

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**FONTES DE LISINA E METIONINA**  
**EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-NILO**  
**NA FASE DE RECRIA**

**Ligia Maria Neira**

Jaboticabal, SP

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**FONTES DE LISINA E METIONINA**  
**EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-NILO**  
**NA FASE DE RECRIA**

**Ligia Maria Neira**

**Orientador: Dr. Dalton José Carneiro**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal, SP  
2013

Neira, Ligia Maria

N415f Fontes de lisina e metionina em dietas para tilápia-do-Nilo na fase de recria /Ligia Maria Neira. - - Jaboticabal, 2013 vi, 52 f. : Il.; 29cm

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2013

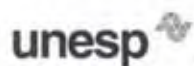
Orientador: Dalton José Carneiro

Banca examinadora: Marta Verardino De Stéfani, Priscila Vieira Rosa

Bibliografia

1. Aminoácidos. 2. Oreochromis niloticus. 3. Nutrição. 4. Desempenho. 5. Digestibilidade I. Título. II. Jaboticabal – Centro de Aquicultura

CDU 639.3.043



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

REITORIA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** Fontes de lisina e metionina em dietas para tilápia-do-Nilo na fase de de recria

**AUTORA:** LIGIA MARIA NEIRA

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. DALTON JOSE CARNEIRO

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

Prof. Dr. DALTON JOSE CARNEIRO

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. MARTA VERARDINO DE STEFANI

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. PRISCILA VIEIRA ROSA

Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Lavras

Data da realização: 14 de fevereiro de 2013,

## Sumário

Lista de Figuras.....	iv
Lista de Tabelas .....	v
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>1</b>
<b>APOIO FINANCEIRO .....</b>	<b>2</b>
Resumo .....	3
Abstract .....	4
Considerações iniciais .....	5
1. Espécie .....	5
2. Fontes de lisina e metionina.....	6
3. Exigências de lisina e metionina em dietas para peixes.....	7
4. Estudos com utilização de aminoácidos cristalinos. ....	10
1. Introdução.....	13
2. Objetivos.....	15
2.1 Geral: .....	15
2.2 Específicos:.....	15
3. Materiais e métodos.....	16
3.1 Ensaio experimental 1- desempenho produtivo .....	16
3.2. Ensaio experimental 2 – Ensaio de digestibilidade. ....	19
3.3.    Dietas Experimentais .....	19
3.4    Material biológico e instalações .....	22
3.5.    Análise da composição corporal.....	23
3.6.    Análises Laboratoriais .....	23
3.7.    Delineamento experimental e análises estatísticas.....	24
4. Resultados.....	25
4.1 Ensaio experimental 1 - Desempenho produtivo .....	25
2 Ensaio experimental 2 - Ensaio de digestibilidade .....	36
5. Discussão .....	38
6. Conclusão.....	43
7. Referências Bibliográficas .....	44

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Aplicação da análise de regressão linear platô para as médias ganho em peso diário em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo.....28
- Figura 2.** Análise de regressão das médias de conversão alimentar aparente em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos em dietas para juvenis da tilápia-do-Nilo .....29
- Figura 3.** Análise de regressão para a taxa de crescimento específico em função da suplementação de lisina e metionina cristalinos em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo. ....30
- Figura 4.** Análise de regressão das taxas médias taxa de eficiência proteica em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos para juvenis de tilápia-do-Nilo .....31

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Tratamentos experimentais mostrando o fornecimento de aminoácidos das fontes – natural ou cristalino .....	17
<b>Tabela 2.</b> Formulação das dietas experimentais (valores com base na matéria natural).....	21
<b>Tabela 3.</b> Composição centesimal das dietas experimentais. ....	22
<b>Tabela 4.</b> Médias dos parâmetros de desempenho produtivo para as diferentes fontes e níveis de suplementação de lisina e metionina em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo .....	25
<b>Tabela 5.</b> Valores de P e R <sup>2</sup> da análise de regressão polinomial dos parâmetros de desempenho, eficiências nutricionais, índices fisiológicos e digestibilidade avaliados em juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com dietas suplementadas com lisina e metionina cristalinos.....	27
<b>Tabela 6.</b> Eficiências de retenção de proteína (ER <sub>PB</sub> ), de extrato etéreo (ER <sub>EE</sub> ), de energia bruta (ER <sub>EB</sub> ), de lisina (ER <sub>L</sub> ) e metionina (ER <sub>M</sub> ) dos tratamentos experimentais.....	32
<b>Tabela 7.</b> Médias do Índice Hepato-somático (IHS) e Índice Viscero-gorduro-somático (IVGS) em juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com dietas suplementadas com lisina e metionina cristalinos. ....	33
<b>Tabela 8.</b> Composição química corporal média dos juvenis de tilápia-do-Nilo com base na matéria seca .....	35
<b>Tabela 9.</b> Médias de coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDA <sub>PB</sub> ), da energia bruta (CDA <sub>EB</sub> ), da lisina (CDA <sub>L</sub> ) e da metionina (CDA <sub>M</sub> ) dos tratamentos experimentais para os juvenis da tilápia-do-Nilo .....	37

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por sempre seguir comigo nas batalhas e nas conquistas. Obrigada por todos os caminhos que já percorri e todas as pessoas que conheci, pois fui moldada em cada erro e acerto. Agradeço também a Maria nossa mãe que nos protege com seu mando. Maria passa na frente!.*

*Agradeço aos meus pais por não medirem esforços para me apoiarem e incentivarem nessas minhas idas e vindas, e ao meu irmão que me encoraja a seguir.*

*Agradeço aos amigos que sempre entendem as minhas ausências constantes, mas sempre estão ao meu lado, animando e torcendo.*

*Agradeço aos amigos que compartilham o laboratório e a vida comigo, são os melhores companheiros de trabalho, experimento, reuniões e comilanças.*

*Hoje sei que os verdadeiros amigos estão com você nas horas felizes, nas horas tristes, mas também nas horas de trabalho árduo aos sábados, domingos, feriados e coletas de fezes.*

*Agradeço a minha Família que me dá suporte, meu porto seguro.*

*Agradeço em especial minha Avó que sempre, mesmo sem entender, é interessada nas minhas pesquisas científicas.*

*Agradeço ao meu namorado que sempre está disposto a ouvir e aconselhar. Sempre amoroso, companheiro e amigo. Presente de Deus.*

*Agradeço á todos os professores e funcionários que, direta ou indiretamente, participaram da minha formação profissional e pessoal.*

*Agradeço aos professores da banca examinadora da qualificação e defesa. Obrigada pelas sábias sugestões, correções e contribuições.*

*Agradeço ao meu orientador pela orientação, auxílio e dedicação na execução desse trabalho.*

*Obrigada á todos!*



## **APOIO FINANCEIRO**

FAPESP, Bolsa de Mestrado, Processo nº 2011/16340-0

***“Só sabemos com exatidão  
quando sabemos pouco; com  
o conhecimento vem a dúvida”  
GOETHE.***

## Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência de fontes (natural e cristalina) de lisina e metionina sobre o desempenho e os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) em dietas para tilápia-do-Nilo. Foram utilizados 192 juvenis revertidos com média  $5,27 \pm 0,25$  g, distribuídos em 24 caixas de fibrocimento (100L). Foram estudadas seis dietas experimentais com quatro réplicas, ao longo de 85 dias, avaliando o Ganho em Peso Diário (GPD), Consumo Diário de Dieta (CDR), Conversão Alimentar Aparente (CAA), Taxa de Crescimento Específico (TCE), Taxa de Eficiência Proteica (TEP), Eficiência de Retenção de Proteína Bruta ( $ER_{PB}$ ), Eficiência de Retenção de Energia Bruta ( $ER_{EB}$ ) e Eficiência de Retenção de lipídios ( $ER_{EE}$ ). Para o ensaio de digestibilidade foi adicionado 1% de óxido de Crômio III como marcador inerte, nas dietas. Os melhores resultados ( $P < 0,05$ ) dos parâmetros de desempenho produtivo para GPD, CA, TCE, TEP e  $ER_{PB}$  foram encontrados nos peixes alimentados com o tratamento **D1**, mostrando que a fonte natural de lisina e metionina proporcionou esse melhor desempenho.  $CDA_{PB}$  diminuiu em relação à maior adição de aminoácidos cristalinos e  $CDA_L$  apresentou diminuição nos valores de digestibilidade com o aumento dos níveis de suplementação. Os resultados de RLP para os níveis de suplementação apresentaram os valores máximos de 35,19% de metionina e 52,82% de suplementação de lisina artificiais para GPD

**Palavras-chave:** aminoácidos, *Oreochromis niloticus*, nutrição, desempenho e digestibilidade.

## Abstract

The aim of this study was to evaluate the influence of lysine and methionine sources (natural and crystalline) on performance and apparent digestibility coefficients (ADCs) of the diets for Nile tilapia. 192 reversed juvenile with average  $5.27 \pm 0.25$  g were used over 24 boxes of cement (100L). Six experimental diets with four replicates were analyzed over 85 days, evaluating the Daily Weight Gain (DWG), Daily Feed Intake (DFI), Feed Conversion Ratio (FCR), Rate Specific Growth (RSG), Protein Efficiency Ratio (PER), Retention Efficiency of Crude Protein (RECP), Retention Efficiency of Energy Gross (REEG) and Retention Efficiency of Lipids (REL). For the test digestibility was added 1% chromium oxide III as a inert marker on diets. The best results ( $P < 0.05$ ) of performance parameters for DWG, FCR, RSG, PER and RECP were found in treatment D1 showing that natural sources of lysine and methionine provided better performance. CADCP decreased compared to the higher addition of crystalline amino acids and CADLys decreased in digestibility with increasing levels of crystalline amino acids. The results of RLP for levels of supplementation showed the maximum of 35.19% of methionine supplementation and 52.82% of lysine supplementation artificial GPD

**Keywords:** Amino Acids, *Oreochromis niloticus*, nutrition, performance and digestibility.

## Considerações iniciais

### 1. Espécie

A tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, pertencente à família Cichlidae, é originária da bacia do rio Nilo, no Leste da África e encontra-se amplamente, disseminada nas regiões tropicais e subtropicais, como em Israel, no Sudeste Asiático (Indonésia, Filipinas e Formosa) e no Continente Americano (USA, México, Panamá e toda América do Sul) (Carvalho, 2006)\*. É a segunda espécie de maior importância na aquicultura mundial e está entre as principais espécies produzidas pela aquicultura continental brasileira (Lovshin, 2000).

Esta espécie foi introduzida no Brasil há mais de 40 anos, se alimentam dos níveis primários da cadeia trófica, aceitam grande variedade de alimentos e responde com a mesma eficiência à ingestão de proteínas de origem vegetal e animal, destacando-se entre as espécies onívoras na utilização de aminoácidos das fontes convencionais e alternativas (Fagbenro *et al.*,1998). Além disso, são resistentes a doenças, toleram altas densidades e baixos teores de oxigênio dissolvido (Takishita *et al.*,2009), características que conferem vantagens produtivas. A sua produção é economicamente importante em diversos países e vem crescendo a cada ano no Brasil, em vários sistemas de criação, principalmente em tanques-rede. A criação em viveiros é caracterizada pela menor densidade de estocagem, e a produção em tanque-rede é caracterizada por elevada concentração de biomassa por unidade de volume (Furuya, 2010)

Com as crescentes informações sobre a espécie, observam-se avanços tecnológicos na nutrição, reprodução, sanidade e melhoramento genético para obtenção de maior rendimento e intensificação da produção com enfoque no menor custo e diminuição de impactos ao meio ambiente.

Em relação à produção aquícola mundial de 2009, a China continua sendo o maior produtor, com aproximadamente 45,3 milhões de toneladas. A Indonésia e a Índia são o segundo e terceiro maiores produtores, com cerca de 4,7 milhões e 3,8 milhões de toneladas, respectivamente. Neste cenário, o Brasil ocupa a 17ª posição no "ranking mundial", com a produção de 415.649 t em 2009. No ano de 2010 sua produção de tilápias foi de 155.450,8t; apresentando crescimento de

16,91% comparado ao ano de 2009, que obteve uma produção de 132.958,3t (MPA, 2012).

---

\*citação conforme Aquaculture Nutrition

## 2. Fontes de lisina e metionina

No Brasil, vários alimentos de origem animal ou vegetal podem ser utilizados com sucesso na alimentação de peixes. Atualmente, as fontes de lisina e metionina utilizadas na nutrição animal podem ser naturais (origem animal ou vegetal) ou industriais (aminoácidos cristalinos); como a L-lisina oriunda da fermentação ou a DL-metionina, oriunda de síntese química (NRC 2011).

Os alimentos de origem animal apresentam alto teor proteico e balanço em aminoácidos, ácidos graxos, minerais e vitaminas. No entanto, alguns desses alimentos podem apresentar alta variação em sua composição, devido ao processamento, em termos de proteína, gordura, cinzas e aminoácidos, podendo variar ainda quanto à digestibilidade e disponibilidade desses nutrientes, afetando a qualidade e podendo prejudicar o desempenho dos peixes (Anderson *et al.*,1995; Aksnes *et al.*,1997 e Vergara *et al.*,1999). As fontes alimentares ricas em lisina (L) e metionina (M), utilizadas atualmente em dietas práticas, são de origem animal, como a farinha de peixe (L=4,04% e M= 1,40%), farinha de sangue (L=8,45 e M=1,05%) e farinha de vísceras (L=5,01% e M=1,34%) (Furuya, 2010). As rações formuladas para a aquicultura estão entre as mais caras dentre as destinadas a produção animal encontradas no mercado. As rações comerciais para tilápias possuem níveis de proteína bruta variando entre 24 a 56%, o que implica em elevada participação dos ingredientes proteicos, principalmente os de origem animal, que correspondem a mais de 50% de seu custo (Furuya *et al.*, 2001b).

