

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**PERFIL IDEAL DE AMINOÁCIDOS
ESSENCIAIS EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-
NILO, NA FASE DE TERMINAÇÃO, PELO
MÉTODO DE DELEÇÃO**

Andressa Tellechea Rodrigues

Jaboticabal, São Paulo

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**PERFIL IDEAL DE AMINOÁCIDOS
ESSENCIAIS EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-
NILO, NA FASE DE TERMINAÇÃO, PELO
MÉTODO DE DELEÇÃO**

Andressa Tellechea Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes

Coorientador: Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano

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, São Paulo

2019

R696p Rodrigues, Andressa Tellechea
Perfil ideal de aminoácidos essenciais em dietas para tilápia-do-Nilo, na fase de terminação, pelo método de deleção / Andressa Tellechea Rodrigues. – – Jaboticabal, 2019
vi, 74 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2019
Orientador: João Batista Kochenborger Fernandes
Coorientador: Cleber Fernando Menegasso Mansano
Banca examinadora: Dalton José Carneiro, Eduardo Abimorad
Bibliografia

1. Nutrição. 2. Aminoácidos essenciais. 3. *Oreochromis niloticus*. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.043

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Jaboticabal/SP - Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Perfil Ideal de AminoÁcidos Essenciais em Dietas para Tilápia-do-Nilo, na fase de TERminação, pelo Método de Deleção

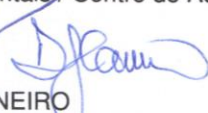
AUTORA: ANDRESSA TELLECHEA RODRIGUES

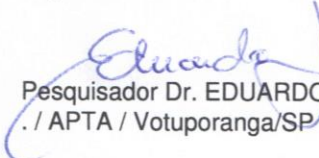
ORIENTADOR: JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES

COORIENTADOR: CLEBER FERNANDO MENEGASSO MANSANO

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


Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aquicultura - CAUNESP


Prof. Dr. DALTON JOSÉ CARNEIRO
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal/ UNESP


Pesquisador Dr. EDUARDO GIANINI ABIMORAD
/ APTA / Votuporanga/SP

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2019.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	i
Lista de Tabelas.....	ii
Dedicatória.....	01
Agradecimentos	02
Apoio financeiro	04
 CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	 05
1. Proteína e aminoácidos	05
1.1. Aminoácidos essenciais.....	07
1.1.1. Arginina.....	07
1.1.2. Fenilalanina.....	08
1.1.3. Histidina	09
1.1.4. Isoleucina.....	10
1.1.5. Leucina	11
1.1.6. Lisina.....	11
1.1.7. Metionina	12
1.1.8. Treonina.....	14
1.1.9. Triptofano.....	15
1.1.10. Valina.....	16
1.2. Determinação da exigência de aminoácidos	16
1.2.1. Método de deleção.....	19
2. OBJETIVOS.....	22
2.1. Geral.....	22
2.2. Específicos.....	22
REFERÊNCIAS.....	23
 CAPÍTULO 2 – PERFIL IDEAL DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-NILO, NA FASE DE TERMINAÇÃO, PELO MÉTODO DE DELEÇÃO.....	 39
RESUMO	40
ABSTRACT	41

1 INTRODUÇÃO	42
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1 Delineamento experimental.....	44
2.2 Instalações, manejo e condições experimentais	45
2.3 Dietas experimentais.....	46
2.4 Parâmetros de desempenho	53
2.5 Análise da composição corporal	53
2.5.1 Determinação do perfil de AAs pelo método de deleção	53
2.6 Análise de dados.....	54
2.7 Análise estatística	55
3 RESULTADOS.....	55
4 DISCUSSÃO	60
5 CONCLUSÃO	63
AGRADECIMENTOS	63
REFERÊNCIAS.....	64

Lista de Figuras

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA.....05

Figura 1 - Princípio do método de determinação dos níveis de aminoácidos por dedução. A é o primeiro aminoácido limitante; B e C são aminoácidos que estão respectivamente 10 e 20% (ou mais) em excesso em relação a A.....20

CAPÍTULO 2 - PERFIL IDEAL DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-NILO, NA FASE DE TERMINAÇÃO, PELO MÉTODO DE DELEÇÃO.....39

Figura 1 - Efeito na retenção de nitrogênio de tilápia-do-Nilo quando 33 a 41% de cada aminoácido essencial é removido da dieta balanceada 59

Lista de Tabelas

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA	05
Tabela 1 - Agrupamento dos aminoácidos classificados como nutricionalmente essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais para peixes, seguidos de suas abreviações	06
 CAPÍTULO 2 - PERFIL IDEAL DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS EM DIETAS PARA TILÁPIA-DO-NILO, NA FASE DE TERMINAÇÃO, PELO MÉTODO DE DELEÇÃO	39
Tabela 1 - Agrupamento dos aminoácidos classificados como nutricionalmente essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais para peixes, seguidos de suas abreviações	47
Tabela 2 - Composição química calculada das onze dietas experimentais (valores com base na matéria seca)	48
Tabela 3 - Composição química analisada das onze dietas experimentais (valores com base na matéria seca)	51
Tabela 4 - Níveis encontrados de deleção do AAE específico em cada dieta teste	56
Tabela 5 - Desempenho, deposição e eficiência de retenção de nitrogênio, nível indicado e relação ideal para <i>O. niloticus</i> na fase de terminação alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais durante 60 dias	58

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Rineu e Luciana. A eles, amor e gratidão eternos.

*“Eu vos digo: é preciso, às vezes, ter
um pouco de caos dentro de si, para
poder dar à luz uma estrela dançante.”*

Friedrich Nietzsche

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez.”

George Bernard Shaw (1856-1950)

AGRADECIMENTOS

O espaço limitado desta seção de agradecimentos, não me permite agradecer, como deveria, a todas as pessoas que, ao longo do mestrado me ajudaram, direta ou indiretamente, a alcançar os meus objetivos e a realizar esta etapa da minha formação acadêmica. Assim, deixo apenas algumas palavras, poucas, mas com profundo sentimento de reconhecimento e gratidão.

À Deus, por permitir chegar aonde estou hoje.

Aos meus pais e irmã pela compreensão, incentivo e apoio aos meus estudos. Esta conquista também é para vocês. O meu eterno agradecimento.

Ao Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes pela orientação, confiança e todos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano pela orientação, ajuda, paciência, atenção, ensinamentos e palavras de incentivo.

Ao Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e a Universidade Estadual Paulista (UNESP) “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Jaboticabal, pelo acolhimento e suporte no mestrado.

Aos professores do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) e da Universidade Estadual Paulista (UNESP) que tive o orgulho de conhecer e que contribuíram com a minha formação, especialmente aos docentes que também contribuíram com esse trabalho. Muito obrigada.

Aos membros da banca do exame geral de qualificação, Prof. Dr. Dalton José Carneiro e Prof. Dr. Edney Pereira da Silva e aos membros da banca de defesa, Prof. Dr. Dalton José Carneiro e Dr. Eduardo Abimorad. Muito obrigada.

Aos professores da graduação que apoiaram e contribuíram para esse momento, formação pessoal e acadêmica. Em especial ao Giovani Taffarel Bergamin, Alexandra Pretto, Deise Castagnara, Antônio Camargo, Marco Aurélio de Souza, Viviani Corrêia, Frederico Ceccon, Alessandra Tamajusuku Neis, Dioni Bonini...

À equipe do laboratório de peixes ornamentais nos anos de 2017 e 2018 pelo auxílio intelectual e atividades referentes a este estudo. André Zuffo Boaratti, Cleber Mansano, Daniel Monge Queiroz, Juliane Santos, Kifayat Khan, Monique Virões, Natália Bassi, Rafael Romaneli, Thiago Torres do Nascimento, Thaís da Silva Oliveira e estagiários. Muito obrigada.

Aos integrantes da equipe do laboratório de nutrição, patologia e fisiologia de peixes do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) pela paciência e auxílio em atividades referentes a este estudo.

Aos funcionários do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), principalmente ao senhor Valdecir, Márcio, Luís, David e Silvinha pela paciência e ajuda em inúmeras atividades relacionadas a este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo recurso proveniente do Projeto Temático ao qual este trabalho está vinculado (Processo nº 2013/25761-4), a coordenadora Profa Dra Nilva Kazue Sakomura e aos integrantes do Avinesp.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado (Processo nº 134642/2017-1).

À empresa Ajinomoto® Animal Nutrition, Evonik Industries AG e Evonik Brasil Ltda, pelo apoio, pelas análises e doação de insumos para a viabilização desta dissertação, especialmente ao Zootecnista Nei André Arruda Barbosa, da Evonik do Brasil pela atenção e encaminhamento de amostras para a análise de aminogramas das dietas.

Aos meus amigos que mesmo longe, me apoiaram sempre... Especialmente a Nicole Maldonado, Juliana Silveira, Mônica Fenner, Lúcia Rios, Taynara Bruning, Ândrea Enque, Cláudia Quintana, Jardel Palma, João Adelino, Victor Blanco...

Aos amigos conquistados nesse período de 2 anos, em especial a Joseane Silva, Daiane Vanecí, Aline Guedes, Mikaely Andrade, Amanda Zucatto, Allana Feitoza, Cleber Mansano, Rafael de Graaf e Kifayat Khan. Obrigada pelo companheirismo, conselhos, carinho e ajuda.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho. Muito obrigada!

APOIO FINANCEIRO

FAPESP, recurso proveniente do Projeto Temático ao qual este trabalho está vinculado (Processo nº 2013/25761-4).



CNPq, bolsa de mestrado (Processo nº 134642/2017-1).



Ajinomoto® Animal Nutrition, doação de aminoácidos.



Evonik Industries AG e Evonik Brasil Ltda, doação de aminoácidos e aminogramas dos alimentos e dietas.



CÁPITULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1. Proteína e aminoácidos

A alimentação é o item de maior custo na produção animal (SCORVO-FILHO, 2003; SIDONIO et al., 2012; SANTOS et al., 2014), podendo atingir até 70% conforme a espécie de cultivo (SIDONIO et al., 2012). A proteína corresponde ao nutriente mais oneroso (LI et al., 2009; WILSON, 2002), além de apresentar-se como o componente mais dispendioso nas rações para peixes, disponibilizando aminoácidos para o reparo e crescimento dos tecidos, e a exigência pelos peixes pode variar, em virtude de fatores como a idade, peso corporal e temperatura da água (WILSON, 2002; LUO et al., 2006; PORTZ; FURUYA, 2013; RIEGEL, 2012).

Porém os peixes não possuem necessidade nutricional específica de proteína, mas de um adequado balanceamento entre aminoácidos essenciais e não essenciais (WILSON; HALVER, 1986; DACOSTA-CALHEIROS; ARNASON; BJORNSDOTTIR, 2003; BICUDO; CYRINO, 2009), sendo ambos necessários para a constituição da cadeia polipeptídica, uma vez que as células precisam dos aminoácidos para a síntese proteica (WILSON, 1985; FURUYA et al., 2010). Assim temos o conceito de proteína ideal, que foi inicialmente definido por Mitchell (1964) como o adequado balanço de aminoácidos que atendem as exigências para processos de manutenção e máximo crescimento dos animais.

Os aminoácidos não apresentam apenas papel na composição e síntese de proteínas, mas também são importantes para o controle e manutenção das principais vias metabólicas que regulam o metabolismo, manutenção, crescimento, reprodução, respostas imunes, comportamento, estresse e osmorregulação (MEIJER, 2003; JOBGEN et al., 2006; LI et al., 2009; PORTZ; FURUYA, 2013). Os peixes possuem a capacidade de biossintetizar alguns aminoácidos a partir de precursores prontamente disponíveis, seja pelo metabolismo celular ou pela transaminação de outros aminoácidos (GREEN; HARDY, 2002), sendo esses classificados como aminoácidos não essenciais (AANE).

Os aminoácidos que não são sintetizados suficientemente pelo organismo animal, são classificados como aminoácidos essenciais (AAE), os quais devem ser incluídos em níveis adequados na dieta para garantir as funções fisiológicas, metabólicas e de crescimento (LI et al., 2009; WU, 2013; WU, 2014). De acordo com Li et al. (2009), atualmente, são considerados dez aminoácidos como essenciais para peixes (Tabela 1), sendo de fundamental importância sua disponibilidade na dieta. Os peixes são incapazes de sintetizar alguns aminoácidos como a lisina, metionina, arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, treonina, triptofano e valina, sendo que esses devem ser adquiridos através da ingestão de proteínas ou misturas exógenas de aminoácidos para a obtenção do atendimento as suas exigências nutricionais (NRC, 2011).

Tabela 1 - Aminoácidos classificados como nutricionalmente essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais para peixes, seguidos de suas abreviações.

