTO PARCIAL DA PROTEÍNA.

AUTORA: JULIANA TOMOMI KOJIMA
ORIENTADORA: MARIA CÉLIA PORTELLA
COORIENTADOR: RODRIGO TAKATA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARIA CÉLIA PORTELLA
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. ROSÂNGELA KIYOKO JOMORI BONICHELLI
Laboratório de Aquicultura / FAFRAM - Ituverava/SP



Profa. Dra. NATÁLIA DE JESUS LEITÃO
Centro de Aquicultura - CAUNESP / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. DEBORA MACHADO FRACALOSSO
Departamento de Aquicultura / UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina
Participação por Videoconferência



Prof. Dr. WILSON MASSAMITU FURUYA
Departamento de Zootecnia / UFPA - Ponta Grossa/PR
Participação por Videoconferência

Jaboticabal, 04 de fevereiro de 2016

DADOS CURRICULARES

JULIANA TOMOMI KOJIMA – nasceu na cidade de Kooriyama-shi, Japão, no dia 18 de maio de 1985. Em agosto de 2004 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista, Unesp, Câmpus de Dracena, concluindo o curso em julho de 2009. Durante a graduação, participou de diversos congressos, realizou estágios na área de produção animal e iniciação científica sob orientação dos Professores Dr. Fábio Erminio Mingatto e Dr. Leonardo Susumu Takahashi. Em março de 2010, iniciou o curso de mestrado em Aquicultura pelo CAUNESP, Centro de Aquicultura da Unesp, sob orientação da Profa. Dra. Maria Célia Portella. Após conclusão do mestrado em 2012, ingressou no curso de doutorado em Zootecnia, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal sob mesma orientação. Em fevereiro de 2015, submeteu o presente estudo para avaliação pela banca examinadora.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Célia Portella, pelos ensinamentos, orientação, apoio, carinho, confiança e muita paciência por todos os seis anos desde o mestrado. Muito obrigada.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Takata, pela co-orientação, ensinamentos, apoio, por toda colaboração e confiança depositada.

Aos membros participantes do exame geral de qualificação, Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes, Profa. Dra. Marta Verardino de Stéfani, Profa. Dra. Mônica Serra e Dra. Natalia de Jesus Leitão, pela atenção e sugestões.

Aos membros participantes da defesa, Profa. Dra. Débora Machado Fracalossi, Dra. Natalia de Jesus Leitão, Profa. Dra. Rosângela Kiyoko Jomori Bonichelli e Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya por toda atenção, análise crítica e sugestões dadas ao trabalho.

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro, por todos os ensinamentos e apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessões da Bolsa de Estudos e Auxílio à Pesquisa (Processo 406311/2012-9).

Ao Sr. Adilson e Sra. Elziane da Piscicultura São Geraldo, por fornecer as larvas de tambaqui para realização da presente pesquisa. Sem esta ajuda o projeto não poderia ser realizado.

À empresa Cargill, pela doação de ingrediente utilizado neste projeto.

Aos funcionários e pesquisadores do Caunesp, que contribuíram para a realização deste trabalho.

Em especial, a família do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos: Thyssia Bomfim, Ivã Guidini, Amanda Halum, Natália Leitão, Thiago

Freitas, Caroline Nebo, Hellen Buzollo, Thiago Nascimento, Lidiane de Sandre, Lígia Neira, Rudney Weiber, Juliano Coutinho, Frederico Werneck, Andressa Inocente e Thalys Cruz pelo auxílio na implantação do experimento, biometrias, rotina de manejo, aprendizado e momentos de descontração, principalmente nos momentos das refeições. Este trabalho foi realizado com a ajuda de todos vocês. Muito Obrigada.

À família Kojima, por todo o apoio e compreensão desde a graduação. Foram dez anos de distância. “Dôomo-Arigatou”.

Ao meu companheiro Rodrigo Yukihiro Gimbo pelo apoio, cumplicidade e muita paciência nos momentos mais difíceis desde a graduação. Obrigada por me incentivar desde sempre.

SUMÁRIO

EXIGÊNCIA EM PROTEÍNA BRUTA PARA LARVAS E JUVENIS DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) E O USO DE MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS COMO SUBSTITUTO PARCIAL DA PROTEÍNA.....	1
Resumo.....	1
PROTEIN REQUIREMENT OF TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) LARVAE AND JUVENILE AND PARCIAL REPLACEMENT OF PROTEIN BY CRYSTALLINE AMINO ACIDS MISTURE	2
Abstract.....	2
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	3
Introdução	3
Revisão de literatura	5
Objetivos gerais.....	13
Objetivos específicos	13
Referências bibliográficas	14
CAPÍTULO 2 – EXIGÊNCIA PROTEICA DE LARVAS E JUVENIS DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>).....	28
Resumo.....	28
CHAPTER 2 - PROTEIN REQUIREMENT OF TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) LARVAE AND JUVENILES	29
Abstract.....	29
Introdução	30
Material e métodos.....	32
Resultados	40
Discussão.....	53