Dentre os alimentos de origem vegetal, o farelo de soja tem ganhado destaque em função de sua maior disponibilidade no mercado nacional, menor custo e elevado valor nutritivo. Porém, este alimento apresenta diversos fatores antinutricionais, deficiência em aminoácidos sulfurados e menores valores de energia digestível, cálcio e fósforo que a farinha de peixe (Furuya *et al.*, 2001a), além de competir com a alimentação humana.

As fontes industriais de lisina e metionina são facilmente encontradas e comercializadas na forma de cristais. São matérias-primas importantes para a produção animal, permitindo aos nutricionistas balancear suas rações de forma adequada para atender as exigências nutricionais dos diferentes tipos de produção. A utilização de aminoácidos cristalinos, sendo aminoácidos livres e prontamente absorvíveis, permite reduzir os níveis de proteína bruta da ração e adequar o consumo de aminoácidos essenciais, melhorando o desempenho animal (Bomfim *et al.*, 2008). O perfil aminoacídico das dietas com redução de proteína bruta suplementadas com aminoácidos industriais é mais próximo da proteína ideal. A proteína ideal é definida como o balanço exato de aminoácidos que é capaz de fornecer, sem excesso ou falta, os aminoácidos necessários para a manutenção animal a máxima deposição protéica (Furuya *et al.*, 2001a). Assim, nestas dietas, o excesso de aminoácidos é reduzido em relação às dietas de alta PB.

### **3. Exigências de lisina e metionina em dietas para peixes**

A proteína é o nutriente mais estudado em dietas para produção de peixes, pois é o principal constituinte orgânico dos tecidos, perfazendo 55 a 75% da matéria seca corporal (Portz & Cyrino, 2004). Outro fato relevante é que comercialmente, ocorre a associação direta entre o preço da dieta e teor de proteína. Para o conhecimento da qualidade proteica dos alimentos utilizados na formulação das dietas para peixes, o perfil de aminoácidos tem grande importância, embora não seja conclusivo para caracterizar a proteína (Muñoz-Ramires & Carneiro, 2002).

Os peixes não possuem uma exigência verdadeira de proteína, mas sim, de um adequado balanceamento entre os aminoácidos essenciais e não essenciais (Wilson & Poe, 1985). Aminoácidos são moléculas que formam as proteínas e contêm os grupos funcionais amina e carboxila, apresentando a fórmula geral  $H_2NCHRCOOH$ , na qual R representa uma cadeia lateral, que é específica para cada aminoácido. As propriedades dos aminoácidos resultam das variações nas estruturas dos diferentes R, que influenciam o tamanho, forma, carga elétrica, e outras características. Componentes importantes para muitas moléculas biológicas como parte de coenzimas, precursores da biossíntese de

moléculas estruturais, intermediários metabólicos, neurotransmissores, hormônios e inúmeras outras moléculas importantes em resposta a diferentes estímulos do organismo (NRC, 2011).

Os aminoácidos essenciais (lisina, metionina, treonina, arginina, histidina, triptofano, isoleucina, leucina, valina e fenilalanina) são necessários porque os peixes não conseguem sintetizá-los, e aminoácidos não essenciais podem ser sintetizados a partir de precursores. Segundo Lovell (1989), a lisina e a metionina são os aminoácidos mais limitantes em dietas para peixes de água quente. Como o alimento natural disponível no meio aquático não atende as suas exigências nutricionais, torna-se necessária, em dietas deficientes, a sua suplementação (Furuya *et al.*, 2006b ) melhorando o crescimento de várias espécies de peixes. Deficiências em aminoácidos essenciais normalmente ocasionam redução na utilização da proteína, diminuição da taxa de ganho em peso diário e da eficiência alimentar, além de implicarem em redução da resistência a doenças pelo comprometimento dos mecanismos de resposta imunológica (Pezzato *et al.*, 2004).

O conhecimento das exigências nutricionais, e principalmente dos aminoácidos essenciais para os peixes é uma necessidade para o aperfeiçoamento do custo-benefício com a alimentação, aliada a maior eficiência de utilização da proteína da dieta, que é traduzida em menor sobra de nitrogênio para ser eliminado ao ambiente aquático (Yamamoto *et al.*, 2005).

A exigência média de lisina para tilápia-do-Nilo é considerada aproximadamente 5,8% da proteína da dieta (Furuya *et al.*, 2004a; Furuya *et al.*, 2006 a; Gonçalves *et al.*, 2009; Takishita *et al.*, 2009; Bomfim *et al.*, 2010) com recomendações de 1,40 a 1,80% da dieta (Jackson & Capper, 1982; Santiago & Lovell, 1988; Bomfim *et al.*, 2006). A sua suplementação garante aumento no ganho em peso, melhora na conversão alimentar, aumento na retenção de nitrogênio e redução no conteúdo de lipídios na carcaça (Furuya, 2010). Essa variação pode ser devido à metodologia experimental, diferenças entre as dietas experimentais práticas ou purificadas e diferenças na forma de expressar a exigência (% da dieta, % da proteína, g/kcal de ED). Os dados mais recentes referentes à exigência de lisina são aqueles publicados pelo NRC (2011), sendo

valores de 1,5% da dieta ou de 5% da proteína da dieta para tilápia-do-Nilo recomendados para formulação de rações práticas para a espécie.

Dietas deficientes em lisina afetam o desempenho e a saúde dos peixes e a suplementação desse aminoácido é efetiva no aprimoramento da resposta imune do peixe e o desenvolvimento gastrintestinal (Zhou, 2005). Lisina é o aminoácido mais comumente limitante em ingredientes utilizados para a produção de rações comerciais para peixes e sua disponibilidade comercial facilita sua incorporação em dietas à base de proteínas de fontes vegetais, permitindo a diminuição do teor de proteína bruta sem afetar o desempenho do animal (Mai *et al.*, 2006). A presença de lisina que ajuda na absorção de cálcio, produz anticorpos, enzimas e colágenos, é necessária para a manutenção dos tecidos, e junto com a metionina, esta diretamente ligada à produção de carnitina, que auxilia na conversão de ácidos graxos em energia (Ovie & Eze, 2012).

Exigências dietéticas de metionina foram estimadas com variação entre 1,8 a 4,0% da proteína da dieta para espécies de peixes comumente produzidas (Wilson, 2002). As exigências dietéticas de metionina + cistina para tilápia-do-Nilo variam em torno de 60% da lisina (Furuya *et al.*, 2001a; Bomfim *et al.*, 2008; Quadros *et al.*, 2009), com o mínimo de 0,54% de metionina na dieta (Furuya *et al.*, 2004b). NRC (2011) recomenda 0,8% da PB (com 0,2% de cistina) ou 2,7% da proteína (com 0,5% de cistina) em dietas contendo 28% de PB para a espécie. A importância da metionina está no fato de fornecer enxofre para muitos componentes celulares, contribuir com o grupo metil nos processos de transmetilação, necessários à formação de proteínas, e por ser usada na biossíntese de colina e tiamina, além de ser convertida em cistina (Alam *et al.*, 2000). A colina é sintetizada pelo organismo na presença de quantidades adequadas de precursores e metionina (Swenson & Reece, 1996; Kasper *et al.*, 2000), sendo necessários também, o ácido fólico e a vitamina B12 (Lovell, 1989; Case *et al.*, 1997).

Dessa forma, além das diferenças entre espécies, a utilização dos aminoácidos parece estar estreitamente relacionada às fontes empregadas, nível de inclusão e valor biológico (Pezzato *et al.*, 2004). O correto manejo nutricional é o ponto chave na viabilidade da piscicultura, independente do sistema de criação adotado (Lazzari, 2010). O desequilíbrio na composição de aminoácidos resulta



numa menor síntese de proteína por unidade de proteína ingerida e maior quantidade de aminoácidos deaminados e nitrogênio excretado na água (Pezzato *et al.*,2004).

Os aminoácidos cristalinos melhoram o perfil quali e quantitativo de aminoácidos e estimulam o consumo (Furuya *et al.*,2004b), mas a sua utilização em dietas práticas ainda é desconhecida. A obtenção dessa resposta depende da habilidade da espécie em absorver e metabolizar esses aminoácidos para síntese de proteína, bem como para outras funções fisiológicas (Nguyen & Davis, 2009b).

#### **4. Estudos com utilização de aminoácidos cristalinos.**

Nos primeiros estudos com aminoácidos conduzidos por Halver (1957), as dietas eram formuladas com base no perfil de aminoácidos contidos na proteína do ovo de galinha, ovo de salmão chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) e proteína do saco vitelínico das larvas de salmão chinook. Esse estudo tinha por finalidade determinar as exigências qualitativas de aminoácidos para essa espécie. Mas foram De Long *et al.* (1958) que, ao determinar a exigência de proteína bruta para salmão chinook, os primeiros a utilizarem na composição de suas dietas, uma mistura de caseína, gelatina e aminoácidos cristalinos. Posteriormente, estudos utilizando essa mistura foram usados para determinar a exigência quantitativa dos dez aminoácidos essenciais para o salmão chinook (Halver *et al.*,1958; De Long *et al.*,1962; Chance *et al.*, 1964; Harper *et al.*, 1965). Esses estudos pioneiros serviram de base para muitos estudos, subseqüentes, em exigência de aminoácidos para diversas espécies de peixes.

Na década de 70, Aoe *et al.*(1970), deram início a discussão ainda em curso, comparando os valores na composição da proteína da dieta e a equivalência com os aminoácidos livres. Nesse sentido, autores relataram possíveis diferenças no aproveitamento dos aminoácidos cristalinos e dos aminoácidos ligados às proteínas naturais (Yamada, 1981; Viola *et al.*,1994; Schuhmacher *et al.*,1997; Segovia-Quintero & Reight, 2004). Segundo Andrigueto *et al.* (1990), as espécies animais aproveitam de forma diferente os alimentos, sendo esta variação quantificada pela determinação de seus coeficientes de digestibilidade. A digestibilidade de uma dieta é definida como a habilidade com

que o animal digere e absorve a energia e os nutrientes contidos no alimento. Entretanto, após a ingestão, a efetiva assimilação dos nutrientes depende da aptidão fisiológica do organismo animal em questão (Maynard & Loosly, 1966).

De acordo com Yamada (1981) e Schuhmacher *et al.* (1997), o menor desempenho obtido com peixes recebendo aminoácidos sintéticos pode ser atribuído à sua rápida absorção, com súbita elevação nos seus níveis plasmáticos, comparado ao dos peixes alimentados com proteína intacta do alimento. Isto eleva o catabolismo e a excreção de compostos nitrogenados (Chen *et al.*,1992; Lim, 1993). Uma maneira de assegurar simultaneamente a disponibilidade de aminoácidos cristalinos e aminoácidos ligados à proteína para os sítios receptores, garantindo síntese proteica e deposição, é aumentar a frequência de arraçoamento, no intuito de equilibrar a disponibilidade de aminoácidos a partir de alimentações consecutivas (Barroso *et al.*, 1999), além de reduzir as perdas dos aminoácidos por lixiviação (Zarate & Lovell, 1997). Suplementação de aminoácidos cristalinos em alimentações aquáticas, principalmente dietas purificadas, pode influenciar no equilíbrio ácido base e eletrolítico, nas taxas de aminoácidos no lúmen intestinal e plasma, como também a digestão e absorção de nutrientes. As respostas dos aminoácidos cristalinos para o metabolismo e sua regulação pelos fatores neural, endócrino e ambiental, em animais aquáticos, são pouco conhecidas, portanto, limitam o desenvolvimento de meios de promoção do crescimento pelo controle metabólico alvo (Li *et al.*,2008).

Atualmente, as pesquisas sobre exigências quantitativas dos aminoácidos essenciais utilizam o perfil dos aminoácidos presentes na composição corporal como padrão para formulação das dietas experimentais (Mambrini & Kaushik, 1995; Akiyama *et al.*, 1997; Green & Hardy, 2002), pois esse perfil apresenta alta correlação com os padrões encontrados na literatura para diversas espécies (Wilson, 2002). Estudos recentes com a utilização de aminoácidos cristalinos visam a suplementação de dietas desbalanceadas (Hu *et al.*, 2008; Abimorad *et al.*,2009; Silva *et al.*,2009; Righetti, *et al.*,2011; Bodin *et al.*,2012; Wacyk *et al.*,2012), a suplementação de dietas purificadas ou semipurificadas (Peres & Oliva-Teles, 2005; Nguyen & Davis, 2009b; Bodin *et al.*,2012), a digestibilidade das dietas suplementadas (Abimorad *et al.*,2010) e a exigência de aminoácidos

essenciais (Nguyen & Davis 2009a; Peres & Oliva-Teles, 2009; Grisdale-Helland *et al.*,2011). Esses estudos mostraram que o conhecimento na utilização de aminoácidos cristalinos tem demonstrado avanços, impulsionado pela grande importância para as indústrias que, certamente, é resultado do aumento da produção comercial de lisina e metionina (D’Mello, 1994). Contudo, estudos sobre as eficiências das fontes de lisina e metionina, aminoácidos mais limitantes, são necessários para o correto emprego desses aminoácidos nas dietas, buscando respostas através da digestibilidade, desempenho e eficiências nutricionais.