Aminoácido Essencial	Aminoácido Não Essencial	Aminoácido Condicionalmente Essencial
Arginina (ARG)	Alanina (ALA)	Cisteína (CYS)
Histidina (HIS)	Asparagina (ASN)	Glutamina (GLN)
Isoleucina (ILE)	Aspartato (ASP)	Hidroxiprolina
Leucina (LEU)	Glutamato (GLU)	Prolina (PRO)
Lisina (LYS)	Glicina (GLY)	Taurina
Metionina (MET)	Serina (SER)	
Fenilalanina (PHE)	Tirosina (TYR)	
Treonina (THR)		
Triptofano (TRP)		
Valina (VAL)		

Fonte: (LI et al., 2009).

Assim, diante da deficiência de um aminoácido essencial, os demais aminoácidos poderão apresentar-se em excesso, gerando a redução do aproveitamento dos mesmos e limitação da síntese proteica (COLE; VAN LUNEN, 1994; PORTZ; FURUYA, 2013; WILSON, 2002; WILSON, 2003). O adequado balanceamento aminoacídico aumenta a capacidade de aproveitamento da dieta com menores teores de proteína, colaborando com a menor excreção de nitrogênio ao ambiente (BOTARO et al., 2007; QUADROS, 2009). Além disso, o

ajuste de aminoácidos essenciais conforme as necessidades nutricionais dos peixes e a fase de desenvolvimento, permitem a formulação de dietas com perfil aminoacídico equilibrado, o que é necessário para a otimização desses nutrientes para a promoção do crescimento (WILSON, 2003; GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003; PERES; OLIVA-TELES, 2009).

1.1. Aminoácidos essenciais

1.1.1. Arginina

A arginina é um aminoácido essencial para peixes (NRC, 2011), necessária não só para a síntese de proteínas, mas também para a síntese de diversos compostos biologicamente importantes, como a creatina, poliaminas e óxido nítrico, possuindo importante papel no metabolismo energético e resposta imune (MORRIS, 2006; OLIVA-TELES; PERES; KAUSHIK, 2017; WU et al., 2009), além de estar envolvida em funções endócrinas (MOMMSEN; MOON; PLISETSKAYA, 2001). Também está associada ao lançamento de hormônios envolvidos no crescimento, como o glucagon, peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1), somatostatina, hormônio de crescimento e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) (MOMMSEN; MOON; PLISETSKAYA, 2001; LIND, 2004; LI et al., 2009).

Chen et al. (2015) desafiaram juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian) com *Aeromonas hydrophila* e sugeriram que os níveis ótimos de arginina na dieta, propiciaram melhor taxa de sobrevivência e resistência a bactéria, pois a arginina tem efeitos benéficos na regulação da expressão de mRNAs de citocinas inflamatórias.

Outros estudos com algumas espécies de peixes, como o de Costas et al. (2012) com linguado (*Solea senegalensis*), também evidenciaram maior resistência a doenças e estado imune, como observado durante a submissão ao estresse e em bagre-americano (*Ictalurus punctatus*), que quando alimentados com dietas suplementadas com arginina aumentaram a produção de anticorpos específicos contra *Edwardsiella ictaluri* (POHLENZ et al., 2012). Outros estudos mostraram que o adequado atendimento à exigência de arginina pode melhorar o

crescimento do salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.) (OEHME et al., 2010), a eficiência alimentar em “tambor vermelho” (*Sciaenops ocellatus*) (CHENG; BUENTELLO; GATLIN III, 2011; CHENG; GATLIN III; BUENTELLO, 2012), e o crescimento e eficiência alimentar em “robalo híbrido” (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) (CHENG; GATLIN III; BUENTELLO, 2012).

O excesso de arginina na dieta não apresenta benefícios sobre o crescimento e eficiência alimentar em juvenis de dourada (*Sparus aurata*) (OLIVATELES et al., 2017), mas de acordo com Azeredo et al. (2015), pode apresentar efeito inibitório sobre a imunidade e resistência a doenças em “robalos europeus” (*Dicentrarchus labrax*). Além disso, há estudos que mencionam a ocorrência do antagonismo entre a arginina e a lisina quando a dieta apresenta excesso de arginina (MURILO-GURREA et al., 2001; SINGH e KHAN, 2007). A arginina inibe a absorção de lisina, pois os dois aminoácidos utilizam o mesmo transportador para serem absorvidos, porém a arginina possui maior afinidade com esse transportador (BERGE et al., 1999).

A deficiência de arginina também pode induzir a inflamação intestinal, e pode estar associada à inibição da atividade da barreira física do intestino (WANG et al., 2016). O adequado atendimento a exigência da espécie é importante para que as boas condições de saúde sejam mantidas e, consequentemente, a obtenção de melhores taxas de crescimento.

1.1.2. Fenilalanina

Este aminoácido desempenha muitas funções no organismo, podendo também ser convertida em tirosina, que é um aminoácido não essencial nas condições em que a fenilalanina é absorvida e está em adequado atendimento à exigência da espécie, atuando como um precursor comum de hormônios e importantes neurotransmissores (AHMED, 2009; LI et al., 2015).

Tanto a fenilalanina como a tirosina, apresentam importantes papéis regulatórios (YOO et al., 2000; CHANG et al., 2007) e seus níveis podem influenciar a pigmentação, desenvolvimento, consumo de ração, crescimento, imunidade e até mesmo a sobrevivência de peixes. Durante a metamorfose de

peixes, as exigências destes aminoácidos aumentam consideravelmente (PINTO et al., 2009).

Li et al. (2015) evidenciaram que a fenilalanina melhora o crescimento, a capacidade digestiva e de absorção e a capacidade antioxidante em juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). Também foram observados a melhora do crescimento e eficiência alimentar em outras espécies, como a carpa rohu (*Labeo rohita*) (AHMED, 2009) e “silver perch” (*Bidyanus bidyanus*) (GAMSNAE; SILVA; GUNASEKERA, 1999).

1.1.3. Histidina

A histidina está envolvida em muitas funções metabólicas, apresentando papéis catalíticos em proteínas, além de ser um precursor para outros produtos químicos bioativos, como a histamina que surge de vias controladas e não controladas e participa de reações alérgicas e inflamatórias e até mesmo no controle do apetite (GLOVER; WOOD, 2008; JR; SERAFIN, 2000; KHAN; ABIDI 2014). A histidina desempenha importante função no processo de osmorregulação, além do papel referente à produção de energia para uso em vias metabólicas em situações de emergências e condições adversas (ABE; OHMAMA, 1987; AHMED; KHAN, 2005b), além disso, a adequada administração deste aminoácido pode promover a secreção do hormônio do crescimento (VUGHT et al., 2008).

A histidina age como um antioxidante e a sua deficiência provoca catarata em salmonídeos (REMØ et al., 2010), uma vez que a ocorrência desta patologia é mais constante em espécies de peixes de água fria do que em peixes de água quente (KHAN; ABIDI, 2014). A suplementação desse aminoácido em dietas para salmão do Atlântico pode auxiliar na redução do desenvolvimento de catarata e também na prevenção, antes e durante a fase inicial do desenvolvimento da doença (BRECK et al., 2005; WAAGBO et al., 2010; REMØ et al., 2014).

Foi observado menor ganho em peso em peixes alimentados com níveis dietéticos superiores e inferiores da exigência nutricional de histidina (AHMED; KHAN, 2005b; ZHAO et al., 2012a; KHAN; ABIDI, 2014; GAO et al., 2016). Em estudo com juvenis de carpa capim alimentados com a dieta deficiente em

histidina, foi observado que os peixes apresentaram crescimento reduzido (GAO et al., 2016). Michelato et al. (2017) salientam que a deficiência de um único aminoácido essencial pode limitar a síntese de proteínas, e o excesso pode induzir o catabolismo de aminoácidos, reduzindo a utilização de proteína dietética e, conseqüentemente, o ganho em peso do peixe.

A proteína corporal em tilápias-do-Nilo também é afetada pelos níveis de histidina na dieta (MICHELATO et al., 2017), sendo que a suplementação deste aminoácido resultou em aumento da deposição de nitrogênio no corpo. Por outro lado, a deficiência acarretou em menor utilização da proteína dietética em “carpa” (*Cirrhinus mrigala*) (AHMED; KHAN, 2005b), “bagre africano” (*Clarias gariepinus*) (KHAN; ABIDI, 2009) e “carpa catla” (*Catla catla*) (ZEHRRA; KHAN, 2014), uma vez que, o efeito no ganho em proteína corporal pode estar relacionada com a melhor utilização de aminoácidos para a síntese proteica (HELLAND; HELLAND, 2011).

1.1.4. Isoleucina

A isoleucina é um aminoácido essencial para o crescimento dos peixes (NOSE, 1979; NRC, 2011). Aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina e valina) exercem importantes funções em determinadas reações bioquímicas e de crescimento. A isoleucina, juntamente com os outros dois aminoácidos de cadeia ramificada, atua como regulador da síntese proteica e da degradação proteica, além de estar envolvida na biossíntese e secreção de insulina (KIMBALL; JEFFERSON, 2006). Zhao et al. (2013) demonstraram que a isoleucina dietética melhora a resposta imune em carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian), e a resposta imune humoral inata em “linguado de oliveira” (*Paralichthys olivaceus*) (RAHIMNEJAD; LEE, 2014).

O adequado atendimento de isoleucina aumenta tanto o crescimento quanto a eficiência alimentar, o que pode ser devido a seus efeitos benéficos sobre a capacidade digestiva e de absorção dos nutrientes pelos peixes (ZHAO et al., 2012b). Também melhora a função imune, a capacidade antioxidante e a atividade microbiana intestinal (ZHAO et al., 2014). Foi observada a redução do crescimento dos animais diante da deficiência de isoleucina em dietas (AHMED; KHAN, 2006; KHAN; ABIDI, 2007), porém são poucos os estudos relacionados

aos efeitos ocasionados pelo inadequado atendimento da exigência dietética deste aminoácido para peixes.

1.1.5. Leucina

A leucina é fundamental para o crescimento ideal dos peixes (NRC, 2011). É importante para a produção de hemoglobina, manutenção dos níveis de açúcar no sangue, aumento da produção de hormônios de crescimento e, juntamente com outros dois aminoácidos de cadeia ramificada (valina e isoleucina), apresenta a função de proteger e nutrir o músculo (ABIDI; KHAN, 2007). O desequilíbrio de leucina na dieta induz ao baixo crescimento e menor eficiência de utilização da ração, pois a sua deficiência pode provocar disfunções bioquímicas, incluindo a redução de crescimento (AHMED; KHAN, 2006; ABIDI; KHAN, 2007; DENG et al., 2014; FARHAT, 2014; TAN et al., 2016).

Outros estudos evidenciam os benefícios atrelados ao atendimento adequado da leucina em dietas para peixes. Segundo Deng et al. (2014) e Giri et al. (2015) o ótimo nível dietético de leucina melhorou o crescimento de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e a capacidade antioxidante de carpa rohu (*Labeo rohita*). A melhor qualidade de carne também foi evidenciada, pela maior redução do dano oxidativo e melhor capacidade antioxidante não-enzimática e enzimática no músculo (DENG et al., 2016).

A leucina também apresentou efeitos benéficos sobre a capacidade antioxidante intestinal e integridade estrutural, acarretando em melhor crescimento e eficiência alimentar dos peixes (DENG et al., 2014; JIANG et al., 2015a), além de também melhorar o apetite e imunidade inespecífica em juvenis de “carpa preta” (*Mylopharyngodon piceus*) (WU et al., 2017). Em tilápia-do-Nilo, a leucina apresentou a capacidade de promover o desenvolvimento da mucosa intestinal, melhorando a digestão gastrointestinal e a capacidade de absorção da espécie (SHI et al., 2014).

1.1.6. Lisina

A lisina é utilizada para deposição de proteína corporal (DORIGAM et al., 2016a) e, dessa forma, apresenta-se como um aminoácido limitante para a síntese proteica em peixes e limitante em formulação de dietas para peixes onívoros que possua em suas composições grande inclusão de ingredientes de origem vegetal (BICUDO; SADO; CYRINO, 2009; ABIMORAD et al., 2010; FURUYA, 2010). Diante da substituição da proteína de origem animal por fontes vegetais, a lisina apresenta-se como o aminoácido mais limitante em ingredientes comumente utilizados na formulação de dietas, a adição de lisina cristalina permite a redução do custo gerado pela proteína nas dietas, sem afetar o crescimento dos peixes (MAI et al., 2006a). É um aminoácido limitante ao crescimento, devido à sua participação na formação de músculos e cartilagens (FURUYA et al., 2004).