Conclusão	58
Referências bibliográficas	59
CAPÍTULO 3 – SUBSTITUIÇÃO DA PROTEÍNA POR MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS PARA JUVENIS DE TAMBAQUI <i>Colossoma macropomum</i>	66
Resumo.....	66
CHAPTER 3 – SUBSTITUTION OF PROTEIN BY CRYSTALLINE AMINOACIDS TO TAMBAQUI JUVENILES <i>Colossoma macropomum</i>	67
Abstract.....	67
Introdução	68
Material e métodos.....	70
Resultados	78
Discussão.....	89
Conclusão	94
Referências bibliográficas	95
Considerações finais.....	101

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

CAPÍTULO 2 – EXIGÊNCIA PROTEICA DE LARVAS E JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)..... 28

Tabela 1. Formulação e composição das dietas experimentais para estudo da exigência proteica de larvas juvenis de tambaqui. 34

Tabela 2. Médias (\pm desvio padrão) de comprimento total (CT), peso (P), ganho em peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), fator de condição (K), sobrevivência (S), taxa de eficiência proteica (TEP) e valor produtivo da proteína (VPP) de larvas de tambaqui (fase 1), após 30 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com quantidades crescentes de proteína. 42

Tabela 3. Médias (\pm desvio padrão) de comprimento total (CT), peso (P), ganho em peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), fator de condição (K), sobrevivência (S), taxa de eficiência proteica (TEP) e valor produtivo da proteína (VPP) de juvenis pós-metamorfose (fase 2), após 60 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com quantidades crescentes de proteína. 43

Tabela 4. Porcentagens de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia bruta (EB) na composição corporal de larvas de tambaqui (fase 1), ao início do período experimental e após 30 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com quantidades crescentes de inclusão de proteína.. 46

Tabela 5. Porcentagens de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia bruta (EB) na composição corporal de juvenis de tambaqui (fase 2), ao início do período experimental e após 60 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com quantidades crescentes de inclusão de proteína.. 47

Tabela 6. Diâmetro médio das cinco fibras menores e maiores da musculatura esquelética de larvas de tambaqui após 30 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com níveis crescentes de proteína bruta..... 51

Tabela 7. Porcentagens de umidade (UM), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia bruta (EB) na composição corporal de larvas de tambaqui (fase 1), após 30 dias de alimentação e de juvenis pós-metamorfose (fase 2) após 60 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com quantidades crescentes de inclusão de proteína..... 52

Figura 1. Modelo de regressão polinomial de segundo grau para ganho em peso (GP) de larvas de tambaqui com peso médio inicial de ca. 70 mg (fase 1), alimentados com dietas experimentais semi-purificadas com níveis crescentes de inclusão de proteína, por 30 dias. 44

Figura 2. Modelo *broken-line* para ganho em peso (GP) de juvenis pós-metamorfose de tambaqui com peso médio inicial de ca. 250 mg (fase 2), alimentados com dietas experimentais semi-purificadas com níveis crescentes de inclusão de proteína, por 60 dias. 44

Figura 3. Distribuição da frequência de fibras musculares em diferentes classes de diâmetro (classe 10: $d \leq 10 \mu\text{m}$; classe 20: $10 < d \leq 20 \mu\text{m}$; classe 30: $20 < d \leq 30 \mu\text{m}$; classe 40: $30 < d \leq 40 \mu\text{m}$; classe 50: $d > 40 \mu\text{m}$) em larvas (ca. 70 mg, A) e juvenis (ca. 250 mg, B) de tambaqui ao início do período experimental. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 48

Figura 4. Fotomicrografias da musculatura esquelética de larvas (ca. 70 mg, A) e juvenis (ca. 250 mg, B) de tambaqui ao início dos experimentos, cortes transversais. Zona de proliferação celular (ZPC); Região do nervo da linha lateral (NL); região intermediária (I); fibras musculares com núcleo periférico (\uparrow); fibras musculares rodeadas por fibras menores (*). Hematoxilina e Floxina B 49

Figura 5. Fotomicrografias da musculatura esquelética de larvas de tambaqui (ca. 70 mg), alimentadas por 30 dias com dietas com níveis crescentes de proteína (19,9 a 68,5 % de PB). Observar presença de fibras musculares com núcleo periférico (\uparrow), padrão de crescimento muscular por hiperplasia em mosaico nos peixes de todos os tratamentos pela presença de fibras de maior diâmetro rodeadas por fibras de menor diâmetro (*), e aumento da hipertrofia das fibras musculares com os níveis crescentes de proteína nas dietas. Hematoxilina e Floxina B.....50

Figura 6. Distribuição da frequência de fibras musculares em diferentes classes de diâmetro (classe 10: $d \leq 10 \mu\text{m}$; classe 20: $10 < d \leq 20 \mu\text{m}$; classe 30: $20 < d \leq 30 \mu\text{m}$; classe 40: $30 < d \leq 40 \mu\text{m}$; classe 50: $d > 40 \mu\text{m}$) em larvas de tambaqui (ca. 70 mg), após 30 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com níveis crescentes de proteína bruta (36,4 a 68,5 % de PB). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)...50