## 1. Introdução

Atualmente as fontes de lisina e metionina utilizadas na nutrição animal podem ser naturais, de origem animal ou vegetal, ou cristalinas como a L-lisina oriundo da fermentação, ou a DL-metionina oriunda de síntese química (NRC 2011). Os alimentos de origem animal apresentam alto teor proteico e balanço em aminoácidos, ácidos graxos, minerais e vitaminas; no entanto, alguns desses alimentos podem apresentar alta variação em sua composição devido ao processamento, em termos de proteína, gordura, cinzas e aminoácidos, podendo variar ainda quanto à digestibilidade e a disponibilidade destes nutrientes, afetando a qualidade e podendo prejudicar o desempenho dos peixes (Anderson *et al.*, 1995; Aksnes *et al.*, 1997 e Vergara *et al.*, 1999). As fontes alimentares ricas em lisina (L) e metionina (M) utilizadas atualmente em dietas práticas são de origem animal, como a farinha de peixe (L=4,04% e M= 1,40%), farinha de sangue (L=8,45 e M=1,05%) e farinha de vísceras (L=5,01% e M=1,34%) (Furuya, 2010).

A maioria dos países importadores de pescado apresenta preocupações em questões como a segurança alimentar e o desenvolvimento sócio-econômico (Valenti *et al.*, 2000). Portanto, não aceitam a utilização de subprodutos de origem animal, como a farinha de sangue, de vísceras e de carne e ossos, na composição de dietas utilizadas nas fazendas de criação.

A farinha de peixe é um subproduto da pesca e aquicultura marinha e está relacionada com o declínio das comunidades aquáticas (Naylor *et al.*, 2009), causando assim preocupação ambiental pois a aquicultura é o setor de produção animal que mais cresce no mundo. A produção mundial desse subproduto é estável, em torno de seis milhões de toneladas por ano, o que tem elevado seu custo (FAO, 2009). No Brasil, as indústrias de rações comerciais para a tilápia-do-Nilo têm substituído total ou parcialmente a farinha de peixe, em função do custo elevado, por farinhas de carne e de vísceras (Furuya, 2010), podendo também utilizar as farinhas de pena e sangue como possíveis substitutos. Entretanto a digestibilidade aparente da proteína e de aminoácidos destes ingredientes são menores quando comparados a da farinha de peixe (Furuya & Furuya, 2010).

Analisando mundialmente essas desvantagens, os estudos atuais visam a substituição da farinha de peixe por outros ingredientes que proporcionem o mesmo desempenho produtivo (Naylor *et al.*, 2009), com o objetivo de diminuir os custos e a excreção não somente de compostos nitrogenados, mas também de fósforo, que são responsáveis pela eutrofização da água. Em casos extremos resulta em diminuição da qualidade de água e mortalidade dos peixes (Cain & Garling, 1995). Portanto, os ingredientes de origem vegetal têm recebido grande atenção como potenciais substitutos (Pezzato *et al.*, 2009).

Farinhas de origem vegetal, em sua maioria, podem apresentar fatores antinutricionais, menor digestibilidade e desbalanço ou deficiência em um ou mais aminoácidos (Francis *et al.*, 2001). Assim, há necessidade de recorrer ao uso da suplementação com aminoácidos cristalinos, para que as exigências da espécie sejam atendidas e as dietas apresentem melhor aproveitamento pelos animais. Contudo, há a necessidade de estudos com a utilização de aminoácidos cristalinos no desempenho, digestibilidade e eficiências de retenção em várias espécies de peixes. Atualmente, existem poucas informações sobre a digestibilidade dos aminoácidos presentes nos alimentos utilizados em rações para peixes e, principalmente, sobre a digestibilidade, o emprego e a assimilação dos aminoácidos sintéticos e esses estudos podem proporcionar respostas aos nutricionistas para a obtenção de dietas completas (Abimorad, 2008) sem a utilização da farinha de peixe, com uso de ingredientes vegetais e suplementação adequada que permite a obtenção de dietas menos poluentes e mais econômicas.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Geral:**

Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos da utilização de fonte cristalina em dietas como alternativa para as fontes naturais de lisina e metionina sobre a digestibilidade, o desempenho produtivo e a eficiência nutricional de juvenis de tilápia-do-Nilo.

### **2.2 Específicos:**

Avaliar o desempenho produtivo da utilização de fontes natural (uma dieta prática contendo farinha de peixe), e cristalina (dietas sem a adição da farinha de peixe, mas com níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinas);

Determinar a digestibilidade dos aminoácidos lisina e metionina em dietas, comparando as fontes, cristalina e natural.

Analisar os efeitos da suplementação em diferentes níveis de lisina e metionina cristalinas com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos nas dietas sobre a eficiência nutricional;

### 3. Materiais e métodos

O estudo foi realizado no Centro de Aquicultura da UNESP - Universidade Estadual Paulista, Câmpus Jaboticabal, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, por meio de dois ensaios experimentais: o primeiro sobre o desempenho produtivo, a eficiência de retenção de nutrientes, dos índices fisiológicos e composição corporal dos juvenis de tilápia-do-Nilo num período de 85 dias, e o segundo, subsequente, de digestibilidade da proteína e energia bruta, e de dois aminoácidos das dietas experimentais com duração de 15 dias.

#### 3.1 Ensaio experimental 1- desempenho produtivo

A utilização dos aminoácidos limitantes, metionina e lisina, foi estudada com o uso de seis dietas experimentais, balanceadas de acordo com NRC (2011), correspondentes a duas fontes de aminoácidos: natural e cristalina. Primeiramente, foi formulada uma dieta prática (Tabela 3 - D1) com ingredientes de origem animal (farinha de peixe) e origem vegetal (28,04% de proteína bruta; 4032kcal/kg de energia bruta; 4,90% de extrato etéreo e 6,12% de fibra bruta). Em seguida, para formulação das outras cinco dietas, em que foi retirada a fonte proteica de origem animal houve a suplementação de lisina (0, 22, 46, 68 e 91%) e metionina cristalinas (0, 13, 30, 43 e 56%), como mostra a Tabela 1. A mistura de ingredientes vegetais dessas cinco rações corresponde a 70% do fornecimento de metionina e 54% de lisina, com base na exigência nutricional da espécie, como descrito abaixo.

**D1-** Dieta controle, composta por farinha de peixe e mistura de ingredientes de origem vegetal (milho, farelo de soja, farelo de trigo, glúten de milho e quirera de arroz) e não há suplementação com aminoácidos cristalinos.

**D2-** Dieta deficiente, sem suplementação (0%) de lisina e metionina cristalinos

**D3-** Dieta deficiente com suplementação de 22% de lisina e 13% de metionina cristalinos.

**D4-** Dieta atendendo a exigência, com suplementação de 46% de lisina e 30% de metionina cristalinos.

**D5-** Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 68% de lisina e 43% de metionina cristalinos.

**D6-** Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 91% de lisina e 56% de metionina cristalinos.

**Tabela 1.** Tratamentos experimentais mostrando o fornecimento de aminoácidos das fontes – natural ou cristalino.

Tratamentos	Natural (%)		Cristalino (%)		Total (%)	
	Lisina	Metionina	L-lisina	DL-metionina	Lisina	Metionina
<b>D1</b>	1,53	0,53	0	0	<b>1,53</b>	<b>0,53</b>
<b>D2</b>	0,83	0,37	0	0	<b>0,83</b>	<b>0,37</b>
<b>D3</b>	0,83	0,37	0,35	0,07	<b>1,18</b>	<b>0,44</b>
<b>D4</b>	0,83	0,37	0,70	0,16	<b>1,53</b>	<b>0,53</b>
<b>D5</b>	0,83	0,37	1,05	0,23	<b>1,88</b>	<b>0,60</b>
<b>D6</b>	0,83	0,37	1,40	0,30	<b>2,23</b>	<b>0,67</b>

Os peixes foram alimentados a vontade três vezes ao dia, às 08h00min, 13h00min e 18h00min, durante 85 dias. As biometrias foram realizadas mensalmente. Os parâmetros físico-químicos da água foram mensurados semanalmente e mantidos dentro dos padrões para criação da espécie: médias de temperatura de  $29,81 \pm 1,38^{\circ}\text{C}$ ; oxigênio dissolvido de  $4,81 \pm 1,36 \text{ mg.L}^{-1}$ ; condutividade de  $81,03 \pm 1,68 \mu\text{S/cm}^2$ ; e pH de  $7,23 \pm 0,29$ ; segundo Kubitza (2000).

Para cada parcela experimental, foram avaliados os resultados de desempenho de produção, de eficiência de retenção de nutriente, de composição corporal e de índices fisiológicos descritos abaixo:

$$\text{Ganho em peso diário (GPD)} = \frac{(\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{tempo(em dias)}} \text{ em g}$$

$$\text{Consumo diário de ração (CDR)} = \frac{\text{consumo de alimento}}{\text{tempo(em dias)}} \text{ em g}$$



$$\text{Convers\~{a}o alimentar (CA)} = \frac{\text{consumo de alimento}}{\text{ganho em peso total}}$$

$$\text{Taxa de crescimento espec\~{i}fico (TCE)} = \frac{\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial} \times 100}{\text{tempo}} \quad \text{em \%} \cdot \text{dia}^{-1}$$

$$\text{Taxa de efici\~{e}ncia proteica (TEP)} = \frac{\text{ganho em peso vivo}}{\text{prote\~{i}na bruta consumida}}$$

$$\text{Efici\~{e}ncia de reten\~{c}\~{a}o de prote\~{i}na bruta (ERP)} = \frac{(\text{PB}_{fc} \times \text{PF}) - (\text{PB}_{ic} \times \text{PI}) \times 100}{\text{Consumo de PB}} \quad \text{em \%}$$

$$\text{Efici\~{e}ncia de reten\~{c}\~{a}o de lip\~{i}deos (ERE)} = \frac{(\text{EE}_{fc} \times \text{PF}) - (\text{EE}_{ic} \times \text{PI}) \times 100}{\text{Consumo de EE}} \quad \text{em \%}$$

$$\text{Efici\~{e}ncia de reten\~{c}\~{a}o de energia bruta (EREB)} = \frac{(\text{EB}_{fc} \times \text{PF}) - (\text{EB}_{ic} \times \text{PI}) \times 100}{\text{Consumo de EB}} \quad \text{em \%}$$

$$\text{Efici\~{e}ncia de reten\~{c}\~{a}o de lisina (ERL)} = \frac{(\text{L}_{fc} \times \text{PF}) - (\text{L}_{ic} \times \text{PI}) \times 100}{\text{Consumo de L}} \quad \text{em \%}$$

$$\text{Efici\~{e}ncia de reten\~{c}\~{a}o de metionina (ERM)} = \frac{(\text{M}_{fc} \times \text{PF}) - (\text{M}_{ic} \times \text{PI}) \times 100}{\text{Consumo de M}} \quad \text{em \%}$$

$$\text{\u00cdndice hepato - som\u00e1tico (IHS)} = \frac{\text{P}_{\text{f\~{i}gado}}}{\text{P}_{\text{tpeixe}}} \times 100 \quad \text{em \%}$$

$$\text{Indice gorduro - v\~{i}scero - som\u00e1tico (IGVS)} = \frac{\text{P}_{\text{gv}}}{\text{P}_{\text{tpeixe}}} \times 100 \quad \text{em \%}$$

Sendo:

fc= m\u00e9dias de teor do nutriente final na carca\u00e7a

ic= m\u00e9dias do teor do nutriente inicial na carca\u00e7a

PF=peso final

PI=peso inicial

Pf\u00edgado=peso do f\u00edgado

Pt= peso total do peixe

Pgv= peso da gordura visceral

L=lisina

M=metionina

PV= peso vivo

### 3.2. Ensaio experimental 2 – Ensaio de digestibilidade.

Os peixes foram submetidos ao período de adaptação de dez dias as dietas experimentais. Neste período, as dietas experimentais, contendo 1% de óxido de cromo III ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) foram fornecidas durante sete dias aos peixes do mesmo tratamento, até a saciedade aparente, três vezes ao dia, nos horários de 8:00, 13:00 e 18:00h, (com exceção ao dia anterior a coleta, no qual os peixes foram alimentados quatro vezes, as 8:00h, 13:00h, 18:00h e 22:00h). Na manhã do oitavo dia do período experimental, os peixes foram alimentados as 8:00h, e após 30 minutos foram transferidos para os coletores de fezes. A coleta de fezes foi realizada, a cada 30 minutos, em 12 coletores de fibra de vidro, com aproximadamente 80L de capacidade, equipados com sistema de circulação contínua de água, , construídos de acordo com sistema de Gheph modificado, segundo Abimorad & Carneiro (2004),

As amostras coletadas de cada aquário foram armazenadas em freezer (-20°C) até posteriores análises. Ao terminar a fase de coleta de fezes de todos os tratamentos e de todos os aquários, as amostras foram liofilizadas, e após a retirada de escamas e foram moídas em moinho de bola.

Foram avaliados os coeficientes de digestibilidade da proteína, da energia e dos aminoácidos lisina e metionina das seis dietas correspondentes ao ensaio anterior. O coeficiente de digestibilidade aparente das rações (CDA) foi estimado segundo Nose (1966)

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

### 3.3. Dietas Experimentais

A suplementação dos aminoácidos cristalinos de lisina e metionina foi estudada em comparação com o uso dos aminoácidos ligados a proteína da farinha de peixe, utilizando seis dietas experimentais (Tabela 2 e 3) balanceadas de acordo com NRC (2011). Para que não houvesse interferência nas respostas, pela deficiência dos aminoácidos essenciais (exceto lisina e metionina), todos os níveis obtidos na dieta prática foram os mesmos em todas as dietas, sendo:

arginina (1,98%), treonina (1,18%), isoleucina (1,09%), leucina (2,12%), valina (1,12%), histidina (0,70%) e fenilalanina (1,18%). Para o processamento das rações, todos os ingredientes foram finamente moídos em moinho martelo, com peneira de porosidade padrão de 0,5 mm de diâmetro, sendo posteriormente pesados, homogeneizados e umedecidos. A mistura foi peletizada em moinho de carne e desidratada em estufa de ventilação forçada (55°C), durante 24 horas. Os péletes foram fracionados para facilitar a ingestão pelos peixes.