Estudos com a redução de lisina na dieta demonstraram a diminuição no crescimento e eficiência alimentar, além de problemas relacionados a saúde, como a erosão na barbatana dorsal e caudal em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian) (KETOLA, 1983; GUILLAUMEET al., 1999). A suplementação deste aminoácido é capaz de promover a melhoria na resposta imune e no desenvolvimento gastrointestinal (ZHOU, 2005). Em dietas à base de proteína de origem vegetal, a suplementação com lisina sintética induz a redução de excreção de fósforo e amônia na água (CHENG; HARDY; USRY, 2003). Além de ser fundamental para a síntese de carnitina, que transporta os ácidos graxos de cadeia longa até as mitocôndrias para a produção de energia (BICUDO; SADO; CYRINO, 2009; LI et al., 2009).

1.1.7. Metionina

A metionina é a principal fonte de enxofre para vários componentes celulares, sendo um aminoácido indispensável para o crescimento normal de peixes, pois participa da síntese proteica e de outras funções metabólicas (ALAM et al., 2001; TESHIMA et al., 2002; ALAM et al., 2005; MAI et al., 2006b), quando deficiente pode afetar o perfil de aminoácidos no plasma de muitas espécies (TWIBELL; WILSON; BROWN, 2000).

O metabolismo dos aminoácidos sulfurados é regulado e iniciado pela metionina, geralmente também é considerado como o primeiro aminoácido limitante em dietas à base de proteína vegetal (GATLIN et al., 2007), especialmente em composições de dietas para peixes que apresentam a inclusão de níveis mais elevados de fontes de proteína de origem vegetal, torna-se necessária a suplementação desse aminoácido quando há maior inclusão de determinados ingredientes, como o farelo de soja, pois esse ingrediente possui reduzido teor de metionina (FURUYA et al., 2001; MAI et al., 2006b).

A metionina desempenha um papel importante na síntese de proteínas e também como doador de metila para várias reações de metilação, incluindo DNA, e um precursor de poliaminas (espermina e permidina), L-carnitina e cisteína (SCHUHMACHER; GROPP, 1998; ESPE et al., 2011), além de ser necessária para a biossíntese de cisteína e taurina. O aminoácido condicionalmente indispensável cisteína é o principal limitante da síntese de glutathione, uma importante molécula antioxidante que atua como cofator da glutathione peroxidase (LU, 2000; WU et al., 2004).

A metionina atua como precursora da cisteína, dessa forma, a metionina pode afetar indiretamente a geração de glutathione com repercussões no estado oxidativo das células (WU et al., 2004; LI et al., 2007; MÉTAYER et al., 2008). Assim, alguns estudos mencionam que a metionina pode atuar como protetora das células do estresse oxidativo (WEISSBACH et al., 2005; MÉTAYER et al., 2008; FENG et al., 2011).

Estudos realizados com peixes indicam que a ingestão insuficiente deste aminoácido acarreta em redução do crescimento e utilização de alimentos, comprometimento do desenvolvimento intestinal e degeneração antioxidante em peixes (WALTON et al., 1982; ESPE et al., 2008; TANG et al., 2009). Gao et al. (2019) demonstraram que a deficiência dietética de metionina reduziu drasticamente o desempenho de crescimento e utilização de alimentos de juvenis de “pregado” (*Scophthalmus maximus* L.), isso desencadeou o catabolismo de múltiplos aminoácidos e influenciou a homeostase intestinal.

Além disso, alguns estudos indicaram a importância deste aminoácido na deposição lipídica e no metabolismo (SCHUHMACHER; GROPP, 1998; HASEK

et al., 2013), em exemplo, a restrição da metionina reduziu o acúmulo de lipídios e aumentou a lipogênese, a lipólise e a oxidação de ácidos graxos (ZHOU et al., 2016). Quando em níveis adequados em dietas, a deficiência e o excesso podem resultar em desregulação nas vias metabólicas lipídicas (AISSA et al., 2014). Em virtude de este aminoácido estar relacionado com as funções de síntese de proteína corporal e metabolismo lipídico, o adequado atendimento a exigência de metionina proporcionou aumento da deposição de proteína e redução da gordura corporal em tilápias-do-Nilo (MICHELATO et al., 2013).

Estudos demonstraram que a suplementação de metionina em dietas pode propiciar melhor crescimento em muitas espécies de peixes (TAKAGI et al., 2001; WILSON, 2002; OPSTVEDT et al., 2003), além de também estar atrelada a melhorias na saúde dos mesmos (ESPE et al., 2008; GRACIANO et al., 2010).

1.1.8. Treonina

A treonina apresenta-se como um aminoácido essencial para adequado crescimento dos peixes (NRC, 2011), encontra-se envolvida em alguns processos, fisiológicos e bioquímicos, compreendendo o crescimento, eficiência alimentar e função imunológica (ABIDI; KHAN, 2008; BODIN et al., 2008; FENG et al., 2013; HABTE-TSION et al., 2015a).

A importância da treonina na resposta imune também é considerada, e a sua deficiência pode deixar os animais mais suscetíveis a problemas de saúde (DEFA et al., 1999). Juvenis de “carpa capim” ficaram mais suscetíveis à infecção provocada por *Flavobacterium columnare* e as barreiras imunológicas e físicas foram prejudicadas quando receberam níveis inadequados deste aminoácido (DONG et al., 2018). O atendimento adequado da exigência possibilitou melhor resposta imune e o aumento de atividades de enzimas antioxidantes em ciprinídeos (HABTE-TSION et al., 2016), corroborando a melhoria no crescimento, saúde e capacidade de absorção de nutrientes em peixes (HABTE-TSION et al., 2015b; HABTE-TSION et al., 2015c).

A deficiência de treonina também pode acarretar em redução do consumo de ração e de crescimento, como relatado em algumas espécies de peixes:

“bagre” (*Heteropneustes fossilis* (Bloch)) (AHMED, 2007), carpa rohu (ABIDI; KHAN, 2008) e carpa capim (GAO et al., 2014).

1.1.9. Triptofano

O triptofano é um aminoácido dietético essencial para os peixes e atua como precursor imediato para a síntese de serotonina, um importante neurotransmissor que afeta as funções fisiológicas e comportamentais em peixes (WU, 2013; SCHJOLDEN et al., 2006; ALEE et al., 2008). Alguns estudos abordam que a presença de triptofano na dieta pode aumentar o crescimento, modular o comportamento agressivo ou reduzir o canibalismo e o aumento do cortisol induzidos pelo estresse em diferentes espécies de peixes (TEJPAL et al., 2009; HOSEINI; HOSSEINI, 2010; COSTAS et al., 2012; AKHTAR et al., 2012; KUMAR et al., 2014; PIANESSO et al., 2015).

A exemplo, em estudos com juvenis de “truta-marrom” (*Salmo trutta*) foi observado a redução do estresse, canibalismo e a anorexia (HÖGLUND et al., 2007) e a redução do estresse em truta arco-íris, em virtude da diminuição de produção de cortisol (LEPAGE; TOTTMAR; WINBERG, 2002; LEPAGE et al., 2003). Além disso, a redução do comportamento agressivo em peixes é demonstrada por diversos estudos (WINBERG; OVERLI; LEPAGE, 2001; HSEU et al., 2003; HÖGLUND et al., 2005; WOLKERS et al., 2012).

Níveis inadequados de triptofano na dieta provocaram retardo no crescimento em peixes (PIANESSO et al., 2017) e o excesso do aminoácido na alimentação pode acarretar redução no crescimento, como observado em tilápia-do-Nilo (SANTIAGO; LOVELL, 1988), “carpa indiana” (*Cirrhinus mrigala*) (AHMED; KHAN, 2005a) e “bagre” (*Heteropneustes fossilis*) (AHMED, 2012), e o mesmo efeito é observado com a sua deficiência para “perca-gigante ou barramundi” (*Lates calcarifer*) (COLOSO et al., 2004) e carpa rohu (*Labeo rohita*) (ABIDI; KHAN, 2010). A utilização de proteína é comprometida quando o triptofano não está suficientemente disponível em conjunto com os demais aminoácidos essenciais para manter as funções fisiológicas normais (GAYLORD; RAWLES; DAVIS, 2005; ABIDI; KHAN, 2010). Desta forma, a sua suplementação

na dieta com o adequado atendimento a exigência nutricional pode diminuir tais comportamentos e melhorar o desempenho e saúde de peixes (WEN et al., 2014).

1.1.10. Valina

A valina é considerada um aminoácido essencial para os peixes (NOSE, 1979), possuindo importantes funções fisiológicas no crescimento do tecido muscular e síntese proteica no organismo (SURYAWAN et al., 2011). Peixes alimentados com dietas deficientes neste aminoácido podem apresentar redução do desempenho de crescimento (AHMED; KHAN, 2006; RAHIMNEJAD; LEE, 2013; LUO et al., 2014), além disso, a deficiência de valina pode influenciar o equilíbrio da microflora intestinal (DONG et al., 2013). A deficiência de valina altera a barreira imune intestinal, pois atua regulando os compostos antibacterianos, aumentando as citocinas pró-inflamatórias e diminuindo as citocinas anti-inflamatórias em peixes (LUO et al., 2014).

1.2. Determinação da exigência de aminoácidos

Na nutrição animal, especialmente em peixes, o conteúdo em aminoácidos e a digestibilidade determinarão a qualidade da proteína na dieta (PORTZ; FURUYA, 2013; ROLLIN et al., 2003). Diante do consumo semelhante de proteína pelos animais, o desempenho pode não ser igual, em virtude da influência do perfil de aminoácidos na proteína dietética, que influencia consideravelmente o valor nutritivo da proteína. A eficiência da síntese proteica será sempre determinada pelo aminoácido mais limitante (DORIGAM, 2016b; PORTZ; FURUYA, 2013; SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Para a avaliação do conteúdo de aminoácidos, deve-se identificar a exigência do animal para o emprego destes em suas atividades, tais como para as funções fisiológicas das células, tecidos e corpo (AAEs) e para o melhor crescimento, manutenção do metabolismo e saúde (AANEs) para estabelecer a relação ideal entre os aminoácidos da proteína ideal (PARSONS; BAKER, 1994; WU, 2013; WU, 2014). Desta forma, haverá a possibilidade de obtenção de melhor desempenho e redução da excreção de nutrientes para o meio,

principalmente a porção nitrogenada, acarretando em menor eutrofização da água dos mananciais e, conseqüentemente, maior produtividade e benefícios econômicos (ROLLIN et al., 2003; PERES; OLIVA-TELES, 2005; FURUYA et al., 2010; MACEDO; SIPAÚBA- TAVARES, 2010).

O ótimo padrão de aminoácidos essenciais dietéticos deve apresentar, a partir de adequada ingestão de nitrogênio, a máxima retenção deste nutriente para deposição de proteína muscular e crescimento e, desta forma, mínima excreção do mesmo. A partir desses conceitos será possível a formulação de dietas adequadas para uma variedade de classes de idade para a espécie eleita, e conseqüentemente, menor degradação ambiental (WANG; FULLER, 1989; BOISEN; HVELPLUND; WEISBJERG, 2000; PERES; OLIVA-TELES, 2009; FURUYA et al., 2010; WU, 2014; DORIGAM, 2016a).

Para a determinação das exigências de aminoácidos essenciais e a relação dos mesmos, existem algumas metodologias, como o perfil de aminoácidos da composição corporal da espécie em estudo, método dose-resposta e o método de deleção. Entre eles, a análise do perfil de aminoácidos do corpo, apresenta-se como uma forma rápida e como um ponto de partida para aferir a relação aminoacídica e exigência em futuros estudos. Os resultados são valores aproximados porque não são considerados os gastos metabólicos do animal, somente a deposição de aminoácidos nos tecidos corporais (MAMBRINI; KAUSHIK, 1995; GREEN; HARDY, 2002; PERES; OLIVA-TELES, 2009; FURUYA, 2010; DIÓGENES et al., 2016).

Na análise do perfil de aminoácidos da composição corporal, a lisina é utilizada como aminoácido referência para aferir a relação dos demais aminoácidos, pois se apresenta como um aminoácido essencial limitante em dietas de animais monogástricos, sendo encontrada em maior quantidade no corpo da maioria das espécies de peixes, além de ser utilizada, principalmente para a síntese proteica (GREEN; HARDY, 2002; PERES; OLIVA-TELES, 2009; ABIMORAD et al., 2010; FURUYA, 2010; DORIGAM, 2016a).

Para a determinação das exigências de AAes, o método mais utilizado até o momento, é o dose-resposta, que é baseado em ensaios experimentais com níveis crescentes de inclusão do AAe testado. Desta forma, há necessidade de um grande número de experimentos, uma vez que é estudado um AA por vez, acarretando altos custos e longos períodos de pesquisas (WILSON, 1989;

SMALL; SOARES, 1998; GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003; PERES; OLIVA- TELES, 2009; DIÓGENES et al., 2016; DORIGAM, 2016c).