Figura 7. Fotomicrografias da musculatura esquelética de juvenis de tambaqui (ca. 250 mg) alimentados por 60 dias com dietas com níveis crescentes de proteína (19,9 a 68,5 % de PB). Observar fibras musculares com núcleo periférico (\uparrow); padrão de crescimento muscular por hiperplasia em mosaico nos juvenis de todos os tratamentos pela presença de fibras com maior diâmetro rodeadas por fibras de menor diâmetro (*). Hematoxilina e Floxina B.....51

Figura 8. Distribuição da frequência de fibras musculares em diferentes classes de diâmetro (classe 10: $d \leq 10 \mu\text{m}$; classe 20: $10 < d \leq 20 \mu\text{m}$; classe 30: $20 < d \leq 30 \mu\text{m}$; classe 40: $30 < d \leq 40 \mu\text{m}$; classe 50: $d > 40 \mu\text{m}$) em juvenis de tambaqui (ca. 250 mg), após 60 dias de alimentação com dietas semipurificadas com níveis crescentes de proteína bruta (19,9 a 53,2 % de PB). A ausência de letras indica que não houve diferença entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).....52

CAPÍTULO 3 – SUBSTITUIÇÃO DA PROTEÍNA POR MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS PARA JUVENIS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum*..... 67

Tabela 1. Perfil de aminoácidos (%) presentes na caseína e gelatina..... 71

Tabela 2. Formulação e composição das dietas experimentais com substituição do perfil de aminoácidos da mistura proteica (caseína e gelatina) por mistura de aminoácidos cristalinos ou farinha de peixe..... 72

Tabela 3. Perfil de aminoácidos (%) presentes nas dietas experimentais. 73

Tabela 4. Desempenho dos juvenis de tambaqui alimentados com dietas semipurificadas contendo crescentes substituições da fração proteica composta por caseína-gelatina por mistura de aminoácidos cristalinos em níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90), e substituição da mistura proteica por farinha de peixe (DFP). Peso e comprimento total iniciais de 200 ± 50 mg e 21 ± 2 mm, respectivamente 79

Tabela 5. Composição corporal de juvenis de tambaqui alimentados com dietas semi-purificadas contendo crescentes substituições da fração proteica composta por caseína-gelatina por mistura de aminoácidos cristalinos em níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90), e substituição da mistura proteica por farinha de peixe (DFP)..... 81

Tabela 6. Médias e desvio padrão das porcentagens de aminoácidos livres presentes na musculatura dorsal de juvenis de tambaqui, alimentados com dietas semi-purificadas contendo crescentes substituições da fração proteica composta por caseína-gelatina por mistura de aminoácidos cristalinos em níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90), e substituição da mistura proteica por farinha de peixe (DFP)..... 83

Tabela 7. Diâmetro médio das cinco fibras menores e maiores da musculatura esquelética de juvenis de tambaqui após 60 dias de alimentação com dietas semi-purificadas com níveis crescentes de substituição da fração proteica por mistura de aminoácidos cristalinos nos níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90) e substituição da fração proteica (caseína e gelatina) por farinha de peixe (DFP) 89

Figura 1. Modelo de regressão linear do ganho em peso (GP) dos juvenis de tambaqui após alimentação por 60 dias com dietas com níveis crescentes de substituição da fração proteica por mistura de aminoácidos cristalinos (0, 25, 50, 75 e 90 %) 80

Figura 2. Concentrações (mMol.kg⁻¹) de aminoácidos livres total (Total), aminoácidos indispensáveis (AAI) e aminoácidos dispensáveis (AAD) na musculatura esquelética de juvenis de tambaqui após 60 dias de alimentação com dietas semi-purificadas contendo crescentes substituições da fração proteica composta por caseína-gelatina por mistura de aminoácidos cristalinos em níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90), e substituição da mistura proteica por farinha de peixe (DFP) (não incluído na análise estatística). Médias seguidas da mesma letra em cada conjunto de resultados não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)..... 84

Figura 3. Distribuição da frequência de fibras musculares em diferentes classes de diâmetro em juvenis de tambaqui ao início do período experimental. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05) 85

Figura 4. Fotomicrografia da musculatura esquelética de juvenis de tambaqui ao início do experimento. Corte transversal, Hematoxilina e Floxina B. Fibras musculares com núcleo periférico (↑); fibras musculares rodeadas por fibras menores (*)..... 85

Figura 5. Fotomicrografias da musculatura esquelética de juvenis de tambaqui alimentados por 60 dias com dietas semi-purificadas contendo crescentes substituições da fração proteica composta por caseína-gelatina por mistura de aminoácidos cristalinos em níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90), e substituição da mistura proteica por farinha de peixe (DFP). Fibras maiores rodeadas por fibras menores (*); núcleo periférico (↑). Notar a presença de fibras musculares com diâmetro maior nos juvenis do tratamento DFP e maior proporção de fibras com diâmetro menor nos juvenis dos tratamentos D75 e D90. Hematoxilina e Floxina B..... 87