**Tabela 2.** Formulação das dietas experimentais (valores com base na matéria natural)

Ingredientes (%)	Tratamentos					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Farinha de Peixe 64*	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Farelo de soja	30,00	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Milho	18,00	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00
Farelo de trigo	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
Glúten de milho 61*	3,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Quirera de arroz	16,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Celulose microfina <sup>(1)</sup>	4,99	3,51	3,51	3,51	3,51	3,51
Ac. Glutâmico	3,28	8,48	8,06	7,61	7,18	6,76
Óleo de soja	1,06	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Óleo de peixe	1,06	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Fosfato bicálcico	1,30	3,25	3,25	3,25	3,25	3,25
Calcário	1,57	1,68	1,68	1,68	1,68	1,68
Suplemento Vit. e Min. <sup>(2)</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
L-lisina 78	0,00	0,00	0,35	0,71	1,07	1,42
DL-metionina 98	0,00	0,00	0,07	0,16	0,23	0,30
L -treonina	0,17	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
L -arginina	0,00	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
L -isoleucina	0,00	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
L -histidina	0,06	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L -phenilalanina	0,01	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12

<sup>(1)</sup> PB=0,2%; FB=75,0% e EB=3.872kcal.kg<sup>-1</sup> (valores com base na MS)

<sup>(2)</sup> Cada 1% fornece: Vit A 2.500.000 UI, Vit D3 600.000 UI, Vit E 37.500 UI, Vit K3 3.750 mg, Vit C 50.000 mg, Tiamina B1 4.000 mg, Riboflavina B2 4.000 mg, Piridoxina B6 4.000 mg, Vit B12 4.000 mcg, Niacina 22.500 mg, Biotina 15 mg, Ác. Fólico 1.250 mg, Pantotenato de cálcio 12.000 mg, Cobre 2.500 mg, Cobalto 125 mg, Ferro 15 g, Iodo 375 mg, Manganês 12,5 g, Selênio 87,5 mg e Zinco 12,5 g

\* Teor de Proteína bruta

**Tabela 3.** Composição centesimal das dietas experimentais (valores com base nas análises dos ingredientes).

Composição centesimal <sup>(1)</sup>		Tratamentos					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6
Matéria seca	(%)	89,54	89,47	89,51	89,33	89,50	89,49
Matéria mineral	(%)	1,93	1,95	1,89	1,91	1,90	1,86
Proteína bruta	(%)	28,04	27,67	27,71	27,12	27,03	27,77
<i>Proteína digestível</i> <sup>2</sup>	(%)	25,24	24,79	24,63	23,39	23,67	23,94
Energia bruta	(kcal.kg <sup>-1</sup> )	4032	3952	3968	3946	3992	3998
<i>E. digestível</i> <sup>2</sup>	(kcal.kg <sup>-1</sup> )	2655	2576	2477	2178	2496	2382
Fibra bruta	(%)	6,12	5,68	5,63	5,69	5,61	5,65
Extrato etéreo	(%)	4,90	4,11	4,36	4,08	4,16	4,02
ENN <sup>3</sup>	(%)	42.26	48.72	48.72	48.71	48.71	48.70
Ca	(%)	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
P	(%)	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
<b>Composição aminoacídica<sup>(4)</sup></b>							
DL-metionina	(%)	0,53	0,37	0,44	0,53	0,60	0,67
L-lisina	(%)	1,53	0,83	1,18	1,53	1,88	2,23
L-treonina	(%)	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18
L-arginina	(%)	1,98	1,98	1,98	1,98	1,98	1,98
L-isoleucina	(%)	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09
L-leucina	(%)	2,12	2,12	2,12	2,12	2,12	2,12
L-valina	(%)	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
L-histidina	(%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
L-phenilalanina	(%)	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18

<sup>(1)</sup> Composição bromatológica analisada dos ingredientes.

<sup>(2)</sup> Valores calculados com base no ensaio de digestibilidade

<sup>(3)</sup> ENN= 100 - (%umidade + %PB + %FB + %EE + %MM)

<sup>(4)</sup> Composição calculada a partir das análises aminoacídicas dos ingredientes.

### 3.4 Material biológico e instalações

Foram utilizados 192 juvenis de tilápia-do-Nilo revertidos, com peso médio de 5,27±0,25 gramas, divididos em 24 caixas de fibrocimento com capacidade de 100 litros cada, com oito peixes. Para o ensaio de digestibilidade foram adquiridos 576 juvenis de tilápia-do-Nilo com peso médio de 9,45±3,38 gramas. Subsequentemente foram distribuídos em 24 caixas de fibra de vidro com

capacidade de 450 litros cada. A água dos aquários foi mantida sob aeração constante, e a renovação de água das caixas foi de aproximadamente 3,5 vezes ao dia, com água proveniente de poço artesiano. A cada dois dias, foram realizados a sifonagem dos aquários para a retirada dos resíduos de alimento e fezes, com a finalidade de manter os parâmetros físico-químicos da água.

### **3.5. Análise da composição corporal**

Inicialmente, foi coletada uma amostra constituída de um grupo de 30 juvenis de  $5,27 \pm 0,25$ g. Ao final do período de desempenho, foram sacrificados todos os peixes de cada parcela experimental para determinação da composição corporal e de índices fisiológicos.

Estes peixes permaneceram em jejum por 48 horas para o esvaziamento gástrico, e logo após, foram anestesiados por imersão em gelo e eutanaziados. O peso do fígado e da gordura visceral dos peixes foram avaliados para cálculo do índice hepato-somático e do índice gorduro-viscero-somático. Posteriormente, os peixes foram moídos, congelados e liofilizados, para a determinação da umidade, cinzas, proteínas, lipídios e composição aminoacídica.

### **3.6. Análises Laboratoriais**

As análises de extrato etéreo foram feitas segundo o método de Soxhlet e as de proteína bruta, pelo método de Kjeldahl, ambas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da UNESP. As análises de energia bruta (bomba calorimétrica de Parr) foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal. As análises de aminoácidos totais foram realizadas por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC), no Laboratório de Fontes Proteicas, Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição na Faculdade de Engenharia de Alimentos UNICAMP/Campinas. As concentrações de óxido de crômio III das fezes e das rações foram determinadas por digestão nitro-perclórica, de acordo com a metodologia descrita por Furukawa & Tsukahara (1966).

### **3.7. Delineamento experimental e análises estatísticas**

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Foi testada a normalidade dos dados e também a homogeneidade da variância; com a confirmação dos dados normais e homogêneos aplicou-se a análise de variância (ANOVA). Encontrando diferenças significativas as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Somente os resultados para os níveis de suplementação de lisina e metionina foram submetidos à análise de regressão polinomial e de linear-platô. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Statistical Analyses System (SAS) versão 9.2.

## 4. Resultados

### 4.1 Ensaio experimental 1 - Desempenho produtivo

Na Tabela 4, encontram-se os valores médios de ganho em peso dos juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com diferentes fontes e teores de lisina e metionina das dietas. Os melhores resultados dos parâmetros de desempenho produtivo para ganho em peso diário (GPD), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência proteica (TEP) foram observados nos peixes que receberam o tratamento **D1**, mostrando que a suplementação com os dois aminoácidos cristalinos, independentemente dos níveis utilizados, não mostrou a mesma eficiência. A média de consumo diário de ração (CDR) dos peixes deste mesmo tratamento diferiu significativamente apenas da média do tratamento **D5**, revelando que foi satisfatório em todos eles. A média de CA dos peixes do tratamento **D1** também foi melhor e apresentou diferença significativa, comparado aos dos peixes dos tratamentos **D2** e **D3**.

**Tabela 4.** Médias dos parâmetros de desempenho produtivo para as diferentes fontes e níveis de suplementação de lisina e metionina em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo.

Tratamentos	GPD	CDR	CA	TCE	TEP
<b>D1</b>	0,91±0,07a	7,21±1,13a	1,20±0,30a	3,23±0,06a	2,91±0,21a
<b>D2</b>	0,49±0,04c	6,26±1,57ab	1,59±0,39b	2,74±0,13c	1,79±0,12c
<b>D3</b>	0,53±0,09bc	6,33±0,81ab	1,58±0,36b	2,73±0,05c	1,91±0,25bc
<b>D4</b>	0,64±0,07bc	6,95±0,78ab	1,33±0,13ab	2,98±0,06b	2,23±0,22bc
<b>D5</b>	0,63±0,10bc	5,82±1,07b	1,36±0,43ab	2,97±0,18bc	2,32±0,31bc
<b>D6</b>	0,68±0,07b	6,64±0,66ab	1,29±0,29ab	3,02±0,09b	2,39±0,21b
<b>Valor de P</b>	<0,001*	0,013*	0,003*	<0,001*	<0,001*

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

GPD (ganho em peso diário)=(gd<sup>-1</sup>), CRD (consumo de ração diário)= (gd<sup>-1</sup>), CA (conversão alimentar), TCE (taxa de crescimento específico) = e TEP (taxa de eficiência proteica)

(n=8) **D1**: Dieta controle, composta por farinha de peixe e não há suplementação com aminoácidos cristalinos. **D2**: Dieta deficiente, sem suplementação (0%) de lisina e metionina cristalinos. **D3**: Dieta deficiente com suplementação de 22% de Lisina e 13% de Metionina cristalinos. **D4**: Dieta atendendo a exigência, com suplementação de 46% de Lisina e 30% de Metionina cristalinos. **D5**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 68% de Lisina e 43% de Metionina cristalinos. **D6**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 91% de Lisina e 56% de Metionina cristalinos.



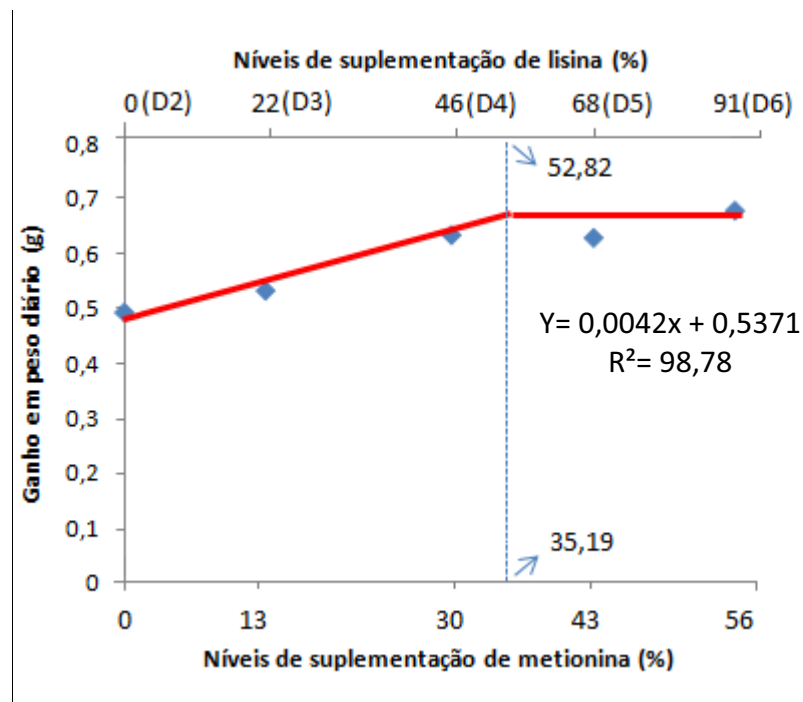
Como não houve correlação alta e significativa para regressão polinomial entre os resultados de ganho em peso diário, consumo de ração diário, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica em função dos níveis de suplementação dos aminoácidos limitantes, a análise dos dados foi realizada por regressão linear platô (LRP) como mostra a Tabela 5.

**Tabela 5.** Valores de P e R<sup>2</sup> da análise de regressão polinomial dos parâmetros de desempenho, eficiências nutricionais, índices fisiológicos e digestibilidade avaliados em juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com dietas suplementadas com lisina e metionina cristalinos.