O método dose-resposta compreende o emprego de umas das duas técnicas na formulação das dietas para a determinação da exigência dos aminoácidos: suplementação ou diluição (DORIGAM, 2016c). Especialmente na nutrição de peixes, geralmente, a técnica da suplementação é a mais empregada, que se baseia no aumento gradativo da concentração do aminoácido teste na dieta basal, realizada por meio da suplementação de uma fonte cristalina (D' MELLO, 1982). Já a técnica de diluição tem sido pouco utilizada em estudos com peixes e consiste na diluição sequencial de uma dieta com alto teor de proteína e deficiente no aminoácido teste, com outra dieta isenta de proteína, acarretando na obtenção de níveis intermediários do aminoácido teste (ABBOUDI et al., 2007; LIEBERT; BENKENDORFF, 2007; LIEBERT, 2009).

Diversos fatores podem influenciar em ensaios com a utilização do método dose-resposta e os resultados finais podem apresentar divergências, em virtude da diferença na composição das dietas, condições de cultivo, características genéticas, idade, parâmetros físico-químicos da água, taxa de alimentação, tamanho e variedade dos lotes (GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003; DORIGAM, 2016c). Considerando as dificuldades e divergência em resultados citados no método dose-resposta, para minimizar estes problemas, está sendo aplicado nos estudos para peixes o método de deleção de aminoácidos, pois um único ensaio experimental é necessário para estabelecer a relação entre os dez aminoácidos essenciais para peixes (GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003; ABBOUDI et al., 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2009; DIÓGENES et al., 2016).

Ambas metodologias, mas principalmente a metodologia de deleção de aminoácidos, requerem a adição de maior quantidade de aminoácidos cristalinos na composição das dietas testes, e a cinética de absorção é diferente dos aminoácidos provenientes de proteínas naturais (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009). Para minimizar este efeito, há a alternativa de realizar um “coating”, ou seja, revestir os aminoácidos cristalinos por intermédio de um material que apresenta lenta degradação e absorção no organismo, a exemplo, com caseína, gelatina ou ágar-ágar, tornando a absorção dos AAs mais lenta no lúmen intestinal, promovendo uma movimentação dos AAs cristalinos mais próximos ao encontrado nas proteínas naturais (MAMBRINI; KAUSHIK, 1994;

SCHUHMACHER; MÜNCH; GROPP, 1997; FOURNIER et al., 2002; SEGOVIA-QUINTERO; REIGH, 2004; ALAM et al., 2005; PERES; OLIVA-TELES, 2005; PERES; OLIVA-TELES, 2009).

1.2.1. Método de deleção

Este método foi originalmente estabelecido em pesquisas com suínos (WANG; FULLER, 1989), posteriormente, aplicado em aves para definir a proteína ideal para frangos de corte (GRUBER; ROTH; KIRCHGEßNER, 2000; ROTH; GRUBER; KIRCHGEßNER, 2001; DORIGAM et al., 2016d). Além disso, este método também vem sendo utilizado em pesquisas com peixes (GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003; ABBOUDI et al., 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2009; DIÓGENES et al., 2016; MARAMMAZI et al., 2017).

No método de deleção é necessário um único ensaio experimental para aferir a relação entre os dez aminoácidos essenciais. Pelo fato de ser necessário apenas um experimento, não ocorrerá divergência nos resultados em função da alteração na composição das dietas basais, condições ambientais, características genéticas diversificadas, idade, parâmetros físico-químicos da água, taxa de alimentação, tamanho e variedade dos lotes (BOISEN; HVELPLUND; WEISBJERG, 2000; GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003). Isso permite maior acurácia dos resultados e menor tempo de período experimental ao compararmos com o método dose-resposta.

Assim, uma dieta balanceada é formulada para atender as exigências de aminoácidos da espécie eleita, suplementa-se com aminoácidos cristalinos para atender 100% das exigências de aminoácidos estudados. Logo, cerca de 15 a 45% de cada aminoácido teste é reduzido (ROTH; GRUBER; KIRCHGEßNER, 2001; GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN, et al. 2003; ABBOUDI et al., 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2009; DIÓGENES et al., 2016; DORIGAM et al., 2016d; MARAMMAZI et al., 2017).

O princípio do método da deleção se baseia no conceito de que a remoção de um aminoácido limitante tem efeito na retenção de nitrogênio corporal. Quando um único aminoácido é limitante na dieta, a retenção de nitrogênio será diretamente influenciada por esse aminoácido limitante. O conceito pode ser

facilmente entendido graficamente por meio de um modelo linear simples (Figura 1) proposto por Wang e Fuller (1989).

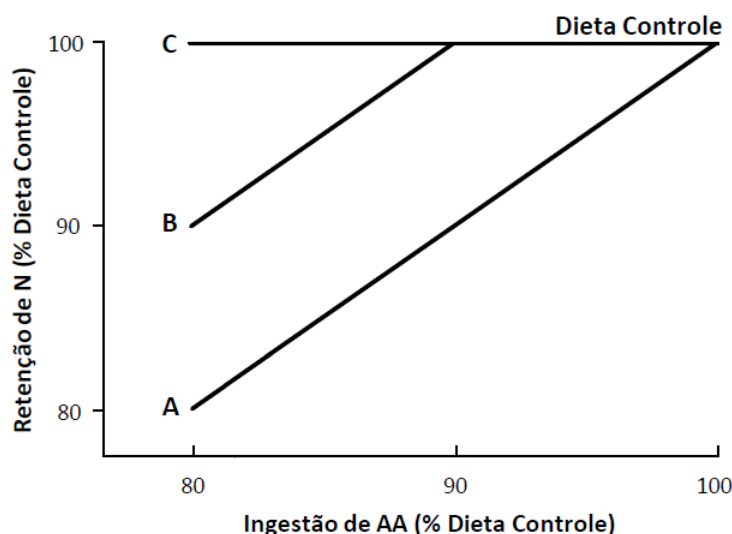


Figura 1 - Princípio do método de determinação dos níveis de aminoácidos por dedução. A é o primeiro aminoácido limitante; B e C são aminoácidos que estão respectivamente 10 e 20% (ou mais) em excesso em relação a A. **Fonte:** Adaptada de Wang e Fuller (1989).

A partir da Figura 1 são feitas algumas pressuposições: o tratamento A corresponde ao AAE mais limitante, pois acarretou em menor retenção de N. O tratamento C não apresentou redução na retenção de N, portanto, o aminoácido essencial deletado está em excesso relativo ao primeiro aminoácido limitante. Já o tratamento B apresentou uma quantia intermediária de retenção de N. Assim, a proporção que pode ser removida sem causar menor retenção de nitrogênio, pode ser interpolada proporcionalmente com a dieta A e C, obtendo a proporção ideal do AAE de B.

A redução deve ser suficiente para que o animal apresente resposta ao aminoácido limitante; assim, deverá haver diferença estatística entre a retenção de nitrogênio proporcionada pelas dietas limitantes em determinado aminoácido com a retenção de nitrogênio obtida pela dieta balanceada (ROLLIN et al., 2003; PERES; OLIVA-TELES, 2009; DORIGAM et al., 2016d). Se não houver efeito na retenção de nitrogênio em relação à retenção da dieta balanceada, não será possível estimar o perfil aminoacídico, pois o aminoácido não estava limitante (WANG; FULLER, 1989). A alteração na retenção de nitrogênio em percentual é utilizada para estimar o perfil dietético de aminoácidos, os quais são igualmente

limitantes a uma proteína ideal (WANG; FULLER, 1989; GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003; PERES; OLIVA-TELES, 2009).

O método de deleção que foi inicialmente estabelecido em pesquisas com suínos (WANG; FULLER, 1989) foi adaptado por Green e Hardy (2002) para estimar a relação ideal de aminoácidos essenciais para peixes. A correção da técnica por Green e Hardy (2002) corroborou em redução na variação entre as respostas determinadas, ao padronizarem os valores de retenção de nitrogênio, dividindo os valores obtidos pela taxa de deleção de cada aminoácido teste. A exigência de cada aminoácido usada como referência para estimar a relação ideal dos aminoácidos essenciais é calculada em quatro passos por estes autores, mas estes cálculos foram simplificados por Rollin et al. (2003) através da utilização de uma única equação, que se baseia no modelo *broken-line* (Figura 1), conforme a seguinte representação:

$$Exigência = (AAE)_{DC} \times \left(2 - DEL - \left(\frac{DN_{AAE}}{DN_{DC}} \right) \right)$$

Onde, a exigência do AAE testado (g Kg^{-1} MS), $(AAE)_{DC}$ é a concentração do AAE na dieta controle (DC) (g Kg^{-1} MS); DEL é o nível de deleção (%); DN_{AAE} é a deposição de N ($\text{mg N/peso corporal kg/dia}$) correspondente aos peixes que receberam a dieta do AAE testado; e DN_{DC} é a deposição de N ($\text{mg N/ peso corporal kg/ dia}$) correspondente aos peixes que receberam a dieta controle (DC).

O método baseia-se no pressuposto de que a retenção de N é uma função linear do conteúdo de aminoácido limitante na dieta (GREEN; HARDY, 2002). O balanço ótimo entre os AAEs é obtido pela divisão da exigência estimada para cada AAE pela exigência estimada de lisina (base de lisina = 100%) (GREEN; HARDY, 2002; ROLLIN et al., 2003). É importante salientar que a “exigência” estimada pelo método da deleção não é adequada para fazer recomendações de níveis nutricionais na dieta, pois deve ser usada apenas como referência para o cálculo da relação ideal dos aminoácidos, sendo o ideal cada aminoácido ser determinado individualmente o mais precisamente possível.

A presente metodologia apresenta vantagens, como o fato de estimar simultaneamente as relações de AAes com o mesmo grupo de animais e dieta controle (ROLLIN et al., 2003; DORIGAM et al., 2016a; DIÓGENES et al., 2016), possibilita estimar a relação ideal de AAes, de forma muito mais rápida e menos onerosa, e permitindo maior grau de uniformidade nos resultados para juvenis de tilápia-do-Nilo, com apenas um ensaio experimental (DIÓGENES et al., 2016), enquanto que a técnica de suplementação necessita de vários ensaios experimentais para determinar a relação dos mesmos AAes.

O método de deleção tem sido utilizado para estimar o perfil aminoacídico para várias espécies de peixes e demonstra bons resultados em pesquisas realizadas com truta arco-íris (GREEN; HARDY, 2002), salmão do Atlântico (ROLLIN et al., 2003), dourada (PERES; OLIVA-TELES, 2009), juvenis de tilápia-do-Nilo (DIÓGENES et al., 2016) e “pargo prateado-preto” (*Sparidentex hasta*) (MARAMMAZI et al., 2017). Nesse contexto, e considerando que a relação aminoacídica muda de acordo com a espécie e a sua fase de crescimento, o método de deleção torna-se uma importante ferramenta para estimar o perfil ideal de aminoácidos para a fase de terminação da tilápia-do-Nilo.

2. OBJETIVOS

2. 1. Geral

Estimar o perfil ideal de aminoácidos essenciais (arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina) para a tilápia-do-Nilo na fase de terminação, com a utilização do método de deleção.

2.2. Específicos

Correlacionar a deficiência do AAE teste com a retenção de N corporal com o emprego do método de deleção.

Balancear os aminoácidos nas dietas para a fase de crescimento final da tilápia-do-Nilo e, conseqüentemente, melhorar o desempenho zootécnico.

Correlacionar a relação aminoacídica e o nível indicado de cada aminoácido essencial mensurada com o emprego do método de deleção com valores encontrados em estudos com a utilização de outros métodos.

REFERÊNCIAS

ABBOUDI, T.; MAMBRINI, M.; OOGHE, W.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Protein and lysine requirements for maintenance and for tissue accretion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. **Aquaculture**, v. 261, n. 1, p. 369-383, 2006.

ABBOUDI, T.; OOGHE, W.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Determination of the threonine requirement for maintenance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry with the diet dilution procedure. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, n. 4, p. 281-290, 2007.

ABE, H.; OHMAMA, S. Effect of starvation and sea-water acclimation on the concentration of free L-histidine and related dipeptides in the muscle of eel, rainbow trout and Japanese dace. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 88, n. 2, p. 507-511, 1987.

ABIDI, S. F.; KHAN, M. A. Dietary leucine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Research**, v. 38, p. 478-486, 2007.

ABIDI, S. F.; KHAN, M. A. Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1498-1505, 2008.

ABIDI, S. F.; KHAN, M. A. Dietary Tryptophan Requirement of Fingerling Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), Based on Growth and Body Composition. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, n. 5, p. 700-709, 2010.

ABIMORAD, E. G.; FAVERO, G. C.; SQUASSONI, G. H.; CARNEIRO, D. Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 4, p. 370-377, 2010.

AHMED, I. Dietary amino acid L-threonine requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) estimated by growth and biochemical parameters. **Aquaculture International**, v. 15, n. 5, p. 337-350, 2007.

AHMED, I. Dietary total aromatic amino acid requirement and tyrosine replacement value for phenylalanine in Indian major carp: *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) fingerlings. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 25, n. 6, p. 719-727, 2009.