Figura 6. Distribuição da frequência de fibras musculares em diferentes classes de diâmetro (classe 10: d≤10µm; classe 20: 10<d≤20 µm; classe 30: 20<d≤ 30 µm; classe 40: 30<d≤40 µm; classe 50: d>40 µm) em juvenis de tambaqui, após 60 dias de alimentação com dietas semi-purificadas contendo crescentes substituições da fração proteica composta por caseína-gelatina por mistura de aminoácidos cristalinos em níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 % (D0, D25, D50, D75 e D90), e substituição da mistura proteica por farinha de peixe (DFP) (não incluído na análise estatística). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)..... 88

LISTA DE ABREVIações

AAD – Aminoácidos Dispensáveis
AAI – Aminoácidos Indispensáveis
Ala – Alanina
Arg – Arginina
Asp – Ácido Aspártico
ca – *circa* (cerca em latim)
CAA – Conversão Alimentar Aparente
CT – Comprimento Total
Cys - Cisteína
EB – Energia Bruta
ED – Energia Digestível
EE – Extrato Etéreo
Glu – Ácido Glutâmico
Gly – Glicina
GP – Ganho em Peso
His – Histidina
Hyp – Hidroxiprolina
Ile – Isoleucina
K – Fator de Condição
Leu – Leucina
Lys – Lisina
Met – Metionina
MM – Matéria Mineral
MS – Matéria Seca
P – Peso
PB – Proteína Bruta
PD – Proteína Digestível
Phe – Fenilalanina
Pro – Prolina
S – Sobrevivência
Ser – Serina
Tau – Taurina
TCE – Taxa de Crescimento Específico
TEP – Taxa de Eficiência Proteica
Thr – Treonina
Val – Valina
VPP – Valor Produtivo da Proteína

EXIGÊNCIA EM PROTEÍNA BRUTA PARA LARVAS E JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E O USO DE MISTURA DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS COMO SUBSTITUTO PARCIAL DA PROTEÍNA

RESUMO - Esta tese está dividida em três capítulos, sendo o primeiro uma revisão sobre os temas estudados e, os seguintes, os resultados da pesquisa, descritos na forma de artigos para publicação. Foram realizados dois experimentos para determinar a exigência proteica de larvas (ca. 70 mg de peso inicial) e juvenis pós-metamórficos (ca. 250 mg de peso inicial) de tambaqui *Colossoma macropomum*, e um experimento para determinar o nível máximo de substituição da fração proteica das dietas semi-purificadas por uma mistura de aminoácidos cristalinos. Para o primeiro estudo de exigência proteica de tambaquis na primeira fase de desenvolvimento, seis dietas semi-purificadas com quantidades crescentes de proteína foram ofertadas (D36,4; D42,1; D47,5; D53,2; D62,0; D68,5), e para a segunda fase de desenvolvimento foram ofertadas sete dietas com quantidades crescentes de proteína (D19,9; D26,2; D31,9; D36,4; D42,1; D47,5; D53,2). Os níveis de 49,46 % e 31,9 % de proteína foram suficientes para atender às exigências em proteína bruta de larvas de tambaqui e juvenis pós-metamorfose, respectivamente. Os níveis de proteína afetaram o desenvolvimento das fibras musculares das larvas ($P < 0,05$), enquanto os juvenis demonstraram diferenças de crescimento muscular entre os tratamentos somente para uma classe de diâmetro de fibra ($P > 0,05$). No segundo estudo, foram utilizados juvenis de tambaqui com peso médio inicial de 200 mg e testadas cinco dietas com níveis crescentes de substituição do perfil de aminoácidos da fração proteica das dietas (caseína e gelatina) por uma mistura de aminoácidos cristalinos nos níveis de 0, 25, 50, 75 e 90 %. O desempenho e o perfil de aminoácidos livres na musculatura esquelética dos juvenis foram afetados com o aumento dos níveis de substituição. No entanto, o desenvolvimento das fibras musculares dos juvenis que receberam dietas com substituição (0 a 90 %) foi semelhante entre os tratamentos ($P > 0,05$), diferindo somente para as fibras menores que 10 μm ($P < 0,05$). Os juvenis que receberam as dietas com 25 e 50 % de substituição foram capazes de demonstrar crescimento semelhante aos juvenis do tratamento sem substituição. Desta forma, os resultados encontrados neste estudo poderão contribuir com estudos futuros relacionados à exigência nutricional específica para a fase inicial de desenvolvimento do tambaqui.