Parâmetros	Regressão polinomial				Regressão linear platô
	Efeito linear	Efeito quadrático	Efeito cúbico	Efeito de 4º Grau	
<b>GPD</b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =79,90	P<0,001 R <sup>2</sup> =87,30	P<0,01 R <sup>2</sup> =93,10	ns	P<0,001 R <sup>2</sup> =98,78
<b>CRD</b>	ns	ns	ns	ns	ns
<b>CA</b>	ns	ns	ns	ns	P<0,001 R <sup>2</sup> =80,67
<b>TCE</b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =84,83	ns	ns	P<0,001 R <sup>2</sup> =100,00	P<0,01 R <sup>2</sup> =80,60
<b>TEP</b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =89,99	ns	ns	ns	P<0,001 R <sup>2</sup> =97,07
<b>ER<sub>PB</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =99,30	ns	ns	ns	ns
<b>ER<sub>EE</sub></b>	P<0,01 R <sup>2</sup> =73,20	ns	ns	ns	ns
<b>ER<sub>EB</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =88,70	ns	ns	ns	ns
<b>ER<sub>L</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =88,70	P=0,003 R <sup>2</sup> =98,40	ns	ns	ns
<b>ER<sub>M</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =87,30	ns	ns	ns	ns
<b>IHS</b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =86,36	P<0,001 R <sup>2</sup> =93,00	ns	ns	ns
<b>IGVS</b>	ns	ns	ns	ns	ns
<b>CDA<sub>PB</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =69,80	ns	ns	ns	ns
<b>CDA<sub>EB</sub></b>	ns	P<0,001 R <sup>2</sup> =83,90	ns	P<0,001 R <sup>2</sup> =100,00	ns
<b>CDA<sub>L</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =77,30	P=0,001 R <sup>2</sup> =86,70	P=0,01 R <sup>2</sup> =92,90	P=0,02 R <sup>2</sup> =100,00	ns
<b>CDA<sub>M</sub></b>	P<0,001 R <sup>2</sup> =74,60	ns	ns	P=0,03 R <sup>2</sup> =100,00	ns

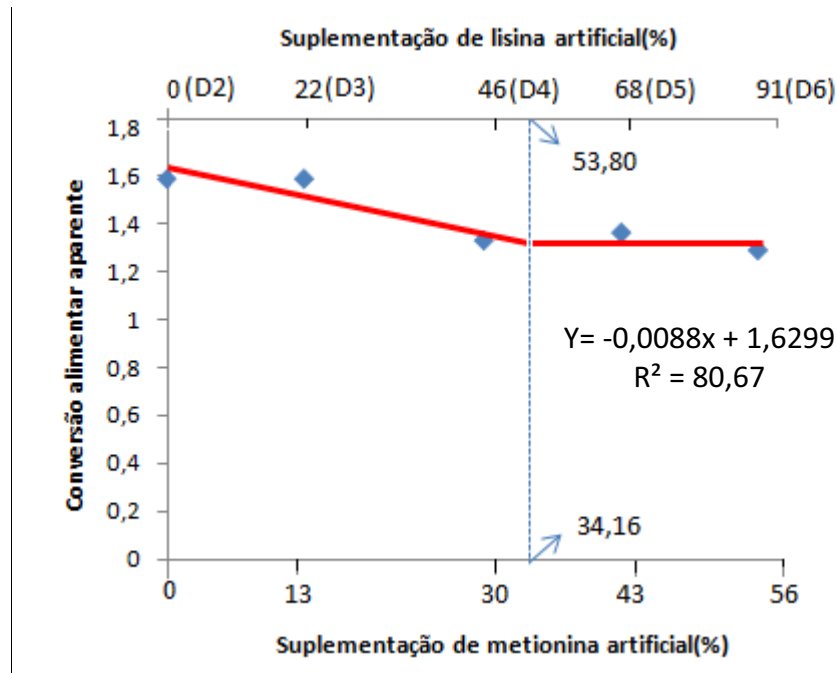
GPD (ganho em peso diário), CRD (consumo de ração diário), CA (conversão alimentar), ICA (índice de consumo alimentar), TCE (taxa de crescimento específico), TEP (taxa de eficiência proteica), ER<sub>PB</sub> (eficiência de retenção de proteína bruta), ER<sub>EE</sub> (eficiência de retenção de extrato etéreo), ER<sub>EB</sub> (eficiência de retenção de energia bruta), IHS (índice hepato-somático), IGVS (índice gorduro-víscero-somático), CDA<sub>PB</sub> (coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta), CDA<sub>EB</sub> (coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta), CDA<sub>L</sub> (coeficiente de digestibilidade aparente da lisina) e CDA<sub>M</sub> (coeficiente de digestibilidade da metionina). (n=8)

A análise de regressão para o ganho em peso diário (GPD), apresentada na Figura 1, mostra que houve resposta crescente até os níveis de 52,82% e 35,19% de suplementação com lisina e de metionina cristalinos, respectivamente ( $Y = 0,0042x + 0,5371$ ,  $R^2 = 98,78$ ), e valores superiores não diferenciaram entre si, mostrando que em excesso esses aminoácidos não são proporcionalmente aproveitados pelos peixes.



**Figura 1.** Análise de regressão linear platô para as médias de ganho em peso diário em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo.

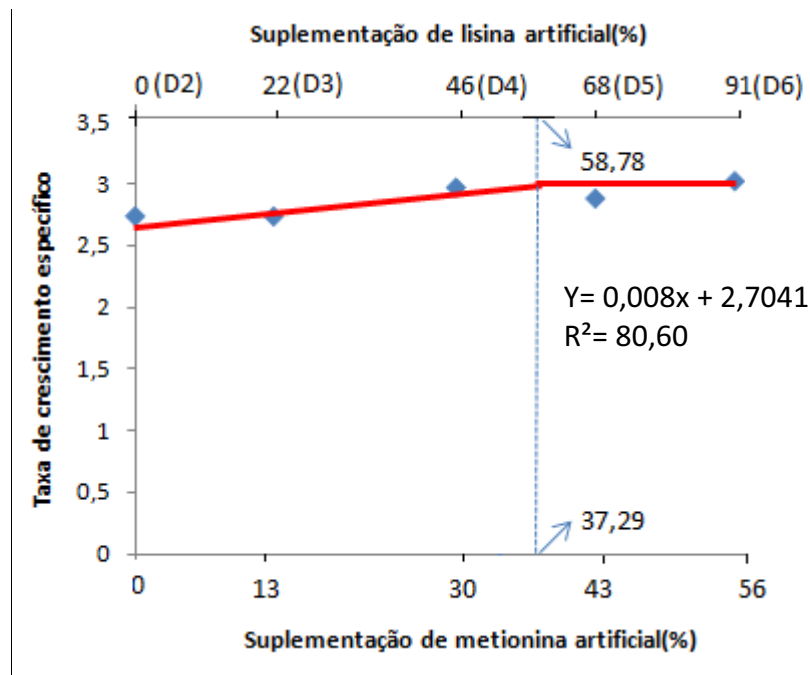
A análise de regressão para os resultados de conversão alimentar aparente está representada na Figura 2. Os níveis de suplementação apresentaram relação inversa, sendo decrescentes e melhores até os níveis de 53,80% e 34,16% de lisina e metionina cristalinos, respectivamente, em função do aumento dos níveis de suplementação destes aminoácidos cristalinos ( $Y = -0,0088x + 1,6299$ ,  $R^2 = 80,67$ ).



**Figura 2.** Análise de regressão linear platô para as médias de conversão alimentar aparente em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos em dietas para juvenis da tilápia-do-Nilo.

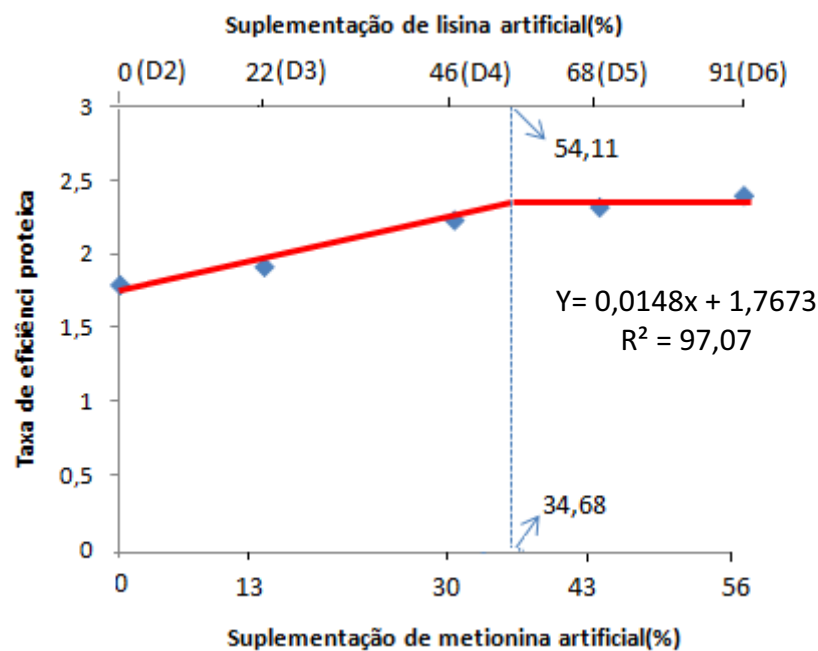
Apesar das diferenças ( $P < 0,05$ ) nas médias do consumo diário de ração (Tabela 4), aplicação da análise de regressão linear platô não apresentou efeitos significativos (Tabela 5).

A análise de regressão para os resultados de TCE, observada na Figura 3, demonstrou que os níveis crescentes de suplementação de lisina e metionina aumentaram a TCE até 58,78% e 37,29% de lisina e metionina, respectivamente ( $Y = 0,008x + 2,7041$ ,  $R^2 = 80,60$ ), quando níveis superiores não mostraram diferença ( $P < 0,05$ ). Mas o coeficiente de correlação não permite grande confiabilidade.



**Figura 3.** Análise de regressão linear platô para as médias da taxa de crescimento específico em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo.

A Figura 4 mostra os resultados da RLP para as médias de TEP dos peixes, observadas para os diferentes níveis de suplementação de lisina e metionina. Os resultados dos níveis de suplementação de aminoácidos cristalinos apresentaram respostas crescentes até o nível de 54,11% e 34,68% de lisina e metionina cristalinos, respectivamente ( $Y = 0,0148x + 1,7673$ ,  $R^2 = 97,07$ ), demonstrando que valores maiores de suplementação não afetaram proporcionalmente a eficiência proteica.



**Figura 4.** Análise de regressão linear platô para as médias da taxa de eficiência proteica em função dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos para juvenis de tilápia-do-Nilo.

Os resultados médios das eficiências de retenção de proteína bruta ( $ER_{PB}$ ), extrato etéreo ( $ER_{EE}$ ), energia bruta ( $ER_{EB}$ ), lisina ( $ER_L$ ) e de metionina ( $ER_M$ ) são apresentados na Tabela 6. As médias observadas para as dietas com diferentes

níveis de suplementação de lisina e metionina não apresentaram efeitos na análise de regressão linear platô. A análise de regressão polinomial apresentou efeitos lineares para  $ER_{PB}$  ( $Y = 1,625x + 12,78$ ;  $R^2 = 99,30$ ),  $ER_{EE}$  ( $Y = 0,081x + 40,95$ ;  $R^2 = 73,20$ )  $ER_{EB}$  ( $Y = 0,664x + 12,41$ ;  $R^2 = 88,70$ ) e  $ER_M$  ( $Y = -0,104x + 25,46$ ;  $R^2 = 87,30$ ), e efeito quadrático para  $ER_L$  ( $Y = 0,001x^2 - 0,272x + 27,11$ ;  $R^2 = 98,40$ ) (Tabela 5).

**Tabela 6.** Eficiências de retenção de proteína bruta ( $ER_{PB}$ ), de extrato etéreo ( $ER_{EE}$ ), de energia bruta ( $ER_{EB}$ ), de lisina ( $ER_L$ ) e de metionina ( $ER_M$ ) dos tratamentos experimentais.

Tratamentos	$ER_{PB}(\%)$	$ER_{EE}(\%)$	$ER_{EB}(\%)$	$ER^*_L(\%)$	$ER^*_M(\%)$
<b>D1</b>	27,06±6,20a	34,21±10,32a	17,14±4,71a	29,26±3,17a	31,18±2,08a
<b>D2</b>	14,61±6,86c	42,50±10,56b	13,75±4,77b	27,46±2,77a	26,36±1,81b
<b>D3</b>	16,11±1,09c	40,98±2,56ab	13,61±0,58b	20,98±1,53b	22,94±2,40bc
<b>D4</b>	17,30±1,77bc	41,75±1,74ab	14,51±0,66ab	18,67±1,62bc	22,67±1,62bc
<b>D5</b>	17,99±8,77bc	40,59±12,52ab	15,19±5,97ab	15,82±2,43c	20,25±2,36c
<b>D6</b>	21,07±1,80b	46,60±4,91b	16,13±1,24ab	15,34±1,09c	20,24±1,39c
<b>Valor de P</b>	<0,001	0,005	0,008	0,03	<0,001

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. **D1**: Dieta controle, composta por farinha de peixe e não há suplementação com aminoácidos cristalinos. **D2**: Dieta deficiente, sem suplementação (0%) de lisina e metionina cristalinos. **D3**: Dieta deficiente com suplementação de 22% de Lisina e 13% de Metionina cristalinos. **D4**: Dieta atendendo a exigência, com suplementação de 46% de Lisina e 30% de Metionina cristalinos. **D5**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 68% de Lisina e 43% de Metionina cristalinos. **D6**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 91% de Lisina e 56% de Metionina cristalinos.

\* Resultados de  $ER_L$  e  $ER_M$  são baseados nos valores calculados de lisina e metionina das dietas.

A média de  $ER_{PB}$  dos peixes entre os tratamentos suplementados com aminoácidos cristalinos **D2** e **D3** não diferiram entre si, e foram inferiores ( $P < 0,05$ ) quando comparados com a maior média observada com a dieta **D6** (Tabela 6).

Os valores médios de  $ER_{EE}$  não apresentaram diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos que tiveram diferentes níveis de suplementação, mas os peixes dos tratamentos **D2** e **D6** apresentaram os maiores valores médios ( $P < 0,05$ ), quando comparados aos dos peixes da dieta **D1**. Para os valores médios de  $ER_{EB}$  dos peixes, os tratamentos **D2** e **D3** não diferiram dos demais, exceto para os peixes que receberam a dieta **D1**. As médias da  $ER_L$  e da  $ER_M$  dos peixes diminuíram com o aumento do teor de suplementação com lisina e metionina cristalinos. As

médias de  $ER_M$  dos peixes do tratamento **D1** mostrou o melhor resultado e para as médias de  $ER_M$  os peixes dos tratamentos **D1** e **D2** obtiveram os melhores valores (Tabela 6).