AHMED, I. Dietary amino acid L-tryptophan requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), estimated by growth and haemato-biochemical parameters. **Fish Physiology and Biochemistry**, 38, n. 4, p. 1195-1209, 2012.

AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 7, p. 687-695, 2005a.

AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary histidine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v. 11, n. 5, p. 359-366, 2005b.

AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 450-460, 2006.

AISSA, A. F.; TRYNDYAK, V.; DE CONTI, A.; MELNYK, S.; GOMES, T. D.; BIANCHI, M. L.; JAMES, S. J.; BELAND, F. A.; ANTUNES, L. M.; POGRIBNY, I. P. Effect of methionine-deficient and methionine-supplemented diets on the hepatic one-carbon and lipid metabolism in mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, p. 1502-1512, 2014.

AKHTAR, M.; PAL, A.; SAHU, N.; CIJI, A.; MEENA, D.; DAS, P. Physiological responses of dietary tryptophan fed *Labeo rohita* to temperature and salinity stress. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1075-1083, 2013.

ALAM, M. S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S.; YANIHARTO, D. Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine. **Aquaculture Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 201-209, 2001.

ALAM, M. S.; TESHIMA, S. I.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; UYAN, O.; HERNANDEZ, L. H. H.; MICHAEL, F. R. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. **Aquaculture**, v. 248, n. 1, p. 13-19, 2005.

ALEE, S. J.; MARKHAM, M. R.; SALAZAR, V. L.; STODDARD, P. K. Opposing actions of 5-HT_{1A} and 5-HT₂-like serotonin receptors on modulations of the electric signal waveform in the electric fish *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. **Hormones and Behavior**, v. 53, n. 3, p. 481-488, 2008.

AMBARDEKAR, A. A.; REIGH, R. C.; WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 291, n. 3-4, p. 179-187, 2009.

AZEREDO, R.; PEREZ-SANCHEZ, J.; SITJA-BOBADILLA, A.; FOUZ, B.; TORT, L.; ARAGAO, C.; OLIVA- TELES, A.; COSTAS, B. European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) immune status and disease resistance are impaired by arginine dietary supplementation. **PLoS ONE**, v. 10, p. 1-19, 2015.

BERGE, G. E.; BAKKE-MCKELLEP, A. M.; LIED, E. In vitro uptake and interaction between arginine and lysine in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 179, n. 1, p. 181-193, 1999.

BICUDO, A. J. A.; CYRINO, J. E. P. Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 40, p. 318-823, 2009.

BICUDO, Á. J.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Aquaculture**, v. 297, n. 1, p. 151-156, 2009.

BODIN, N.; MAMBRINI, M.; WAUTERS, J.B.; ABBOUDI, T.; OOGHE, W.; LE BOULENGE, E.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Threonine requirements for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. **Aquaculture**, v. 274, n. 2-4, p. 353-365, 2008.

BOISEN, S.; HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M. R. Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. **Livestock Production Science**, v. 64, n. 2, p. 239- 251, 2000.

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

BRECK, O.; BJERKÅS, E.; CAMPBELL, P.; RHODES, J. D.; SANDERSON, J.; WAAGBØ, R. Histidine nutrition and genotype affect cataract development in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 28, n. 6, p. 357-371, 2005.

CHEN, G.; LIU, Y.; JIANG, J.; JIANG, W.; KUANG, S.; TANG, L.; TANG, W.; ZHANG, Y-A.; ZHOU, X.; FENG, L. Effect of dietary arginine on the immune response and gene expression in head kidney and spleen following infection of Jian carp with *Aeromonas hydrophila*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 44, n. 1, p. 195-202, 2015.

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

CHENG, Z.; BUENTELLO, A.; GATLIN III, D. M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, v. 319, n. 1, p. 247-252, 2011.

CHENG, Z.; GATLIN III, D. M.; BUENTELLO, A. Dietary supplementation of arginine and/ or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). **Aquaculture**, v. 362, p. 39-43, 2012.

COLE, D. J. A.; VAN LUNEN, T. A. Ideal amino acid patterns. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.). **Amino Acids in Farm Animal Nutrition**. Wallingford, England: CAB International, 1994. p. 99-112.

COLOSO, R. M.; MURILLO-GURREA, D. P.; BORLONGAN, I. G.; CATA CUTAN, M. R. Tryptophan requirement of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 20, n. 1, p. 43-47, 2004.

COSTAS, B.; ARAGAO, C.; RUIZ-JARABO, I.; VARGAS-CHACOFF, L.; ARJONA, F. J.; MANCERA, M.; DINIS, M. T.; CONCEICAO, L.E. C. Different environmental temperatures affect amino acid metabolism in the eury therm teleost Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) as indicated by changes in plasma metabolites. **Amino Acids**, v. 43, n.1, p. 327-335, 2012.

DA COSTA-CALHEIROS, M. A.; ARNASON, J.; BJORNSDOTTIR, R. Alternative Sources of Protein in Feed for Cultured Fish: A Case Study on Atlantic Cod Fry (*Gadus morhua*). **The United Nations University Fisheries Training Programme, Final project**, p. 1-33, 2003.

DEFA, L.; CHANGTING, X.; SHIYAN, Q.; JINHUI, Z.; JOHNSON, E. W.; THACKER, P. A. Effects of dietary threonine on performance, plasma parameters and immune function of growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 78, n. 3-4, p. 179-188, 1999.

DENG, Y-P.; JIANG, W.-D.; LIU, Y.; JIANG, J.; KUANG, S-Y.; TANG, L.; WU, P.; ZHANG, Y.-A.; FENG, L.; ZHOU, X.-Q. Differential growth performance, intestinal antioxidant status and relative expression of Nrf2 and its target genes in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed with graded levels of leucine. **Aquaculture**, v. 434, p. 66-73, 2014.

DENG, Y-P.; JIANG, W.-D.; LIU, Y.; QU, B.; JIANG, J.; KUANG, S.Y.; TANG, L.; TANG, W.-N.; WU, P.; ZHANG, Y-A.; ZHOU, X-Q.; FENG, L. Dietary leucine improves flesh quality and alters mRNA expressions of Nrf2-mediated antioxidant enzymes in the muscle of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture**, v. 452, p. 380-387, 2016.

DIÓGENES, A. F.; FERNANDES, J. B. K.; DORIGAM, J. C. P.; SAKOMURA, N. K.; RODRIGUES, F. H. F.; LIMA, B. T. M.; GONÇALVES, F. H. Establishing the optimal essential amino acid ratios in juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the deletion method. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 435-443, 2016.

DONG, M.; FENG, L.; KUANG, S. Y.; LIU, Y.; JIANG, J.; HU, K.; JIANG, W. D.; LI, S. H.; TANG, L.; ZHOU, X. Q. Growth, body composition, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary valine. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 1-14, 2013.

DONG, Y-W.; FENG, L.; JIANG, W-D.; LIU, Y.; WU, P.; JIANG, J.; KUANGD, S-Y.; TANG, L.; TANG, W-N.; ZHANGE, Y-A.; ZHOU, X-Q. Dietary threonine

deficiency depressed the disease resistance, immune and physical barriers in the gills of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) under infection of *Flavobacterium columnare*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 72, p. 161-173, 2018.

DORIGAM, J. C. P. **Relação ideal dos aminoácidos essenciais para manutenção, crescimento e produção de aves**. 2016. 192 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2016a.

DORIGAM, J. C. P. Determinação da relação ideal dos aminoácidos essenciais: método de deleção. In: SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2016b. p. 233-244.

DORIGAM, J. C. P. Método dose-resposta para determinar exigências nutricionais. In: SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2016c. p. 132-159.

DORIGAM, J. C. P.; SAKOMURA, N. K.; LIMA, M. B.; SARCINELLI, M. F.; SUZUKI, R. M. Establishing an essential amino acid profile for maintenance in poultry using deletion method. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 5, p. 884-892, 2016d.

DUNCAN, D. B. Multiple range and multiple F' tests. **Biometrics**, v. 11, n.1, p. 1-42, 1955.

ESPE, M.; HEVRØY, E. M.; LIASET, B.; LEMME, A.; EL-MOWAFI, A. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v. 274, n.1, p. 132-141, 2008.

ESPE, M.; LIASET, B.; HEVROY, E. M.; EL-MOWAFI, A. DL-methionine enrichment in diets fed to Atlantic salmon increases apparent digestibility. **Aquaculture Research**, v. 42, p. 1123-1130, 2011.

FARHAT; KHAN, M. A. Response of fingerling stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) to varying levels of dietary l-leucine in relation to growth, feed conversion, protein utilization, leucine retention and blood parameters. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 291-302, 2014.

FENG, L.; XIAO, W. W.; LIU, Y.; JIANG, J.; HU, K.; JIANG, W. D.; LI, S. H.; ZHOU, X. Q. Methionine hydroxy analogue prevents oxidative damage and improves antioxidant status of intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian). **Aquaculture Nutrition**, v. 17, p. 595-604, 2011.

FENG, L.; PENG, Y.; WU, P.; HU, K.; JIANG, W.-D.; LIU, Y.; JIANG, J.; LI, S.-H.; ZHOU, X.-Q. Threonine affects intestinal function, protein synthesis and gene expression of TOR in Jian carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian). **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1-14, 2013.

FOURNIER, V.; GOUILLOU-COUSTANS, M. F.; METAILLER, R.; VACHOT, C.; GUEDES, M. J.; TULLI, F.; KAUSHIK, S. J. Protein and arginine requirements for maintenance and nitrogen gain in four teleosts. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 459-469, 2002.

FURUYA, W. M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V. R. B.; BOTARO, D.; DA SILVA, L. C.; NEVES, P. R. 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**, v. 23, n. 4, p. 885-889, 2001.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; MIRANDA, E. C. Digestibility coefficients and digestible amino acids values of some ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1143-1149, 2001.

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

FURUYA, W. M. (Ed.). **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010. 100p.

GAO, Y.-J.; YANG, H.-J.; LIU, Y.-J.; CHEN, S.-J.; GUO, D.-Q.; YU, Y.-Y.; TIAN, L.-X. Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, v. 424-425, p. 113-119, 2014.

GAO, Y.-J.; LIU, Y.-J.; CHEN, X.-Q.; YANG, H.-J.; LI, X.-F.; TIAN, L.-X. Effects of graded levels of histidine on growth performance, digested enzymes activities, erythrocyte osmotic fragility and hypoxia-tolerance of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, v. 452, p. 388-394, 2016.

GAO, Z.; WANG, X.; TANA, C.; ZHOU, H.; MAIA, K.; HE, G. Effect of dietary methionine levels on growth performance, amino acid metabolism and intestinal homeostasis in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v. 498, p. 335-342, 2019.

GATLIN, D. M.; BARROWS, F. T.; BROWN, P.; DABROWSKI, K.; GAYLORD, T. G.; HARDY, R. W.; HERMAN, E.; HU, G.; NELSON, R.; OVERTURF, K.; RUST, M.; SEALEY, W.; SKONBERG, D.; SOUZA, E. J. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 551-579, 2007.

GAYLORD, T. G.; RAWLES, S. D.; DAVIS, K. B. Dietary tryptophan requirement of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture Nutrition**, v. 11, n. 5, p. 367-371, 2005.

GIRI, S. S.; SENB, S. S.; CHIA, C.; KIMA, H. J.; YUNA, S.; PARKA, S. C.; SUKUMARANC, V. Effect of dietary leucine on the growth parameters and expression of antioxidant, immune, and inflammatory genes in the head kidney of

Labeo rohita fingerlings. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 167, n. 1-2, p. 36-43, 2015.

GLOVER, C. N.; WOOD, C. M. Histidine absorption across apical surfaces of freshwater rainbow trout intestine: mechanistic characterization and the influence of copper. **Journal of Membrane Biology**, v. 221, n. 2, p. 87-95, 2008.

GRUBER, K.; ROTH, F. X.; KIRCHGEßNER, M. Effect of partial dietary amino acid deductions on growth rate and nitrogen balance in growing chicks. **Archiv Geflügelk**, n. 64, p. 244-250, 2000.

GUILLAUME, J.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; MÉTAILLER, R. **Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés**. Paris: Quae, 1999. 489p.

HABTE-TSION, H.-M.; LIU, B.; REN, M.; GE, X.; XIE, J.; ZHOU, Q.; MIAO, L.; PAN, L.; CHEN, R. Dietary threonine requirement of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Aquaculture**, v. 437, p. 304-311, 2015a.

HABTE-TSION, H.-M.; GE, X.; LIU, B.; XIE, J.; REN, M.; ZHOU, Q.; MIAO, L.; PAN, L.; CHEN, R. A deficiency or an excess of dietary threonine level affects weight gain, enzyme activity, immune response and immune-related gene expression in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 42, n. 2, p. 439-446, 2015b.