Palavras-chave: aminoácidos indispensáveis, aminoácidos dispensáveis, crescimento inicial, crescimento muscular, dieta semipurificada, níveis de proteína bruta

**PROTEIN REQUIREMENT OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)
LARVAE AND JUVENILE AND PARCIAL REPLACEMENT OF PROTEIN BY
CRYSTALLINE AMINO ACIDS MISTURE**

ABSTRACT – This thesis is divided into three chapters, the first one presents an overview of the state-of-art of the subject, and the others describe the results, written as articles for publication. Two experiments were conducted to determine the protein requirement of larvae (ca. 70 mg initial weight) and post-metamorphosis juveniles (ca. 250 mg initial weight) of tambaqui *Colossoma macropomum*, and another experiment was carried out to determine the maximum level of the protein fraction that could be replaced by a mixture of synthetic amino acids in semi purified diets. For the study of protein requirement of tambaqui in first stage of development, six semi purified diets with increasing levels of protein were offered (D36.4; D42.1; D47.5; D53.2; D62.0; D68.5). In second stage of development, seven semi purified diets with increasing levels of protein were offered to tambaqui juveniles (D19.9; D26.2; D31.9; D36.4; D42.1; D47.5; D53.2). The levels of 46.89 % and 30.65 % of crude protein were enough to meet the protein requirement of tambaqui larvae and post-metamorphic juveniles, respectively. Protein levels affect the development of muscle fibers in tambaqui larvae ($P < 0.05$), and only one diameter muscle fiber class in the juveniles ($P > 0.05$). In the second study, tambaqui juveniles with initial weight of 0.2 g were fed with five semi purified diets with increasing levels of protein (casein and gelatin) replacement by crystalline amino acids mixture at levels of 0, 25, 50, 75 and 90 %. The performance of juveniles and free amino acids profile in muscle were affected with increasing replacement levels ($P < 0.05$). However, muscle fibers development of juveniles fed diets with protein replacement (0 to 90 %) was similar among treatments ($P > 0.05$), differing only for smaller fibers than 10 μm ($P < 0.05$). The juveniles fed diets with 25 and 50 % of replacement showed similar results than the juveniles of treatment without replacement. Thus, the findings of this study can contribute to future research of specific nutritional requirement for the initial development of tambaqui.

Key-words: indispensable amino acids, dispensable amino acids, initial growth, muscle growth, semi-purified diets, crude protein levels

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é apontado como uma espécie importante para a piscicultura nacional por apresentar características zootécnicas favoráveis à criação e comercialização. Os dados mais recentes indicam que o tambaqui é a espécie nativa mais produzida no país, alcançando 88,718 mil toneladas em 2013 (IBGE, 2013), sendo responsável por 22,6% de toda a produção nacional de peixes. Por esses motivos, muitos estudos já foram realizados com a espécie com relação à sua fisiologia (VAN DER MEER, 1995; VIEIRA et al., 1999; FRACALOSSO et al., 2001; ALMEIDA et al., 2006a; CHAGAS et al., 2006; ARIDE et al., 2007; CORRÊA et al., 2007; ARIDE et al., 2010) e ao manejo de criação e produção (HANCZ, 1993; GOMES et al., 2001, 2003; BRANDÃO et al., 2004; ALMEIDA et al., 2006b; ARIDE et al., 2006; , GOMES et al., 2006; SANTOS et al., 2007; SILVA et al., 2007 GOMES; SILVA, 2009). Ainda, vários outros estudos foram realizados relacionados à alimentação (MEROLA e CANTELMO, 1987; SEVILLA; GUNTHER, 2000; VIDAL JUNIOR et al., 2004; NWANNA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008; BRANDÃO et al., 2009; LOCHMANN et al., 2009) e exigências em proteína e energia (HERNÁNDEZ et al., 1995; VAN DER MEER et al., 1997; CAMARGO et al., 1998; VIDAL JUNIOR et al., 1998; OISHI et al., 2010; SANTOS et al., 2010; ALMEIDA et al., 2011). Porém, informações sobre as exigências qualitativas e quantitativas de nutrientes para as formas jovens de tambaqui ainda não são definidas devido às divergências observadas entre os resultados obtidos (RODRIGUES, 2014). Uma possível razão está no fato que alguns autores desconsideram as interações entre os nutrientes presentes nos ingredientes que compõem as dietas práticas utilizadas na maioria dos estudos (FRACALOSSO et al., 2013).

A nutrição é um dos pontos críticos da fase de desenvolvimento inicial dos peixes (VALENTE et al., 2013), devido ao crescimento elevado que os animais apresentam nesta fase. Embora sejam necessárias altos níveis de

proteína nas dietas para larvas e juvenis, o excesso de proteína não garante crescimento adequado dos animais (ARARIPE et al., 2011), pois parte da proteína ingerida é direcionada para síntese de novas proteínas, enquanto que o excesso poderá ser convertido em energia (WILSON, 2002). Além disso, o excesso de proteína dietética aumenta a excreção de compostos nitrogenados (YANG et al., 2002) no ambiente de criação, o que prejudica a ingestão de alimento, a saúde e o crescimento dos peixes (McGOOGAN; GATLIN III, 1999; TIBBETTS et al., 2000; ZHANG et al., 2010).

A farinha de peixe é a fonte proteica mais utilizada no preparo de dietas para organismos aquáticos, devido à sua alta palatabilidade e ao balanço de aminoácidos essenciais que se aproxima das exigências dos peixes (NUNES et al., 2014; KHAOIAN et al., 2014). Porém, esse ingrediente possui custo elevado, tornando a busca por fontes alternativas o objetivo perseguido por muitos autores (GATLIN et al., 2007; KAUSHIK; HEMRE, 2008; TACON; METIAN, 2009a,b; 2010). Porém, as fontes alternativas de proteína geralmente são deficientes em alguns aminoácidos indispensáveis (PERES; OLIVA-TELES, 2005; JOBLING, 2015).