Os resultados médios dos índices hepato-somático (IHS) e gorduro-viscero-somático (IGVS) são encontrados na Tabela 7. A análise de regressão polinomial apresentou efeito quadrático para os resultados de IHS ( $Y = 0,029x^2 - 0,120x + 1,45$ ;  $R^2 = 93,00$ ). Os peixes alimentados com a dieta contendo a farinha de peixe (**D1**) apresentaram os menores valores médios para IHS e IGVS. Entre os resultados médios do IHS dos peixes dos tratamentos suplementados **D2**, **D4**, **D5** e **D6**, nota-se que houve aumento significativo, quando comparados com o tratamento **D3**. Os resultados médios do IGVS dos peixes que receberam os tratamentos suplementados **D2** e **D5** são maiores e significativos quando comparados aos tratamentos **D3**, **D4** e **D6**.

**Tabela 7.** Médias do Índice Hepato-somático (IHS) e Índice Viscero-gorduro-somático (IVGS) em juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com dietas suplementadas com lisina e metionina cristalinos.

Tratamentos	IHS(%)	IGVS(%)
<b>D1</b>	1,14±0,06c	1,05±0,06c
<b>D2</b>	1,44±0,16ab	2,35±0,61a
<b>D3</b>	1,29±0,03bc	2,08±0,40b
<b>D4</b>	1,41±0,36ab	2,06±0,32b
<b>D5</b>	1,48±0,14a	2,27±0,31a
<b>D6</b>	1,46±0,37ab	1,99±0,48b
<b>Valor de P</b>	<0,001	<0,001

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. **D1**: Dieta controle, composta por farinha de peixe e não há suplementação com aminoácidos cristalinos. **D2**: Dieta deficiente, sem suplementação (0%) de lisina e metionina cristalinos. **D3**: Dieta deficiente com suplementação de 22% de Lisina e 13% de Metionina cristalinos. **D4**: Dieta atendendo a exigência, com suplementação de 46% de Lisina e 30% de Metionina cristalinos. **D5**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 68% de Lisina e 43% de Metionina cristalinos. **D6**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 91% de Lisina e 56% de Metionina cristalinos.

Os resultados médios de composição corporal dos juvenis de tilápia-do-Nilo são observados na Tabela 8. Nota-se que as médias dos teores de umidade e matéria mineral (MM) não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). Os peixes que receberam o tratamento **D1** apresentaram as menores médias de extrato etéreo (EE) e energia



bruta (EB) e a maior em proteína bruta (PB). O menor valor de PB foi encontrado nos peixes do tratamento **D2**, de EE foram maiores nos tratamentos **D3** e **D4**. O valor de EB foi o maior nos peixes do tratamento **D6**.

**Tabela 8.** Composição química corporal média dos juvenis de tilápia-do-Nilo com base na matéria seca.

Tratamentos	Umidade (%)	PB(%)	EE(%)	MM(%)	EB (kcal.kg <sup>-1</sup> )	Lisina(%)	Metionina(%)
Inicial	78,37±3,26	55,85±1,26	11,38±1,36	1,18±0,01	4.986±170,82	3,35±0,05	1,38±0,08
<b>D1</b>	65,29±0,97	55,62±1,50a	13,57±0,86a	1,29±0,02	5.424±107,93b	3,63±0,18a	1,34±0,06a
<b>D2</b>	61,84±3,17	44,36±2,38c	15,93±1,35ab	1,30±0,02	5.578±115,05ab	2,60±0,26c	1,11±0,10ab
<b>D3</b>	68,40±1,09	46,27±1,77bc	16,85±1,44b	1,29±0,04	5.646±107,57ab	2,69±0,12bc	1,10±0,11b
<b>D4</b>	67,39±1,59	46,44±2,57bc	16,54±1,47b	1,28±0,01	5.619±109,03ab	2,89±0,17bc	1,12±0,15ab
<b>D5</b>	66,52±1,78	47,21±4,38bc	15,56±1,51ab	1,29±0,03	5.564±122,63ab	2,95±0,07bc	1,25±0,09ab
<b>D6</b>	64,27±1,32	50,06±3,12b	16,30±0,97ab	1,30±0,01	5.682±98,900a	3,09±0,21b	1,22±0,10ab
<b>Valor de P</b>	0,13ns	<0,001	0,02	0,07ns	0,04	<0,001	0,03

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

**D1:** dieta controle, lisina e metionina oriundos de fonte natural, **D2:** dieta deficiente, não há suplementação (0%), lisina e metionina, **D3:** dieta deficiente, suplementada com 22% de L – lisina e 13% de DL-metionina. **D4:** dieta atendendo a exigência, suplementada com 46% de L – lisina e 30% de DL-metionina. **D5:** dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 68% de L – lisina e 43% de DL-metionina. **D6:** dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 91% de L – lisina e 56% de DL-metionina.

## 2 Ensaio experimental 2 - Ensaio de digestibilidade

Os valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta ( $CDA_{PB}$ ), energia bruta ( $CDA_{EB}$ ), lisina ( $CDA_L$ ) e metionina ( $CDA_M$ ) obtidos para tilápia-do-Nilo podem ser observados na Tabela 9.

Os peixes dos tratamentos **D1 e D2** apresentaram os maiores  $CDA_{PB}$  enquanto os dos tratamentos **D4 e D6** apresentaram destacadamente os menores valores. Esses resultados demonstraram que, com o aumento do teor de lisina e metionina cristalinos nas dietas, as médias do  $CDA_{PB}$  tendem a diminuir ( $P < 0,05$ ). Comparando-se as médias dos  $CDA_{EB}$  observados no ensaio com os juvenis de tilápia-do-Nilo, somente a média do tratamento **D1** diferiu das médias de **D4 e D6**, mostrando que também há diminuição nos valores de digestibilidade da EB com o aumento do teor desses aminoácidos cristalinos.

Os resultados médios dos CDA da lisina e metionina das dietas experimentais apresentaram respostas geralmente crescentes de digestibilidade com o aumento do teor de suplementação desses aminoácidos nas dietas que não continham a farinha de peixe. Os piores valores médios de CDA da lisina na dieta foram encontrados com os peixes alimentados com os tratamentos **D1 e D4**, que são os tratamentos que atendem a exigência da espécie. Nos resultados médios do CDA da metionina, somente os peixes do tratamento **D2**, o mais deficiente, diferiu de todos os outros, exceto **D4**, apresentando o pior CDA para esse aminoácido. Os resultados da análise de regressão para o  $CDA_{PB}$  apresentou efeito linear ( $Y = -0,057x + 89,33$ ;  $R^2 = 69,80$ ) e os resultados da análise de regressão para  $CDA_{EB}$  ( $Y = -4E-05x^4 + 0,004x^3 - 0,142x^2 + 0,956x + 65,17$ ;  $R^2 = 1$ ),  $CDA_L$  ( $Y = -1E-05x^4 + 0,001x^3 - 0,050x^2 + 0,782x + 90,30$ ;  $R^2 = 1$ ) e  $CDA_M$  ( $Y = -2E-05x^4 + 0,002x^3 - 0,099x^2 + 1,307x + 81,35$ ;  $R^2 = 1$ ) apresentaram efeito de 4º grau (Tabela 5).

**Tabela 9.** Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta ( $CDA_{PB}$ ), energia bruta ( $CDA_{EB}$ ), lisina ( $CDA_L$ ) e metionina ( $CDA_M$ ) das dietas experimentais para os juvenis de tilápia-do-Nilo.

Tratamentos	CDA (%)			
	PB	EB	L*	M*
<b>D1</b>	90,02±0,69a	65,85±2,12a	94,21±0,85c	88,40±1,82a
<b>D2</b>	89,58±1,12a	65,17±4,41ab	90,30±2,37d	81,35±2,76b
<b>D3</b>	88,87±2,08ab	62,42±6,27ab	94,46±0,99bc	86,86±2,98a
<b>D4</b>	86,24±0,73b	55,17±2,77c	94,22±0,60c	85,42±1,70ab
<b>D5</b>	87,57±2,22ab	62,52±2,91ab	95,90±0,19ab	89,43±1,27a
<b>D6</b>	86,21±1,13b	60,19±2,30bc	96,14±0,94a	89,09±2,55a
<b>Valor de P</b>	0,004	<0,001	>0,001	0,009

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. **D1**: Dieta controle, composta por farinha de peixe e não há suplementação com aminoácidos cristalinos. **D2**: Dieta deficiente, sem suplementação (0%) de lisina e metionina cristalinos. **D3**: Dieta deficiente com suplementação de 22% de Lisina e 13% de Metionina cristalinos. **D4**: Dieta atendendo a exigência, com suplementação de 46% de Lisina e 30% de Metionina cristalinos. **D5**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 68% de Lisina e 43% de Metionina cristalinos. **D6**: Dieta superior à exigência nutricional, suplementada com 91% de Lisina e 56% de Metionina cristalinos.

\* Resultados de CDAL e CDAM são baseados nos valores calculados de lisina e metionina das dietas.

## 5. Discussão

O valor nutricional dos aminoácidos cristalinos comparado ao dos aminoácidos ligados a proteína ainda é controverso na nutrição de organismos aquáticos para muitas espécies (Dabrowski & Guderley, 2002), e a tilápia-do-Nilo não é uma exceção.

Trabalhos utilizando a substituição da farinha de peixe (FP) por aminoácidos cristalinos são escassos na literatura. Ao contrário, são abundantes os estudos que utilizam a substituição dessa fonte de origem animal por fontes de origem vegetal, a procura de ingredientes alternativos que proporcionem desempenho produtivo tão bom quanto o da FP. A maioria dos resultados encontrados mostra que as fontes vegetais não preenchem nutricionalmente as exigências da espécie, necessitando assim da suplementação com aminoácidos cristalinos (Hu *et al.*,2008; Abimorad *et al.*,2009; Sardar *et al.*,2009; Silva *et al.*,2009; Righetti, *et al.*,2011; Bodin *et al.*,2012; Wacyk *et al.*,2012; ).

No presente estudo, a FP do tratamento **D1** determinou o melhor desempenho quando comparado a todos os outros, mostrando que a presença desse ingrediente favoreceu o melhor resultado, devido a sua composição que pode apresentar adequado balanço de aminoácidos, cálcio e fósforo, ácidos graxos, vitaminas e minerais (Novello *et al.*, 2008) Esse resultado esta de acordo com o de Meer *et al.* (1995) que utilizaram rações contendo farelo de soja (FS) ou FP como fontes protéicas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e observaram que a ração com FP proporcionou maior taxa de crescimento e maior peso final dos peixes. Resultados similares foram obtidos por Borghetti *et al.* (1991), utilizando rações com 23% de FP, ou tendo somente FS como fonte protéica em dietas para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) cultivado em tanques-rede; os autores observaram maiores valores de peso final, com a utilização de rações com FP. Por outro lado, resultados divergentes aos obtidos nesse trabalho foram encontrados por Mendonça *et al.* (1993), que não observaram diferença no desempenho de matrinxã (*Brycon cephalus*) alimentado com dietas contendo ou não FP. Faria *et al.* (2001) observaram piores valores das características de desempenho de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), com dietas contendo FP, em comparação à ração com apenas farelo de soja como fonte protéica.

A maioria dos trabalhos conduzidos nesta linha de pesquisa mostrou que o aumento da substituição dos aminoácidos ligados a proteína por aminoácidos cristalinos promoveu diminuição no desempenho, retenção de proteína e consumo (Aoe *et al.*, 1970; Barroso *et al.*, 1999; Dabrowski *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2006). A ausência da farinha de peixe das últimas cinco dietas do presente estudo promoveu esta mesma performance. Entretanto os resultados de desempenho e retenção de proteína dos peixes que receberam estas dietas com menores teores de lisina e metionina ligados à proteína geralmente foram melhorados pelo aumento da suplementação de aminoácidos cristalinos (Tabelas 4 e 6). As médias do consumo não variaram entre os peixes alimentados com as dietas experimentais (mesmo sem a farinha de peixe), exceto nos peixes do tratamento **D5** que teve a pior média. Os resultados da regressão linear platô (RLP) para as médias de ganho em peso mostraram que a suplementação de aminoácidos cristalinos em dietas deficientes dos dois aminoácidos limitantes (sem o uso da farinha de peixe) foi eficiente até o nível de complementação de 35,19% de lisina e 52,85% de metionina (Figura 1).

Os peixes alimentados com a dieta do tratamento **D2** apresentaram o menor ganho em peso quando comparado aos demais, comprovando que as deficiências destes aminoácidos limitantes interferem na utilização da proteína dietética (Wilson, 1981), pois junto com o tratamento **D3**, também deficiente, apresentaram geralmente os piores resultados de desempenho. Um fator que pode explicar, nesse estudo, o menor consumo da dieta do tratamento **D5** (quando comparado ao tratamento contendo a farinha de peixe) e a redução da eficiência de retenção de proteína nos juvenis alimentados com os tratamentos **D2** e **D3** (Tabela 6) seria o desbalanceamento de aminoácidos (Harper & Rogers, 1965). Righetti *et al.* (2011) afirmaram que nos tratamentos com maiores níveis de suplementação com aminoácidos cristalinos pode haver antagonismo entre os aminoácidos (e.g. lisina e arginina). Cowey (1994) apontou também possível influência da palatabilidade. Peres & Oliva-Teles (2007) confirmaram a redução no crescimento de juvenis de turbot, *Scophthalmus maximus*, alimentados com dietas com altos níveis em aminoácidos cristalinos, quando comparados aos com aminoácidos ligados a proteína. Neste estudo, estes fatores não podem ser descartados, pois só não influenciaram no consumo de ração.