HABTE-TSION, H.-M.; REN, M.; LIU, B.; GE, X.; XIE, J.; CHEN, R.; ZHOU, Q.; PAN, L. Threonine influences the absorption capacity and brush-border enzyme gene expression in the intestine of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Aquaculture**, v. 448, p. 436-444, 2015c.

HABTE-TSION, H.-M.; REN, M.; LIU, B.; GE, X.; XIE, J.; CHEN, R. Threonine modulates immune response, antioxidant status and gene expressions of antioxidant enzymes and antioxidant-immune-cytokine-related signaling molecules in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 51, p. 189-199, 2016.

HASEK, B. E.; BOUDREAU, A.; SHIN, J.; FENG, D.; HULVER, M.; VAN, N.T.; LAQUE, A.; STEWART, L. K.; STONE, K. P.; WANDERS, D.; GHOSH, S.; PESSIN, J. E.; GETTYS, T. W. Remodeling the integration of lipid metabolism between liver and adipose tissue by dietary methionine restriction in rats. **Diabetes**, v. 62, p. 3362-3372, 2013.

HELLAND, S.; HELLAND, B. G. Dietary threonine requirement of Atlantic salmon smolts. **Aquaculture**, v. 321, n. 3-4, p. 230-236, 2011.

HÖGLUND, E.; BAKKE, M. J.; ØVERLI, Ø.; WINBERG, S.; NILSSON, G. E. Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. **Aquaculture**, v. 249, n. 1-4, p. 525-531, 2005.

HÖGLUND, E.; SØRENSEN, C.; BAKKE, M. J.; NILSSON, G. E.; ØVERLI, Ø. Attenuation of stress-induced anorexia in brown trout (*Salmo trutta*) by pre-

treatment with dietary L-tryptophan. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 4, p. 786-789, 2007.

HOSEINI, S. M.; HOSSEINI, S. A. Effect of dietary L-tryptophan on osmotic stress tolerance in common carp, *Cyprinus carpio*, juveniles. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 36, n. 4, p. 1061-1067, 2010.

HSEU, J. R.; LU, F. I.; SU, H. M.; WANG, L. S.; TSAI, C. L.; HWANG, P. P. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. **Aquaculture**, v. 218, n. 1-4, p. 251-263, 2003.

JIANG, W.-D.; DENG, Y.-P.; LIU, Y.; QU, B.; JIANG, J.; KUANG, S.-Y.; TANG, L.; TANG, W.-N.; WU, P.; ZHANG, Y.-A.; ZHOU, X.-Q.; FENG, L. Dietary leucine regulates the intestinal immune status, immune-related signalling molecules and tight junction transcript abundance in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture**, v. 444, p. 134-142, 2015.

JOBGEN, W. S.; FRIED, S. K.; FU, W. J.; MEININGER, C. J.; WU, G. Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, n. 9, p. 571-588, 2006.

KETOLA, H. C. Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout. **Journal of Animal Science**, v. 56, n.1, p. 101-107, 1983.

KETOLA, H. G. Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 73, n. 1, p. 17-24, 1982.

KHAN, M. A.; ABIDI, S. F. Dietary isoleucine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v. 13, n.6, p. 424-43, 2007.

KHAN, M. A.; ABIDI, S. F. Optimum histidine requirement of fry African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). **Aquaculture Research**, v. 40, n. 9, p. 1000-1010, 2009.

KHAN, M. A.; ABIDI, S. F. Dietary histidine requirement of Singhi, *Heteropneustes fossilis* fry (Bloch). **Aquaculture Research**, v. 45, n. 8, p. 1341-1354, 2014.

KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 2, p. 500S-507S, 2006.

KUMAR, P.; SAURABH, S.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; ARASU, A. R. T. Stress mitigating and growth enhancing effect of dietary tryptophan in rohu (*Labeo rohita*, Hamilton, 1822) fingerlings. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1325-1338, 2014.

LEPAGE, O.; TOTTMAR, O.; WINBERG, S. Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow

trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Experimental Biology**, v. 205, n. 23, p. 3679-3687, 2002.

LEPAGE, O.; VÍLCHEZ, I. M.; POTTINGER, T. G.; WINBERG, S. Time-course of the effect of dietary L-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 20, p. 3589-3599, 2003.

LI, P.; YIN, Y. L.; LI, D.; KIM, S. W.; WU, G. Y. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 237-252, 2007.

LI, P.; MAI, K.; TRUSHENSKI, J.; WU, G. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. **Amino acids**, v. 37, n. 1, p. 43-53, 2009.

LI, W.; FENG, L.; LIU, Y.; JIANG, W. D.; KUANG, S. Y.; JIANG, J.; LI, S. H.; TANG, L.; ZHOU, X. Q. Effects of dietary phenylalanine on growth, digestive and brush border enzyme activities and antioxidant capacity in the hepatopancreas and intestine of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 913-925, 2015.

LIEBERT, F. Amino acid requirement studies in *Oreochromis niloticus* by application of principles of the diet dilution technique. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, n. 6, p. 787-793, 2009.

LIEBERT, F.; BENKENDORFF, K. Modelling of threonine and methionine requirements of *Oreochromis niloticus* due to principles of the diet dilution technique. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, n. 6, p. 397-406, 2007.

LIND, D. S. Arginine and cancer. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 10, p. 2837s-2841s, 2004.

LU, S. C. Regulation of glutathione synthesis. **Current Topics in Cellular Regulation**, v. 36, p. 95-116, 2000.

LUO, Z.; LIU, Y.-J.; MAI, K.-S.; TIAN, L.-X.; YANG, H.-J.; LIANG, G.-Y.; LIU, D.-H. Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. **Aquaculture Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 165-172, 2006.

LUO, J.-B.; FENG, L.; JIANG, W.-D.; LIU, Y.; WU, P.; JIANG, J.; KUANG, S.-Y.; TANG, L.; ZHANG, Y.-A.; ZHOU, X.-Q. The impaired intestinal mucosal immune system by valine deficiency for young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) is associated with decreasing immune status and regulating tight junction proteins transcript abundance in the intestine. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 40, n. 1, p. 197-207, 2014.

MACEDO, C. F.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 2, p. 149-163, 2010.

MAI, K.; ZHANG, L.; AI, Q.; DUAN, Q.; ZHANG, C.; LI, H.; WAN, J.; LIUFU, Z. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, v. 258, n. 1-4, p. 535-542, 2006a.

MAI, M.; WAN, J.; AI, Q.; XU, W.; LIUFU, Z.; ZHANG, L.; ZHANG, C.; LI, H. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 564 -572, 2006b.

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 Part A: Physiology**, v. 109, n. 2, p. 469-477, 1994.

MARAMMAZI, J. G.; YAGHOUBI, M.; SAFARI, O.; PERES, H.; MOZANZADEH, M. T. Establishing the optimum dietary essential amino acid pattern for silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*) juveniles by deletion method. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 1483-1491, 2017.

MARTINEZ, J. B.; CHATZIFOTIS, S.; DIVANACH, P.; TAKEUCHI, T. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and feed selection of sea bass *Dicentrarchus labrax* fry fed with demand-feeders. **Fisheries Science**, v. 70, p. 74-79, 2004.

MEIJER, A. J. Amino Acids as Regulators and Components of Non-proteinogenic Pathways. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 6, p. 2057S-2062S, 2003.

MÉTAYER, S.; SEILIEZ, I.; COLLIN, A.; DUCHÊNE, S.; MERCIER, Y.; GERAERT, P.-A.; TESSERAUD, S. Mechanisms through which sulfur amino acids control protein metabolism and oxidative status. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 19, p. 207-215, 2008.

MITCHELL, H. H. **Comparative nutrition of man and domestic animals**. New York: Academic Press, 1964. 840p.

MICHELATO, M.; FURUYA, W. M.; GRACIANO, T. S.; VIDAL, L. V. O.; XAVIER, T. O.; MOURA, L. B. D.; FURUYA, V. R. B. Digestible methionine+cystine requirement for Nile tilapia from 550 to 700 g. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 1, p. 7-12, 2013.

MICHELATO, M.; ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W. R.; NOGAROTO, V.; VICARI, M.; ARTONI, R. F.; FURUYA, W. M. Dietary histidine requirement of Nile tilapia juveniles based on growth performance, expression of muscle-growth-related genes and haematological responses. **Aquaculture**, n. 467, p. 63-70, 2016.

MICHELATO, M.; ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W. R.; NOGAROTO, V.; VICARI, M.; ARTONI, R. F.; FURUYA, V. R. B.; FURUYA, W. M. Dietary histidine requirement of Nile tilapia juveniles based on growth performance, expression of muscle-growth-related genes and haematological responses. **Aquaculture**, v. 467, p. 63-70, 2017.

MOMMSEN, T. P.; MOON, T. W.; PLISETSKAYA, E. M. Effects of arginine on pancreatic hormones and hepatic metabolism in rainbow trout. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 74, n. 5, p. 668-678, 2001.

MORRIS, S. M. Arginine: beyond protein. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 2, p. 508S-512S, 2006.

MURILLO-GURREA, D. P.; COLOSO, R. M.; BORLONGAN, I. G.; SERRANO, A. E. Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 2001.

NGAMSNAE, P.; SILVA, S. S.; GUNASEKERA, R. M. Arginine and phenylalanine requirement of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* and validation of the use of body amino acid composition for estimating individual amino acid requirements. **Aquaculture**, v. 5, p. 173-180, 1999.

NOSE, T. Summary report on the requirements of essential amino acids for carp. In: HALVER, J. E.; TIEWS, K. (Eds.). **Finfish nutrition and feed technology**. Universidade da Califórnia: Heenemann Verlagsgesellschaft, 1979. p. 145-156.

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

OEHME, M.; GRAMMES, F.; TAKLE, H.; ZAMBONINO-INFANTE, J. L.; REFSTIE, S.; THOMASSEN, M. S.; RORVIK, K. A.; TERJESEN, B. F. Dietary supplementation of glutamate and arginine to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) increases growth during the first autumn in sea. **Aquaculture**, v. 310, n. 1-2, p. 156-163, 2010.

OLIVA-TELES, A.; PERES, H.; KAUSHIK, S. Dietary arginine supplementation does not improve nutrient utilisation in gilthead seabream. **Aquaculture**, v. 479, n. 1, p. 690-695, 2017.

OPSTVEDT, J.; AKSNES, A.; HOPE, B.; PIKE, I. H. Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins. **Aquaculture**, v. 221, n. 1-4, p. 365-379, 2003.

PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. The concept and use of ideal protein in the feeding of non ruminants. In: Simpósio Internacional de Produção de Não Ruminantes, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: EDUEM, 1994. p. 119-128.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. **Aquaculture**, v. 250, n. 3, p. 755-764, 2005.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. The optimum dietary amino acid profile for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 296, n. 1-2, p. 81-86, 2009.

PIANESSO, D.; RADÜNZ NETO, J.; DA SILVA, L.P.; GOULART, F. R.; ADORIANA, T. J.; MOMBACHA, P.I.; LOUREIRO, B. B.; DALCIN, M. O.;

ROTILI, D. A.; LAZZARI, R. Determination of tryptophan requirements for juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*) and its effects on growth performance, plasma and hepatic metabolites and digestive enzymes activity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 210, p. 172-183, 2015.

PINTO, W.; FIGUEIRA, L.; DINIS, M. T.; ARAGÃO, C. How does fish metamorphosis affect aromatic amino acid metabolism? **Amino Acids**, v. 36, n. 2, p. 177-183, 2009.

POHLENZ, G.; BUENTELLO, A.; CRISCITIELLO, M. F.; MWANGI, W.; SMITH, R.; GATLIN III, D. M. Synergies between vaccination and dietary arginine and glutamine supplementation improve the immune response of channel catfish against *Edwardsiella ictaluri*. **Fish Shellfish Immunology**, v. 33, n. 3, p. 543-551, 2012.

PORTZ, L.; FURUYA, W. M. Energia, proteína e aminoácidos. In: FRACALOSS, D. M.; CYRINO, J. E. P. (Eds.). **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1. ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2013. p. 65-77.

QUADROS, M.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; ABREU, M. L. T.; RIBEIRO, F. B.; TAKISHITA, S. S. 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, n. 8, p. 1400-1406, 2009.

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

RAHIMNEJAD, S.; LEE, K.-J. Dietary Isoleucine Influences Non-Specific Immune Response in Juvenile Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 14, p. 853-862, 2014.

REMØ, S. C.; HEVRØY, E. M.; OLSVIK, P. A.; FONTANILLAS, R.; BRECK, O.; WAAGBØ, R. Dietary histidine requirement to reduce the risk and severity of cataracts is higher than the requirement for growth in Atlantic salmon smolts, independently of the dietary lipid source. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 10, p. 1759-1772, 2014.

RIEGEL, R. E. **Bioquímica**. 5. ed. São Leopoldo: Unisinos, 2012. 197p.

ROLLIN, X.; MAMBRINI, M.; ABOUDI, T.; LARONDELLE, Y.; KAUSHIK, S. J. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. **British Journal of Nutrition**, v. 90, n. 5, p. 865-876, 2003.