A suplementação com aminoácidos cristalinos é uma das medidas para a redução de custos da formulação de dietas sem prejudicar o balanço de aminoácidos cristalinos. Estudos com larvas e juvenis de peixes demonstraram que a substituição parcial ou total da proteína dietética por aminoácidos cristalinos (MARCOULI et al., 2004; PERES; OLIVA-TELES, 2005; LI et al., 2013) ou peptídeos (ZAMBONINO INFANTE et al., 1997; DABROWSKI et al., 2003; TERJESSEN et al., 2006), além da suplementação de dietas com estes nutrientes (ARAGÃO, et al., 2004; PINTO et al., 2010) podem ser utilizadas adicionalmente ao uso de ingredientes alternativos à farinha de peixe.

Apesar da existência de estudos sobre alimentação e nutrição do tambaqui (HERNÁNDEZ et al., 1995; VAN DER MEER et al., 1997; VIDAL JUNIOR et al., 1998; OISHI et al., 2010; SANTOS et al., 2010; ALMEIDA et al., 2011), praticamente não há informações sobre as exigências em proteína e possibilidade de substituição da proteína por mistura de aminoácidos cristalinos nas fases iniciais de desenvolvimento da espécie. Assim, o presente estudo

visa suprir essa lacuna por meio da avaliação do desempenho produtivo, composição corporal e crescimento da musculatura esquelética de juvenis de tambaqui alimentados com dietas com quantidades crescentes de proteína e dietas com níveis crescentes de substituição da proteína por mistura de aminoácidos cristalinos.

Os resultados obtidos neste estudo não apenas poderão ser úteis para futuros experimentos para determinação do perfil de aminoácidos adequados nas fases iniciais de peixes nativos, como também beneficiarão diretamente o setor produtivo, pela possibilidade de proporcionar o aumento da produtividade por meio do uso de dietas ideais para esta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, H.; OHMAMA, S. Effect of starvation and sea-water acclimation on the concentration of free l-histidine and related dipeptides in the muscle of eel, rainbow trout and Japanese dace. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**. V.88, p.507 – 511, 1987.
- ALAMI-DURANTE, H.; WRUTNIAK-CABELLO, C.; KAUSHIK, S. J.; MÉDALE, F. Skeletal muscle cellularity and expression of myogenic regulatory factors and myosin heavy chains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of changes in dietary plant protein sources and amino acid profiles. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 156, p. 561 – 568, 2010.
- ASSIS, J. M. F. de; CARVALHO, R. F.; BARBOSA, L.; AGOSTINHO, C. A.; DAL PAI SILVA, M. Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture**, v. 237, p. 251-267, 2004.
- ARAGÃO, C.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; LACUISSE, M.; YÚFERERA, M.; DINIS, M. T. Do dietary amino acid profiles affect performance of larval gilthead seabream? **Aquatic Living Resources**, v. 20, p. 155 – 161, 2007.
- AYALA, I.; SANTAELLA, M.; MARTINEZ, C.; PERIAGO, M. J.; GIL, F.; BLANCO, A.; ALBORS, O. L. Muscle tissue structural changes and texture development in sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem storage. **Food Science and Technology**, v.43, p. 465-45, 2010.
- BALLANTYNE, J. S. Amino acid metabolism. In: **Fish Physiology**, Nitrogen Excretion, eds Wright P. A., Anderson P. M., editors. New York: Academic Press; v.19, p. 77 – 107, 2001.
- BODIN, N.; DELFOSSE, G.; THU, T. T. N.; LE BOULENGÉ, E.; ABOUDI, T.; LARONDELLE, Y.; ROLLINET, X. Effects of fish size and diet adaptation on growth performances and nitrogen utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) juveniles given diets based on free and/or protein-bound amino acids. **Aquaculture**, v. 356-357, p. 105 – 115, 2012.
- CAMARGO, A. C. S.; JÚNIOR, M. V.V.; DONZELE, J. L.; de ANDRADE, D. R.; dos SANTOS, L. C. Níveis de energia metabolizável para Tambaqui (*Colossoma macropomum*) dos 30 aos 180 gramas de peso vivo. 1. Composição das carcaças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p. 409 - 415, 1998.

CHAPALAMADUGU, K. C.; ROBISON, B. D.; DREW, R. E.; POWELL, M. S.; HILL, R. A.; AMBERG, J. J.; RODNICK, K. J.; HARDY, R. W.; HILL, M. L.; MURDOCH, G. K. Dietary carbohydrate level affects transcription factor expression that regulates skeletal muscle myogenesis in trout. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v.153, p. 66 – 72, 2009.

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

CONCEIÇÃO, L. E. C.; YÚFERA, M.; MAKRIDIS, P.; MORAIS, M.; DINIS, M. T. Live feeds for early stages of fish rearing. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 613–640, 2010.

COWEY, C. B.; LUQUET, P. In “IVth International Symposium Protein Metabolism and Nutrition.” pp. 365–384. Editions INRA, Clermont-Ferrand, France, 1983.

DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary metabolism. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Ed.) **Fish nutrition**. 3.ed. Washington: Academic Press, p.309-365, 2002.

DABROWSKI, K.; TERJESEN, B. F.; ZHANG, Y.; PHANG, J.; LEE, K. J. A concept of dietary dipeptides: a step to resolve the problem of amino acid availability in early life of vertebrates. **The Journal of Experimental Biology**, v.208, p. 2885 -2894, 2005.

DAVIS, T.A.; FIOROTTO, M. L. Regulation of muscle growth in neonates. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v.12, p.78 – 85, 2009.

DENIS, E.; FRCSI, M. D.; LIEBERMAN, M. D.; THOMAS, J.; FAHEY III, M. D.; JOHN, M.; DALY, M. A. F. Immunonutrition: the role of arginine. **Nutrition**, v.14, p.7–8, 1998.

FRACALOSSO, D. M.; RODRIGUES, A. P. O.; SILVA, T. S. C.; CYRINO, J. E. P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSO, D.M. e CYRINO, J.E.P. **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1ª ed. Ampliada. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. p.37-63, 2013.

FURUYA, W. M.; FURUYA, V. R. B. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.39, supl.especial, p. 88 - 94, 2010.

HAN, Y.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S. Interactive effects of dietary arginine and histidine on the performances of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* juveniles. **Aquaculture**, v.414–415, p. 173–182, 2013.

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

HOLECEK, M.; SPRONGL, L.; TILSER, I. Metabolism of branched-chain amino acids in starved rats: the role of hepatic tissue. **Physiology Research**, v. 50, p. 25 – 33, 2001.

JOBLING, M. Fish nutrition research: past, present and future. **Aquaculture International**, 2015.

JOHNSTON, I.; HALL, T. Mechanisms of muscle development and responses to temperature change in fish larvae. **American Fisheries Society Symposium**, v.40, p. 85 – 116, 1999.

JOHNSTON, I. A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 2249-2264, 2006.

JÜRSS, K.; BASTROP, R. Amino acid metabolism in fish. In: HOCHACHKA, PW. and MOMMSEN, TP. (Eds.). **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**. Amsterdam: Elsevier, vol. 5, p. 159 - 189, 1995.

KASUMYAN, A. O.; DOVING, K. B. Taste preferences in fishes. **Fish and Fisheries**, v. 4, p. 289 – 347, 2003.

KOJIMA, J. T.; LEITÃO, N. J.; MENOSSI, O. C. C.; FREITAS, T. M.; DAL-PAI SILVA, M.; PORTELLA, M. C. Short periods of food restriction do not affect growth, survival or muscle development on pacu larvae. **Aquaculture**, v. 436, p. 137 – 142, 2015.

KWASEK, K.; ZHANG, Y.; DABROWSKI, K. Utilization of protein, dipeptide-protein and amino acid based diets by juvenile koi carps and effect on body free amino acid concentrations. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.94, p.35–43, 2010.

LEITÃO, N. J.; DAL PAI-SILVA, M.; ALVES, F. L. DE A.; PORTELLA, M. C. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mesopotamicus* larvae. **Aquaculture**, v. 315, p. 78-85, 2011.

LEITÃO, N. J. **Dietas microencapsuladas: produção e avaliação para alimentação de larvas altriciais de peixes de água doce**. 91 f.(Tese de Doutorado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

LI, P.; MAI, K.; TRUSHENSKI, J.; WU, G. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. **Amino Acids** v.37, p.43 – 53, 2009.

Lin, H.; Tan, T.; Zhou, C.; Niu, J; Xia, D.; Huang, Z.; Wang, J.; Wang, Y. Effect of dietary arginine levels on the growth performance, feed utilization, non-specific immune response and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. **Aquaculture**, v. 437, p.382–389, 2015.

MARCOULI, P. A.; ALEXIS, M. N.; ANDRIOPOULOU, A.; ILIOPOULOU-GEORGUDAKI, J. Development of a reference diet for use in indispensable amino acid requirement studies of gilthead sea bream *Sparus aurata* L. **Aquaculture Nutrition**, v. 10, pp. 335 – 344, 2004.

MENOSSE, O. C. C. **Efeitos do jejum sobre o desempenho zootécnico, crescimento e degradação muscular e alterações hepáticas de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus***. (Tese de Doutorado em Aquicultura) Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

NEBO, C.; PORTELLA, M. C.; CARANI, F. R.; DE ALMEIDA, F. L. A.; PADOVANI, C. R.; CARVALHO, R. F.; DAL-PAI-SILVA, M. Short periods of fasting followed by refeeding change the expression of muscle growth-related genes in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, B**, V. 164, P.268–274, 2013.

NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: National Academy Press. 2011.

NUNES, A. J. P.; SÁ, M. V. C.; BROWDY, C. L.; VAZQUEZ-ANON, M. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**, v. 431, p. 20 – 27, 2014.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. **Aquaculture**, v. 250, p. 755 – 764, 2005.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effective replacement of protein-bound amino acids by crystalline amino acids in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, p. 60 – 68, 2014.