As médias do ganho em peso dos peixes que receberam as dietas dos tratamentos sem farinha de peixe (**D2, D3, D4, D5 e D6**) foram inferiores quando comparadas com a dieta a base de aminoácidos ligados à proteína de origem animal (**D1**). Esse resultado para o desempenho pode ser comumente encontrado para tilápia-do-Nilo e outras espécies (Murai *et al.*, 1984; Ng *et al.*, 1996; Peres & Oliva-Teles, 2005; Dabrowsky *et al.*, 2007). No trabalho atual, analisando só a elevação dos níveis da suplementação de aminoácidos cristalinos, houve aumento significativo nas médias no GPD, CA, TCE, TEP, ER<sub>PB</sub>, ER<sub>EB</sub>, ER<sub>L</sub> e coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da lisina, e ainda diminuição nas médias de CDA da PB e da EB. Os resultados da digestibilidade da lisina e da metionina cristalinas geralmente aumentaram com seu nível de suplementação na dieta (Tabela 9). Entretanto as médias de digestibilidade da proteína das dietas suplementadas (Tabela 9) foram menores do que as da dieta com proteína de origem animal (D1) e da dieta de origem vegetal deficiente nestes aminoácidos limitantes (D2) para a tilápia-do-Nilo. Resultados de estudos de Abimorad *et al.* (2010), avaliando os coeficientes de digestibilidade da lisina oriunda da proteína da dieta e da L-lisina para o pacu foram contrários aos encontrados nesse estudo, pois os autores observaram o aumento nas médias de CDA da proteína em relação ao acréscimo de lisina nas dietas, enquanto que os CDA da L-lisina livre permaneceram praticamente constantes, o que também foi observado por Wang *et al.* (2005), ao estudar a digestibilidade aparente para carpa capim, *Ctenopharyngodon idella*. Possíveis razões para essa redução na utilização alimentar (digestibilidade da PB e EB) estão relacionadas à absorção e assimilação dos aminoácidos, pois as médias de CDR pelos peixes não diferiram na maioria dos tratamentos. De acordo com Zarate & Lovell (1997), os aminoácidos sintéticos podem ser perdidos por lixiviação, já que são altamente solúveis no meio aquático, em relação aos ligados à proteína, e esta perda pode mascarar os coeficientes de digestibilidade encontrados para as fontes cristalinas.

Os altos valores de IHS e IGVS dos peixes que receberam as dietas de origem vegetal com os diferentes níveis de suplementação (Tabela 7) confirmam o fato de que pode ter ocorrido maior taxa de catabolismo desses aminoácidos cristalinos (Baldisserotto, 2002), sendo direcionados, preferencialmente, para o metabolismo energético do que para a síntese de proteínas (Li & Robinson,

1998), reduzindo assim a eficiência de sua utilização, acumulando-se como lipídeos. Confirmando esse argumento, Choo *et al.* (1991) e Yamamoto *et al.* (2004) relataram altos valores de deposição de gordura visceral em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dietas contendo aminoácidos cristalinos em excesso.

As médias da TCE aumentaram com a elevação dos níveis de suplementação de lisina e metionina cristalinos (Tabela 4), mas nem mesmo o maior nível de suplementação (D6) superou a média de TCE dos peixes alimentados com o tratamento contendo somente aminoácidos ligados a proteína (D1). Da mesma forma, Takishita *et al.* (2009), também encontraram valores crescentes de TCE para a tilápia-do-Nilo com o aumento dos níveis de lisina digestível nas dietas. Twibell *et al.* (2003) relataram que as médias de TCE em peixes alimentados com dietas contendo aminoácidos cristalinos são geralmente inferiores àquelas de peixes alimentados com dietas contendo aminoácidos ligados à proteína. Corroborando com essa afirmação, há muitas outras evidências de que a utilização excessiva de aminoácidos sintéticos nas rações de baixo teor proteico pode não garantir a mesma eficiência de utilização dos aminoácidos oriundos de proteína intacta (NRC, 1993; Cowey, 1994; El-Husseiny *et al.*, 2002; Dabrowski & Guderley, 2002; Dabrowski *et al.*, 2003).

Os resultados para os valores médios de TEP encontrados no presente estudo são maiores que os encontrados por Peres & Oliva-Teles (2005) avaliando os efeitos da substituição da proteína da dieta por teores de aminoácidos cristalinos para juvenis de turbot, *Scophthalmus maximus*, e menores que os encontrados por Bodin *et al.* (2012), que estudaram a substituição da farinha de músculo de peixe da dieta por aminoácidos cristalinos para juvenis de truta arco-íris. Essa diferença encontrada pelos autores acima podem estar relacionadas ao tamanho do peixe, hábito alimentar e teor de proteína das dietas.

No presente estudo os aminoácidos ligados à proteína e os cristalinos compõem a mesma dieta nos tratamentos D3, D4, D5, e D6 e alguns autores afirmaram que pode haver interferência na absorção dos aminoácidos, pois os cristalinos, após a ingestão, apresentam picos precoces no plasma sanguíneo e os aminoácidos ligados à proteína, que precisam sofrer digestão, apresentam picos tardios (Yamada *et al.*, 1982; Murai *et al.*, 1984; Schuhmacher *et al.*, 1997).



Contudo, Nolles *et al.* (2009) sugeriram que as oxidações pós-prandiais de aminoácidos ligados à proteína e dos aminoácidos cristalinos são independentes, concordando com o conceito de que a absorção de aminoácidos pelo intestino, oriunda dessas duas fontes, ocorrem em diferentes lugares e tempo, não havendo interferência entre elas até quando compõem a mesma dieta.

Há várias dificuldades técnicas na utilização de aminoácidos cristalinos, e a primeira é a sua degradação pelos enterócitos e/ou pela microflora do trato gastrointestinal (Wu, 1998). A segunda está nas diferentes taxas de absorção dos aminoácidos cristalinos e dos ligados à proteína (Murai *et al.*, 1982). A terceira dificuldade é conseguir que haja disponibilidade de aminoácidos cristalinos para absorção (Barroso *et al.*, 1999). A quarta é a redução das perdas dos aminoácidos por lixiviação (Zarate & Lovell, 1997). Para que todas essas dificuldades técnicas sejam minimizadas é necessário atenção à formulação e ao processamento das dietas, ao manejo experimental (e.g. frequência de arraçoamento) e cuidados principalmente nas amostras coletadas, nas formas de armazenamento e na realização das análises aminoacídicas.

A suplementação de aminoácidos e a modulação de seus metabolismos ainda são desconhecidos; por isso, muitas pesquisas futuras são necessárias, pois com essas respostas podemos proporcionar novas estratégias para desenvolver dietas balanceadas em aminoácidos que podem compensar os impactos ambientais sobre os animais da aquicultura, melhorando ainda o desempenho produtivo e a rentabilidade (Li *et al.*, 2008).

## 6. Conclusão

Nas condições de realização do presente projeto com juvenis de tilápia-do-Nilo, os resultados observados permitem que sejam realizadas as seguintes conclusões:

1. A suplementação da dieta de origem vegetal com níveis crescente de lisina e metionina cristalinos melhorou o desempenho até atingir as exigências desses aminoácidos determinadas em literatura com valores ótimos de 35,19% de metionina e 52,82% para suplementação de lisina artificiais, respectivamente, mas não alcançaram o mesmo desempenho obtido pelos peixes alimentados com a fonte natural;

2. Os acréscimos nos níveis de lisina e metionina cristalinos em dietas de origem vegetal deficientes nestes aminoácidos limitantes elevou a eficiência de utilização de nutrientes ( $ER_{PB}$ ,  $ER_{EE}$  e  $ER_{EB}$ ) e os coeficientes de digestibilidade de lisina e de metionina das dietas experimentais;

4. De forma contrária, os valores médios de eficiência de retenção de lisina e metionina e os coeficientes de digestibilidade da proteína e energia bruta das dietas, decresceram, com a elevação gradual nos níveis de suplementação destes aminoácidos limitantes na dieta de origem vegetal deficiente.

## 7. Referências Bibliográficas

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Métodos de coletas de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia dos alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1101-1109, 2004.
- ABIMORAD, E. G. Digestibilidade e exigência de aminoácidos para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*. Tese (Doutorado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2008.
- ABIMORAD, E. G.; FAVERO, G. C.; CASTELLANI, D.; GARCIA, F.; CARNEIRO, D. J. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performanc, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 295:266-270. 2009
- ABIMORAD, E. G.; Favero, G. C.; Squassoni, G. H.; Carneiro, D. J. Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p. 370-377, 2010.
- AKIYAMA, T., OOHARA, I., YAMAMOTO, T. Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fishspecies (review paper). **Fisheries Science**, Tokyo, v. 63, p. 963– 970. 1997.
- AKSNES, A., IZQUIERDO, M. S., ROBAIANA, L. et al. Influence of fish meal quality and feed pellet on growth, feed efficiency and muscle composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 153, n. 3-4, p. 251-261, 1997.
- ALAM, M.D.S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M. et al., Methionine requeriment of juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v.31, n.4, p.618-626, 2000.
- ANDERSON, S., LALL, S.P., ANDERSON, D.M. et al. Availability of amino acids from various fish meals fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 138, n. 1-4, p. 291-301, 1995.
- ANDRIGUETTO, J. M. ; L. PERLY; I. MINARDI; A. GEMEAL; J.S. FLEMING; G.A. SOUZA, E A. BONA FILHO. Nutrição animal. 4ed.São Paulo: Editora Nobel, v. 1. 1990.
- AOE, H.; MASUDA, I.; ABE, I.; SAITO, T.; TOYODA, T.; KITAMURA, S. Nutrition of protein in Young carp. 1. Nutritive value of free amino acids. Bulletin of the **Japanese Society for the Science of Fish**, v. 36, p. 407-413. 1970.
- BALDISSEROTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: UFSM, 212p, 2002.
- BARROSO, J.B., PERAGON, J., GARCIA-SALGUERO, L., DE LA HIGUERA, M., LUPIANEZ, J.A. Variations in the kinetic behaviour of the NADPH-production systems in different tissues of the trout when fed on an amino-acid-based diet at

different frequencies. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Exeter, v. 31, p. 277–290, 1999.

BODIN, N.; DELFOSSE, G.; THU, T. T. N.; BOULNGÉ, E. L.; ABOUDI, T.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Effects of fish size and diets adaptation on growth performance and nitrogen utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) juveniles given diets based on free and/or protein-bound amino acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 356-357, p. 105-115, 2012.

BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. T. A.; DONZELE, J. L. Níveis de Lisina digestível, com base no conceito de proteína ideal, em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43. João Pessoa. Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006.

BOMFIM, M.A.D.; E.A.T LANNA, J.L. DONZELE, A.S. FERREIRA, F.B. RIBEIRO, E S.S. TAKISHITA. Exigências de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 783- 790.39:1-8. 2008.

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

BORGHETTI, J.R., LEPELEIRE, R.E.M., FERNANDEZ, D.R. Efeitos da origem da proteína no crescimento do pacu. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 51 p. 689-694, 1991.

CAIN, K., GARLING, D. L. Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. **The Progressive Fish Culturist**, Bethesda, v. 57(2), p. 114-119. 1995.

CARVALHO, E. D. Avaliação dos impactos da piscicultura em tanques-redes nas represas dos grandes tributários do alto Paraná (Tiête e Paranapanema): o pescado, a ictiofauna agregada e as condições limnológicas. Relatório Científico (FAPESP). Botucatu: FCA, UNESP, SP. 46p. 2006. Relatório Científico.

CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. Nutrición Canina y Felina. 1. Ed. Marid – Espana: Hacout Brace de Espana, S. A. 417p. 1997.

CHEN, H. Y.; LEU, Y. T.; ROELANTS, I. Effective supplementation of arginine in diets of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.108, p.87-95,1992.

CHANCE, R. E., MERTZ, E. T., AND HALVER, J. E. (1964). Nutrition of salmonid fishes. 12. Isoleucina, leucina, valina and phenylalanine requirements of Chinook salmon and interrelations between isoleucine and leucine for growth. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 83, p. 177-185, 1964

CHOO, P.; SMITH, T.; CHO, Y.; FERGUSON, H. Dietary excesses of leucine influence growth and body composition of rainbow trout. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 121, p. 1932-1939. 1991.

COWEY, C.B. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. **Aquaculture**, Amsterdam, v.124, p.1-11, 1994.

DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary metabolism. In: Dabrowski, K.; Lee, K.; Rinchar, J. The smallest vertebrate, teleost fish, can utilize synthetic dipeptide-based diets. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v.133, p.4225-4229, 2002

DABROWSKI, K., LEE, K.J., RINCHARD, J. The smallest vertebrate, teleost fish, can utilize synthetic dipeptide-based diets. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, p. 4225–4229. 2003.

DABROWSKI, K., ARSLAN, M.; TERJESEN, B. F.; ZHANG, Y. The effects of dietary indispensable amino acids imbalances on feed intake: Is there a sensing of deficiency and neural signaling present in fish? **Aquaculture**, Amsterdam, v. 268, p. 136-142. 2007.

DE LONG, D.C.; HALVER, J.E.; MERTZ, E.T. Nutrition of salmonid fishes: VI. Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.65, p.589-599, 1958.

DE LONG, D. C., HALVER, J. E., AND MERTZ, E. T. Nutrition of salmonid fishes. 10. Quantitative threonine requirements of Chinook salmon at two water temperatures. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 76, p. 174-178, 1962.

D'MELLO, J. P. F. Amino acid imbalances, antagonism and toxicities. In: Amino acids in farm animal nutrition. Wallingford: CAB International. cap. 4, p. 63-97. 1964.

EL-HUSSEINY, O.M.; GODA, A.M.A.S.; SULOMA, A.M. Utilization of amino acids in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. 1. Utilization efficiency of synthetic amino acid by Nile tilapia fry. **Veterinary Medical Journal**, Giza, v.50, n.1, p.47-59, 2002.