ROTH, F. X.; GRUBER, K.; KIRCHGESSNER, M. The ideal dietary amino acid pattern for broiler chicks of age 7 to 28 days. **Archiv fur Geflugelkunde**, v. 65, p. 199-206, 2001.

SANTIAGO, C. B.; LOVELL, R. T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **The journal of nutrition**, v. 118, n. 12, p. 1540-1546, 1988.

SAS (Statistical Analyses System). Version Release 9.4. 2014.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2016. 262p.

SCHJOLDEN, J.; PULMAN, K. G. T.; POTTINGER, T. G.; TOTTMAR, O.; WINBERG, S. Serotonergic characteristics of rainbow trout divergent in stress responsiveness. **Physiology & Behavior**, v. 87, n. 5, p. 938-947, 2006.

SCHUHMACHER, A.; MÜNCH, M.; GROPP, J. M. Non-essential amino acid sources in crystalline amino acid diets for trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 11, n. 3-4, p. 317-321, 1995.

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**, v. 151, n. 1, p. 15-28, 1997.

SCHUHMACHER, A.; GROPP, J. M. Carnitine a vitamin for rainbow trout? **Journal of Applied Ichthyology**, v. 14, p. 87-90, 1998.

SCORVO-FILHO, J. D. Panorama da aquicultura nacional. **InformesTécnicos- Associação Catarinense de Aquicultura**, 2003.

SEGOVIA-QUINTERO, M. A.; REIGH, R. C. Coating crystalline methionine with tripalmitin-polyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 238, n. 1, p. 355-367, 2004.

SHI, Y. Q.; SUN, Y. X.; LUO, L.; JING, T.; CHEN, Y. J.; WEN, H. Dietary leucine requirement of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*). **Journal of Fisheries of China**, v. 10, p. 1778-1786, 2014.

SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES JÚNIOR, A. J.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, v. 35, p. 421-463, 2012.

SINGH, S.; KHAN, M. A. Dietary arginine requirement of fingerling hybrid *Clarias* (*Clarias gariepinus* × *Clarias macrocephalus*). **Aquaculture Research**, v. 38, n. 1, p. 17-25, 2007.

SMALL, B. C.; SOARES JR, J. H. Estimating the quantitative essential amino acid requirements of striped bass *Morone saxatilis*, using fillet A/E ratios. **Aquaculture Nutrition**, v. 4, n. 4, p. 225-232, 1998.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Boletim técnico, n. 1. Jaboticabal: FUNEP. 1994. 70p.

SUGIYAMA, K.; KANAMORI, H.; AKACHI, T.; YAMAKAWA, A. Amino acid composition of dietary proteins affects plasma cholesterol concentration through

alteration of hepatic phospholipid metabolism in rats fed a cholesterol-free diet. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 7, n. 1, p. 40-48, 1996.

TAKAGI, S.; SHIMENO, S.; HOSOKAWA, H.; UKAWA, M. Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*. **Fisheries Science**, v. 67, n. 6, p. 1088-1096, 2001.

TAN, X.; LIN, H.; HUANG, Z.; ZHOU, C.; WANG, A.; QI, C.; ZHAO, S. Effects of dietary leucine on growth performance, feed utilization, non-specific immune responses and gut morphology of juvenile Golden pompano *Trachinotus ovatus*. **Aquaculture**, v.465, p.100-107, 2016.

TANG, L.; WANG, G.; JIANG, J.; FENG, L.; YANG, L.; LI, S.; KUANG, S.; ZHOU, X. Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture Nutrition**, v. 15, p. 477-483, 2009.

TEJPAL, C. S.; PAL, A.K.; SAHU, N.P.; KUMAR, A.; MUTHAPPA, N. A.; VIDYA, S.; RAJAN, M. G. Dietary supplementation of L-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings. **Aquaculture**, v. 293, n. 3-4, p. 272-277, 2009.

TESHIMA, S.; ALAM, M. S.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; KANAZAWA, A. Assessment of requirement values for essential amino acids in the prawn, *Marsupenaeus japonicus* (Bate). **Aquaculture Research**, v. 33, n. 6, p. 395-402, 2002.

TWIBELL, R. G.; WILSON, K. A.; BROWN, P. B. Dietary Sulfur Amino Acid Requirement of Juvenile Yellow Perch Fed the Maximum Cystine Replacement Value for Methionine. **American Society for Nutritional Sciences**, v.130, n. 3, p. 612-616, 2000.

TIBALDI, E.; KAUSHIK, S. J. Amino acid requirements of Mediterranean fish species. **Cahiers Options Méditerranéens**, v. 63, p. 59-65, 2005.

VUGHT, A.J.A.H.; NIEUWENHUIZEN, A. G.; BRUMMER, R. M.; WESTERTERP-PLANTENGA, M.S. Effects of oral ingestion of amino acids and proteins on the somatotrophic axis. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 93, n. 2, p. 584-590, 2008.

WAAGBØ, R.; TRÖBE, C.; KOPPE, W.; FONTANILLAS, R.; BRECK, O. Dietary histidine supplementation prevents cataract development in adult Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in seawater. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 10, p. 1460-1470, 2010.

WALTON, M. J.; COWEY, C. B.; ADRON, J. W. Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content. **Journal of Nutrition**, v. 112, p. 1525-1535, 1982.

WANG, T. C.; FULLER, M. F. The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 62 n. 1, p. 77-89, 1989.

WANG, B.; FENG, L.; CHEN, G.-F.; JIANG, W.-D.; LIU, Y.; KUANG, S.-Y.; JIANG, J.; TANG, L.; WU, P.; TANG, W.-N.; ZHANG, Y.-A.; ZHAO, J.; ZHOU, X.-Q. Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) intestinal immune responses, antioxidant status and tight junction protein mRNA expression are modulated via Nrf2 and PKC in response to dietary arginine deficiency. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 51, p. 116-124, 2016.

WEISSBACH, H.; RESNICK, L.; BROTH, N. Methionine sulfoxide reductases: history and cellular role in protecting against oxidative damage. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1703, p. 203-212, 2005.

WEN, H.; FENG, L.; JIANG, W.; LIU, Y.; JIANG, J.; LI, S.; TANG, L.; ZHANG, Y.; KUANG, S.; X ZHOU, Y. Dietary tryptophan modulates intestinal immune response, barrier function, antioxidant status and gene expression of TOR and Nrf2 in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 40, n. 1, 275-287, 2014.

WILSON, R. P. Amino acid and protein requirements of fish. In: EL-SAYED E.; TESHIMA, C. B.; MACKIE, A. M.; BELL, J. G. (Eds). **Nutrition and feeding of fish**. London: Academic Press, 1985. p. 1-16.

WILSON, R. P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J. E. **Fish Nutrition**. London: Academic Press, 1989. p. 111-151.

WILSON, R. P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds). **Fish nutrition**. 3. ed. Washington: Academic Press, 2002. p.143-179.

WILSON, R. P. Amino Acid Requirements of Finfish and Crustaceans. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.). **Amino Acids in Animal Nutrition**. 2. ed. Wallingford, England: CABI Publishing, 2003. p. 427-447.

WILSON, R. P.; HALVER, J. E. Protein and amino acid requirements of fishes. **Annual Review of Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 225-244, 1986.

WINBERG, S.; OVERLI, O.; LEPAGE, O. Suppression of aggression in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) by dietary L-tryptophan. **Journal of Experimental Biology**, v. 204, p. 3867-3876, 2001.

WOLKERS, C. P. B.; SERRA, M.; HOSHIBA, M. A.; URBINATI, E. C. Dietary L-tryptophan alters aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 819-827, 2012.

WU, G. Y.; FANG, Y. Z.; YANG, S.; LUPTON, J. R.; TURNER, N. D. Glutathione metabolism and its implications for health. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 489-492, 2004.

WU, G. **Amino Acids: Biochemistry and Nutrition**. Florida: CRC Press, 2013. 458p.

WU, G. Functional amino acids in nutrition and health. **Amino Acids**, v. 45, n. 3, p. 407-411, 2013.

WU, G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n. 34, p. 1-12, 2014.

WU, C. L.; CHEN, L.; LU, Z.; GAO, J.; CHU, Y.; LI, L.; WANG, M.; ZHANG, G.; ZHANG, M.; YE, J. The effects of dietary leucine on the growth performances, body composition, metabolic abilities and innate immune responses in black carp *Mylopharyngodon piceus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 67, p. 419-428, 2017.

ZEHRRA, S.; KHAN, M. A. Dietary histidine requirement of fingerlings *Catla catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, histidine gain, RNA/DNA ratio, haematological indices and carcass composition. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 4, p. 1028-1039, 2014.

ZHAO, B.; FENG, L.; LIU, Y.; KUANG, S.-Y.; TANG, L.; JIANG, J.; HU, K.; JIANG, W.-D.; LI, S.-H.; ZHOU, X.-Q. Effects of dietary histidine levels on growth performance, body composition and intestinal enzymes activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture Nutrition**, v. 18, n. 2, p. 220-232, 2012a.

ZHAO, J.; LIU, Y.; JIANG, J.; WU, P.; CHEN, G. F.; JIANG, W.; LI, S.; TANG, L.; KUANG, S.; FENG, L.; ZHOU, X. Effects of dietary isoleucine on growth, the digestion and absorption capacity and gene expression in hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v. 368-369, p.117-128, 2012b.

ZHAO, J.; LIU, Y.; JIANG, J.; WU, P.; JIANG, W.; LI, S.; TANG, L.; KUANG, S.; FENG, L.; ZHOU, X. Effects of dietary isoleucine on the immune response, antioxidant status and gene expression in the head kidney of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 35, n. 2, p. 572-580, 2013.

ZHAO, J.; FENG, L.; LIU, Y.; JIANG, W.; WU, P.; JIANG, J.; Zhang, Y.; Zhou, X. Effect of dietary isoleucine on the immunity, antioxidant status, tight junctions and microflora in the intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 41, n. 2, p. 663-673, 2014.

ZHOU, X.; HE, L.; WAN, D.; YANG, H.; YAO, K.; WU, G.; WU, X.; YIN, Y. Methionine restriction on lipid metabolism and its possible mechanisms. **Amino Acids**, v. 48, p. 1533-1540, 2016.

CAPÍTULO 2 – Perfil ideal de aminoácidos essenciais em dietas para tilápia-do-Nilo, na fase de terminação, pelo método de deleção

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas da revista **Aquaculture Nutrition**.

Título curto: Relação de aminoácidos essenciais para *Oreochromis niloticus*

Título: Perfil ideal de aminoácidos essenciais em dietas para tilápia-do-Nilo, na fase de terminação, pelo método de deleção

Andressa Tellechea Rodrigues*, Cleber Fernando Menegasso Mansano¹, Kifayat Ullah Khan², Thiago Matias Torres do Nascimento³, André Zuffo Boaratti², Rafael de Souza Romanelli², Nilva Kazue Sakomura⁴ e João Batista Kochenborger Fernandes².

*²Centro de Aquicultura da UNESP- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

¹Universidade Brasil (Univ. Brasil) - Estação Projetada F-1, s/n - Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo, Brasil.

³MCassab Comércio e Indústria Ltda. Avenida das Nações Unidas, 20822. Via Almeida, 04795000, São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁴Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Correspondente: Andressa Tellechea Rodrigues, Centro de Aquicultura da UNESP- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. E-mail: andressatellechea0@gmail.com

RESUMO

Objetivou-se por meio deste estudo, estimar o perfil ideal de aminoácidos essenciais (AAEs) para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação. Assim, 264 peixes com peso médio inicial de 625g foram distribuídos em um delineamento inteiramente ao acaso, em 33 unidades experimentais de 1000L em um sistema de recirculação de água. O experimento teve duração de 60 dias e foi composto por 11 tratamentos com três repetições. Os tratamentos consistiram em uma dieta controle (DC) composta em 45% de aminoácidos cristalinos e ingredientes purificados e em 55% de ingredientes convencionais para atendimento das exigências nutricionais para a espécie e 10 tratamentos testes (DL) limitantes entre 33% a 41% em cada um dos aminoácidos essenciais avaliados (arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina). As dietas experimentais foram extrusadas e fornecidas três vezes ao dia até a saciedade aparente dos animais e o consumo diário foi registrado. A coleta de um grupo de 15 peixes foi realizada inicialmente e, ao final do período experimental, 15 peixes de cada tratamento foram utilizados para realização da análise química da composição corporal. A determinação da relação dos aminoácidos essenciais foi realizada pela relação entre a retenção de nitrogênio corporal e a quantidade de aminoácido deletado da dieta teste. Os dados foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA). Quando ocorreram diferenças significativas nos dados de desempenho, o teste de Duncan ($P < 0,05$) foi aplicado para a comparação das médias. Os valores de deposição de nitrogênio foram submetidos ao teste de Dunnett ($P < 0,05$) para a comparação dos tratamentos testes (DL) com o tratamento controle (DC). Os peixes alimentados com o tratamento controle obtiveram maior ganho em peso, resultando em maior deposição de nitrogênio. Os resultados forneceram a seguinte relação dos aminoácidos essenciais, expressos em relação à lisina (100%): arginina (80,73); fenilalanina (69,73); histidina (34,15); isoleucina (51,24); leucina (66,01); metionina (41,49); treonina (88,96); triptofano (23,07) e valina (72,63).