PORTZ, L.; FURUYA, W. M. Energia, proteína e aminoácidos. In: FRACALLOSSI, D.M. e CYRINO, J.E.P. NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª ed. Ampliada. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. p.65-78, 2013.

RAHIMNEJAD, S.; LEE, K. J. Dietary valine requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major*. **Aquaculture**, v. 416–417, p. 212–218, 2013.

RODRIGUES, A. P. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.40, n. 1, p. 135 – 145, 2014.

SÁ, M. V. D. C. E.; FRACALOSSO, D. M. Exigência Protéica e Relação Energia/Proteína para Alevinos de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1-10, 2002.

SALEM, M.; KENNEY, P. B.; REXROAD, C. E. III.; YAO, J. Proteomic signature of muscle atrophy in rainbow trout. **Journal of Proteomics**, v.73, p. 778 – 789, 2010.

SHIMOMURA, Y.; YAMAMOTO, Y.; BAJOTTO, G.; SATO, J.; MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, N.; KOBAYASHI, H.; MAWATARI, K., 2006. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 529S–532S, 2006.

SIDDIQUI, A. Q; SIDDIQUI, A. H.; AHMAD, K. Free amino acid contents of the skeletal muscle of carp at juvenile and adult stages. **Comparative Biochemistry and Physiology**, B, v. 44, p. 725 – 728, 1973.

STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K. D.; BAEVERFJORD, G. 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, p.115-132, 2000.

TERJESEN, B. F.; LEE, K. J.; ZHANG, Y.; FAILLA.; DABROWSKI, K. Optimization of dipeptide–protein mixtures in experimental diet formulations for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevins. **Aquaculture**, v. 254, p.517–525, 2006.

TESSER, M., TERJESEN, B. F., ZHANG, Y., PORTELLA, M. C., DABROWSKI, K. Free- and peptide-based dietary arginine supplementation for the South American fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 443 – 453, 2005.

VALENTE, L. M. P.; ROCHA, E.; GOMES, E. F. S.; SILVA, M. W.; OLIVEIRA, M. H.; MONTEIRO, R. A. F.; FAUCONNEAU, B. Growth dynamics of white and red muscle fibres in fast- and slow-growing strains of rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 55, p. 675–69, 1999.

VAREILLES, M.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; GÓMEZ-REQUENI, P.; KOUSOULAKI, K.; RICHARD, N.; RODRIGUES, P. M.; FLADMARK, K. E.; RONNESTAD, I. Dietary lysine imbalance affects muscle proteome in zebrafish (*Danio rerio*): A comparative 2D-DIGE study. **Marine Biotechnology**, v. 14, p. 643 – 654, 2012.

VERTEGEN, M. W. A.; JONGBLOED, A. W. Crystalline amino acids and nitrogen emission. In: J. P. F. D’Mello, editor. *Amino Acids in Animal Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK. P. 448-449. 2003.

YUAN, Y.; GONG, S.; YANG, H.; LIN, Y.; YU, D.; LUO, Z. Effect of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquaculture**, v.316, p.31-36, 2011.

WU, G. Y. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, p.1 – 17, 2009.

ZAMBONINO-INFANTE, J. L.; CAHU, C. L.; PERES, A. Partial Substitution of Di- and Tripeptides for Native Proteins in Sea Bass Diet Improves *Dicentrarchus labrax* Larval Development. **The Journal of Nutrition**, v. 127, p. 608 – 614, 1997.

ZHANG, Y.; DABROWSKI, K.; HLLIWA, P.; GOMULKA, P. Indispensable amino acid concentrations decrease in tissues of stomachless fish, common carp in response to free amino acid- or peptide-based diets. **Amino Acids**, v. 31, p. 165-172, 2006.

Zhoua, Q. C.; Zeng, W. P.; Wang, H. L.; Xie, F. J.; Wang, T.; Zheng, C. Q. Dietary arginine requirement of juvenile yellow grouper *Epinephelus awoara*. **Aquaculture** , v.350–353, p.175–182, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os níveis de 49,46 % e 31,9 % de proteína bruta foram suficientes para atender às exigências em proteína bruta para o máximo desempenho de ganho em peso de tambaquis na faixa de 70 a 430 mg e para juvenis na faixa de peso de 250 a 5500 mg, respectivamente. E o excesso de proteína prejudica o crescimento hiperplásico da musculatura esquelética de tambaqui na faixa de peso de 70 a 430 mg.

A substituição de até 50 % do perfil de aminoácidos da proteína por mistura de aminoácidos cristalinos pode ser utilizada sem prejudicar o desempenho de crescimento e desenvolvimento da musculatura esquelética dos juvenis de tambaqui de 0,2 a 4,3 g.

Desta forma, os resultados de exigência proteica e substituição da proteína por mistura de aminoácidos encontrados neste estudo poderão contribuir com informações para futuras pesquisas em exigência proteica e aminoácidos específicos da espécie durante as fases iniciais de desenvolvimento, visando o desenvolvimento muscular para o melhor desempenho e qualidade de produtos, como o filé do peixe.