FAGBENRO, O. A.; BALOGUN, A.M.; FASAKIN, E. A. Dietary lysine requirement of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1882). **Journal of Applied Aquaculture**, v. 8, p. 71-77, 1998.

FAO Food and Agriculture Organization. The state of world fisheries and aquaculture 2008. Rome: FAO. 196p. 2009.

FARIA, A.C.E.A. HAYASHI, C.; GALDIOLI, E. M.; SOARES, C. M. Substituição parcial e total da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Acta Scientiarum, Maringá**, v. 23, n. 4, p. 835-840, 2001.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER. K. Antinutritional factors present plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 199, p. 197-227. 2001.

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

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

FURUYA, W.M.; C. HAYASHI, V.R.B. FURUYA, P.R. NEVES, L.C.R. SILVA, E D. BOTARO. Exigências de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, p. 885-889. 2001a.

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

FURUYA, W.M.; L.C.R. SILVA, P.R. NEVES, D. BOTARO, E.S. SAKAGUTI, E V.R.B. FURUYA. Exigências de metionina + cistina para alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1933-1937. 2004b.

FURUYA, W.M.; D. BOTARO, L.C.R. SILVA, T.S.C. SILVA, V.G. SANTOS, E V.R.B. FURUYA. Fitase em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (175 a 327g). **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 55, p. 161-170. 2006b.

FURUYA, W.M.; V.G. SANTOS, L.C.R. SILVA, E. FURUYA. V.R.B. Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, p. 937-942. 2006a.

FURUYA, W. F. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, 100 p. 2010.

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

GONÇALVES, G.S.; L.E. PEZZATO, M.M. BARROS, L. TACHIBANA, M.J.S. ROSA, E GUIMARÃES. Relação lisina digestível:proteína digestível em rações para tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, p. 2299-2305. 2009.

GRISDALE-HELLAND, B., HATLEN, B., MUNDHEIM, H., HELLAND, S.J. Dietary lysine requirement and efficiency of utilization for growth of Atlantic cod. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 315, p. 260-268, 2011.

GREEN, J.A., HARDY, R.W. The optimum dietary essential amino acid pattern for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), to maximize nitrogen retention and minimize nitrogen excretion. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 27, p. 97-108. 2002.

HALVER, J. E. Nutrition of salmonoid fishes. IV. An amino acid test diet for chinook salmon. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.62, p.245-254, 1957.

HALVER, J. E., DE LONG, D. C., AND MERTZ, E. T. Threonine and lysine requirements of Chinook salmon. **FASEB** 17: 1873 (abstr.), 1958.

- HARPER, A.E., ROGERS, Q.R. Amino acid imbalance. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 24, p. 173–190. 1965.
- HU, M.; WANG, Y.; WANG, Q.; ZHAO, M.; XIONG, B.; QIAN, X.; ZHAO, Y.; LUO, Z. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, p. 260-265. 2008.
- JACKSON, A. J.; CAPPER, B. S. Investigations into the requirements of tilapia *Sarotheron mossambicus* for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v.29, p.289-297, 1982.
- KASPER, C. S.; WHITE, M. R.; BROWN, P.B. Choline is required by Tilapia when methionine is not in excess. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.130, p.238-242, 2000
- KUBITZA, F. Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial. Jundiaí, 285 p. 2000.
- LAZZARI, R. Pontos críticos de manejo na Piscicultura. Sistemas de Produção Agropecuária a Ciências Agrárias, Animais e Florestais. Sistemas de Produção Agropecuária da UTFPR, Campus Dois Vizinhos, Dois Vizinhos – PR, 407 p, 2010.
- 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**, Amsterdam, v. 163, p. 297–307, 1998.
- LI, P.; KANGSEN, M.; TRUSHENSKI, J.; WU, G. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. Review Article. **Amino Acids**, Wien, v. 37, n.1, p. 43-53. 2008
- LIM, C. Effect of dietary pH on amino acid utilization by shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.114, p.293- 303, 1993.
- LOVELL, T., Nutrition and feeding of fish. New York, Van Nostrand Reinhold, NY. 1989.
- LOVSHIN, L. L. Tilapia Aquaculture in Brazil. In: COSTA-PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. (Ed.) Tilapia aquaculture in Americas 2. Baton Rouge: **The World Aquaculture Society**. p. 133-140. 2000.
- MAI, K.; ZHANG, L.; AI, Q.; ZHANG, C.; LI, H.; WAN, J.; LIUFU, Z. Dietary lysine requirement of juvenile seabass (*Lateolabrax japonicus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, p. 535-542. 2006.
- MAMBRINI, M., KAUSHIK, S.J. Partial replacement of dietary protein nitrogen with dispensable amino acids in diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109A, p. 469–477. 1995.
- MAYNARD, L.A; LOOSLY, J. K. Nutrição animal. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 550p. 1966.

MEER, M.B. *et al.* The effect of dietary protein level on growth, protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, v.26, n.12, p. 901-909, 1995.

MENDONÇA, J.O.J.; SENHORINI, J. A.; Fontes, N. A.; Cantelmo, O. A. Influência da Fonte protéica no crescimento do matrinxã, *Brycon cephalus* GUNTER, 1869 (TELEOSTEI CHARACIDAE), em viveiros. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.6, n.1, p.51-57, 1993

MPA, 2012. BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E AQUICULTURA BRASIL 2010. 128 p. 2010.

MUÑOZ-RAMIREZ, A. P. E CARNEIRO, D. J. 2002. Suplementação de lisina e metionina em dietas com baixo nível protéico para o crescimento inicial do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg) **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 909-916, 2002.

MURAI, T.; AKIYAMA, T.; OGATA, H.; HIRASAWA, Y.; NOSE, T. Effect of coating amino acid with casein supplemented to gelatin diet on plasma free amino acids of carp. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 48, p. 03-710. 1982.

MURAI, T., OGATA, H., TAKEUCHI, T., WATANABE, T., NOSE, T. Composition of free amino acid in excretion of carp fed amino acid diets and casein-gelatin diets. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 50, p. 1957–1958. 1984.

NAYLOR, R. L.; HARDY, R. W.; BUREAU, D. P.; CHIAU, A.; ELLIOT, M.; FARREL, A. P.; FORSTER, I.; GATLIN, D.; GOLDBURG, R.; HUA, K.; NICHOLAS, P. Feeding aquaculture in an era of finite resources. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v. 106, p. 15103-15110. 2009.

NG, W.K., HUNG, S.S.O., HEROLD, M.A. Poor utilization of dietary free amino acids by white sturgeon. **Fish Physiology and Biochemistry** v. 15, p. 131–142. 1996.

NGUYEN, T. N. AND DAVIS, D. A. Methionine Requirement in Practical Diets of Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 40, 3 Ju. 2009a.

NGUYEN, T. N. AND DAVIS, D. A. Re-evaluation of total sulphur amino acid requirement and determination of replacement value of cystine for methionine in semi-purified diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 15; p. 247-253. 2009b

NOLLES, J. A.; VERREIJEN, A. M.; KOOPMANSCHAP, R. E.; VERSTEGEN, M. W. A.; SCHREUS, V. V. A. M. Postprandial oxidative losses of free and protein-bound amino acids in diet: interactions and adaptation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 93, p. 431-438. 2009.



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, p.17. 1966.

NOVELLO, D., Ost, P. R., Fonseca, R. A., Neumann, M., Franco, S. G., Quintiliano, D. A. Avaliação bromatológica e perfil de ácidos graxos da carne de frangos de corte alimentados com rações contendo farinha de peixe ou aveia-branca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.37, n.9, p.1660-1668, 2008.

NRC National Research Council, Nutrient requirement of fish. Washington, National Academy Press, 114p.1993.

NRC National Research Council, Nutrient requirement of fish and shrimp. Washington, National Academy Press. 2011.

OVIE, S. O.; EZE, S. S. Lysine requirement and its effects on body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, ISSN 1816-4927 / DOI: 10.3923/jfas. 2012.

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

PERES, H. AND OLIVA-TELES, A. Effect of dietary essential amino acids pattern on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam v. 267, p. 119-128. 2007.

PERES, H. AND OLIVA-TELES, A. The optimum dietary essential amino acid profile for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam v. 296, p. 81-86. 2009.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACASOLI, D.M.; CYRINO, J.E.P. NUTRIÇÃO DE PEIXES. IN: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, p. 75-169. 2004.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FURUYA, W.M. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.38, p. 43-51, 2009.

PORTZ, L.; CYRINO, J. E. P. Digestibility of nutrients and amino acids of different protein sources in practical diets by largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802). **Aquaculture Research**, Holanda, v. 36, p. 1-9. 2004.

QUADROS, M.; E.A.T. LANNA, J.L. DONZELE, M.L.T. ABREU, F.B. RIBEIRO, AND S.S. TAKISHITA. Crude protein reduction and digestible methionine+cystine and threonine to digestible lysine ratios in diets for Nile tilapia fingerlings **Revista Brasileira de Zootecnia** v. 38, p. 1400-1406. 2009.

RIGHETTI, J. S.; FURUYA, W. M.; CONEJERO, C. I.; GRACIANO, T. S.; VIDAL, L. V. O.; MICHELLATO, M. 2011. Redução da proteína em dietas para tilápias-donilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de

proteína ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.40, n.3, p.469-476. 2011.

SANTIAGO C.B. & LOVELL R.T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 188, p. 1540-1546. 1988.

SARDAR, P.; ABID, M.; RANDHAWA, H. S.; PRABHAKAR, S. K. Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth nutrient utilization, carcass composition and haemato-biochemical status in Indian Major Carp, Rohu (*Labeo rohita* H.) fed soy protein-based diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 15; p. 339-346. 2009.

SCHUHMACHER, A.; WAX, C.; GROPP, J. M. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. **Aquaculture**, Amsterdam, v.151, p.15-28, 1997.

SEGOVIA-QUINTERO, M. A.; REIGH, R. C. Coating crystalline methionine with tripalmitinpolyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 238, p. 355-367, 2004.

SILVA, J. M. G.; ESPE, M.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; DIAS, J.; VALENTE, L. M. P. 2009. Senegalese sole juvenile (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) grow equally well on diets devoid of fish meal provided the dietary amino acids are balanced. **Aquaculture**, Amsterdam v. 296, p. 309-317. 2009.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. DUKES: Fisiologia dos animais domésticos. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 856p.

TAKISHITA, S.S.; E.A.T. LANNA, J.L. DONZELE, M.A.D. BOMFIM, M. QUADROS, E M.P. SOUZA. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia do- nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38 p. 2099-2105. 2009.

TWIBELL, R.G., GRIFFIN, M.E., MARTIN, J., PRICE, J. & BROWN, P.B. Predicting dietary essential amino acid requirements for hybrid striped bass. **Aquaculture Nutrition**, v. 9, p. 373-381. 2003.

VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A. AND BORGHETTI, J. R. (Ed.). Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília. CNPq/MCT, 399p. 2000.

VERGARA, J.M., LOPEZ-CALERO, G., ROBAINA, L. Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality. **Aquaculture**, Amsterdam v. 179(1-4), p. 35-4. 1999.

VIOLA, S.; ANGEONI, H.; LAHAV, E. Present limits of protein sparing by amino acid supplementation of practical carp and tilapia feeds. **Journal Aquaculture**, Haifa, v.46,p.203- 211, 1994.

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

- ZHANG, Y., DABROWSKI, K., HLIWA, 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.
- ZHOU, X. Use of synthetic lysine in fish feeds: a review on research and application. *Feed Ind* v.27, p. 1-7. 2005.
- WACYK, J.; POWELL, M.; RODNICK, K.; OVERTURF, K.; HILL, R. A.; HARDY, R. 2012. Dietary protein source significantly alters growth performance, plasma variables and hepatic gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amino acid balanced diets. **Aquaculture**, Amsterdam v. 356-357, p. 223-234. 2012.
- WANG, S.; LIU, Y. J.; TIAN, I. X.; XIE, M. Q.; YANG, H. J.; WANG, Y.; LIANG, G. Y. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, Amsterdam v. 249, p. 419-429. 2005.
- WILSON, R.P. Amino acid and protein requirements of fish. In: El-Sayed e Teshima, C.B.; Mackie, A.M.; Bell, J.G. **Nutrition and feeding of fish**. Academic Press, London, 1981. p.1-16. 1981.
- WILSON, R.P.; POE, W.E. Relationship of whole and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Compendium Biochemistry Physiology**, v.80B, p.385-388,1985.
- WILSON, R. P. Amino acids and proteins. In: Fish Nutrition, 3rd Ed. New York Academic Press. Halver, J. E., Hardy, R. W. p. 143-179. 2002
- WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1249-1252. 1998.
- YAMADA, S. Plasma amino acid changes in rainbow trout force-fed casein and corresponding amino acid mixture. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v.47, p.1035-1040, 1981.
- YAMADA, S., TANAKA, Y., KATAYAMA, T., SAMESHIM, M., SIMPSON, K.L. Plasma amino acid changes in *Tilapia nilotica* fed a casein and a corresponding free amino acid diet. **Bulletin of Japanese Society of Fisheries Science**. v. 48, p. 1783–1787. 1982.
- YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H. Antagonistic effects of branched-chain amino acids induced by excess protein-bound leucine in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam v. 232, p. 539-550. 2004.
- YAMAMOTO, T.; SUGITA, T.; FURUITA, H. Essential amino acid supplementation to fish meal-based diets with low protein to energy ratios improves the protein utilization in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, Amsterdam v.246, p.379-391, 2005.
- .