PALAVRAS-CHAVE

nutrição, aminoácidos essenciais, crescimento, retenção de nitrogênio corporal, proteína balanceada, *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the ideal profile of essential amino acids (EAAs) for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the finishing growth phase. The experiment was conducted for 60 days and total 264 fish with initial average body weight of 625g were distributed among 33 experimental units (fiber tanks) of 1,000L each, being connected to a water recirculation system. The experimental design was completely randomized which consisted of 11 treatments and three replicates each. The treatments consisted of a control diet (CD) which was provided with 45% crystalline amino acids and purified ingredients and 55% of conventional ingredients to meet the nutritional requirements of the species under study and other 10 test diets (TD) being limited in 33% to 41% of the evaluated essential amino acids such as, arginine, phenylalanine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan and valine, respectively. The experimental diets were extruded and fed to fish three times a day until apparent satiation and daily feed intake was recorded. A group of 15 fish was initially sampled and at the end of the experimental period 15 fish from each treatment were sampled to perform the chemical analysis of body composition. The determination of the ratios of essential amino acids was performed by the relationship between body nitrogen retention and amount of amino acid being deleted from the test diet. Data were submitted to the analysis of variance (One-way ANOVA). When significant differences in performance data were observed, the Duncan test ($P < 0.05$) was applied to compare the means. The nitrogen deposition values were submitted to the Dunnet test ($P < 0.05$) to compare the test diets (TD) with the control diet (CD). Fish fed with the control diet showed higher weight gain and resulted in higher nitrogen deposition. The obtained results provided the following ratios of the essential amino acids, expressed in relation to lysine (100%): arginine (80.73); phenylalanine (69.73); histidine (34.15); isoleucine (51.24); leucine (66.01); methionine (41.49); threonine (88.96); tryptophan (23.07) and valine (72.63).

KEYWORDS

nutrition, essential amino acids, growth, body nitrogen retention, balanced protein, *Oreochromis niloticus*

1 INTRODUÇÃO

Os desafios da aquicultura estão atrelados à necessidade de melhorar os índices econômicos e reduzir o impacto ambiental ocasionado pela atividade (Cyrino, Bicudo, Sado, Borghesi & Dairiki, 2010; Henry-Silva & Camargo, 2008; Resende, 2009; Science for Environment Policy, 2015). Os custos com a alimentação podem representar até 70% do total da produção (Sidonio et al., 2010; Webster & Lim, 2002), o que tem estimulado pesquisas com o intuito de conhecer a quantidade mínima de proteína, considerada ideal para a espécie retribuir com melhor desempenho zootécnico.

A fração proteica da dieta é o componente mais oneroso na alimentação de peixes, e fornece aminoácidos (AAs) principalmente para o crescimento do tecido muscular (Riegel, 2012). Porém os peixes não possuem necessidade nutricional específica de proteína, mas de adequado balanceamento entre os aminoácidos essenciais que devem ser incluídos nas dietas e os não essenciais que são sintetizados suficientemente pelo organismo (Bicudo & Cyrino, 2009; Wilson & Halver, 1986). Além disso, para a redução dos custos de produção de uma ração, cada vez mais são utilizadas fontes alternativas de proteína de origem vegetal, em substituição a fontes de origem animal, sendo necessária a estimativa da exigência de aminoácidos essenciais das espécies eleitas, assim como o balanceamento das dietas (Peres & Oliva-Teles, 2005).

A possibilidade de reduzir o teor de proteína na dieta foi demonstrada utilizando o conceito de proteína ideal para equilibrar o conteúdo de aminoácidos (Boisen, Hvelplund & Weisbjerg, 2000; Wilson, 2003; Wilson & Poe, 1985). Assim, o conceito de proteína ideal é o adequado balanceamento de aminoácidos conforme a exigência nutricional que estejam prontamente disponíveis à digestão e metabolismo para proporcionar melhor desempenho produtivo (Wu, 2013; Wu, 2014; Sakomura & Rostagno, 2016).

Dessa forma, a otimização da utilização do perfil de aminoácidos essenciais na dieta, conforme a necessidade da tilápia-do-Nilo e a fase de terminação deve apresentar, a partir de determinada ingestão de nitrogênio, a máxima retenção desse nutriente para a deposição de proteína muscular para o

crescimento e mínima excreção do mesmo (Boisen et al., 2000; Furuya, 2010; Peres & Oliva-Teles, 2009; Wang & Fuller, 1989; Wu, 2014).

A formulação de dietas com o perfil de aminoácidos e conteúdo proteico adequado para a fase de terminação da espécie é indispensável para o melhor aproveitamento desses nutrientes para o crescimento, além de propiciar menores perdas de nitrogênio para o ambiente, maior produtividade e benefícios econômicos (Furuya, 2010; Peres & Oliva-Teles, 2005; Peres & Oliva-Teles, 2009; Rollin, Mambrini, Abboudi, Larondelle & Kaushik, 2003; Yang, Liou & Liu, 2002).

Para estimar o perfil aminoacídico em dietas para peixes, existem alguns métodos, como a análise do perfil de aminoácidos na composição corporal, método dose-resposta, deleção de aminoácidos e metanálise. Entre eles, a análise do perfil de aminoácidos da composição corporal, apresenta-se como uma forma rápida e como um ponto de partida para futuros estudos. Nesse método, os resultados são valores aproximados porque não são considerados os gastos metabólicos do animal e somente a deposição de aminoácidos nos tecidos corporais (Diógenes et al., 2016; Furuya, 2010; Green & Hardy, 2002; Mambrini & Kaushik, 1995; Peres & Oliva-Teles, 2009).

O método de dose-resposta é o mais utilizado para estimar a exigência de aminoácidos e implica em ensaios experimentais com níveis crescentes de inclusão do aminoácido essencial testado. Desta forma, há necessidade de pelo menos 10 ensaios experimentais, uma vez que é testado um AAE por vez, acarretando altos custos e longos períodos de pesquisas (Diógenes et al., 2016; Dorigam, 2016; Green & Hardy, 2002; Peres & Oliva-Teles, 2009; Rollin et al., 2003). Diversos fatores podem influenciar esse método, e os resultados finais podem apresentar divergências, em virtude da diferença na composição das dietas, condições de cultivo, características genéticas, idade, parâmetros físico-químico da água, taxa de alimentação, tamanho e heterogeneidade entre os lotes (Green & Hardy, 2002; Rollin et al., 2003).

Considerando o longo período de pesquisas e as divergências em resultados citados no método dose-resposta, para minimizar estes problemas, está sendo aplicado em estudos para peixes o método de deleção de aminoácidos, que consiste na mudança da retenção de nitrogênio devido à deleção parcial de cada aminoácido essencial na dieta, permitindo estimar a

relação aminoacídica para peixes em um único ensaio experimental (Abboudi, Mambrini, Oghe, Larondelle & Rollin, 2006; Diógenes et al., 2016; Green & Hardy, 2002; Peres & Oliva-Teles, 2009; Rollin et al., 2003).

A utilização do método de deleção tem sido aplicada em várias pesquisadas e apresentando resultados com uma variedade de espécies de peixes, como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Green & Hardy, 2002), salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.) (Rollin et al., 2003), com a Dourada (*Sparus aurata*) (Peres & Oliva-Teles, 2009), juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Diógenes et al., 2016) e “pargo prateado-preto” (*Sparidentex hasta*) (Marammazi, Yaghoubi, Safari, Peres & Mozanzadeh, 2017).

Atualmente, existem publicações, como o NRC (2011) e as Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias (Furuya, 2010), que disponibilizam recomendações nutricionais, geralmente obtidas em ensaios de dose-resposta, as quais não incluem o estágio de terminação da espécie. Portanto, o objetivo deste estudo é estimar o perfil ideal de aminoácidos essenciais (arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina) em dietas para tilápia-do-Nilo na fase de terminação com a utilização do método de deleção.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Modelagem em Nutrição de Peixes, pertencente ao Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (UNESP) “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil, no período de dezembro de 2017 a fevereiro de 2018, totalizando 60 dias experimentais. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) dessa universidade (protocolo número 9999/14).

2.1 Delineamento experimental

Foram distribuídas em 33 unidades experimentais, 264 tilápias-do-Nilo da linhagem GIFT, invertidas sexualmente para macho, com peso médio inicial de 625g, sendo oito animais por unidade experimental em um delineamento

inteiramente ao acaso, composto por 11 dietas experimentais com três repetições. Uma amostra inicial de 15 peixes foi coletada para a análise química da composição corporal da população.

Os tratamentos consistiram em uma dieta controle (DC) composta em 55% de ingredientes convencionais e em 45% de aminoácidos cristalinos e ingredientes purificados com atendimento ao perfil completo de aminoácidos essenciais e exigências nutricionais para a espécie. Os outros dez tratamentos consistiram em dietas com 45% de deleção de cada aminoácido essencial (AAE) testado (arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina).

2.2 Instalações, manejo e condições experimentais

Os peixes foram alojados em um sistema fechado de recirculação de água, equipado com filtragem mecânica e biológica, trocador de calor e aeração, composto por 33 caixas de fibra de vidro com capacidade volumétrica de 1000 litros, com renovação total de seu volume 16 vezes ao dia.

Antes do início do período experimental, os animais foram adaptados ao sistema por 14 dias recebendo ração comercial. As dietas experimentais foram fornecidas três vezes ao dia, às 8h00min, às 13h00m e às 18h00min, até a saciedade aparente dos peixes.

Os parâmetros físico-químicos da água, como potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido, amônia total, nitrito e nitrato foram aferidos semanalmente; já a temperatura máxima ($28,00^{\circ}\text{C} \pm 0,87$) e mínima ($26,3^{\circ}\text{C} \pm 0,78$) foram aferidas diariamente. O pH ($7,00 \pm 0,26$) e oxigênio dissolvido da água ($5,07\text{mg/l} \pm 0,28$) foram mensurados por intermédio de, respectivamente, pHmetro (modelo YSI-12 EcoSense® pH100A) e oxímetro (modelo YSI-EcoSense® DO200A). As concentrações de amônia, nitrato e nitrito da água do sistema foram determinadas pelo método colorimétrico em amostras na entrada (amônia total média: $0,16 \text{ mg/l} \pm 0,11$; nitrato médio: $0,86\text{mg/l} \pm 0,03$ e nitrito médio: $0,11\text{mg/l} \pm 0,06$) e saída (amônia total média: $0,18 \text{ mg/l} \pm 0,15$; nitrato médio: $0,87 \text{ mg/l} \pm 0,04$ e nitrito médio: $0,14 \text{ mg/l} \pm 0,11$) do sistema de recirculação, com leitura no espectrofotômetro, de acordo com o método de

Koroleff (1976), Golterman, Clymo e Ohnstad (1978) e Mackereth, Heron e Talling (1978), respectivamente.

Para a manutenção da qualidade da água, quinzenalmente ocorreu à sifonagem de água das unidades experimentais para a sua renovação e semanalmente, para a limpeza do filtro mecânico. Os parâmetros físico-químicos da água mantiveram-se dentro dos níveis adequados para criação de peixes (Sipaúba-Tavares, 1994; Sipaúba-Tavares & Santeiro, 2013).

2.3 Dietas experimentais

Para a formulação das dietas, os ingredientes foram previamente analisados quanto aos níveis de matéria seca, proteína bruta, lipídios, matéria mineral e energia bruta (AOAC, 2016), e a composição aminoacídica analisada por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS). Em seguida, com o auxílio do software SuperCrac 6.1 Premium, seguindo as exigências nutricionais para tilápia descritas por Furuya (2010), os ingredientes foram incluídos na formulação de 11 dietas experimentais (Tabela 1), sendo uma dieta controle (DC) e dez dietas testes (DL) limitantes em 45% em um dos aminoácidos essenciais (AAE) avaliados (Tabela 2).

A dieta controle (DC) foi elaborada para atender 100% das exigências de aminoácidos, energia e demais nutrientes para tilápia, composta em 45% de aminoácidos cristalinos e de outros ingredientes purificados e em 55% de ingredientes convencionais, como o milho, farelo de soja, farinha de peixe, quirera de arroz e farinha de carne e ossos, conforme a Tabela 02. Para a elaboração das dez dietas testes (DL), a dieta controle foi formulada com a deficiência de 45% em cada aminoácido essencial teste, e para manter a mesma quantidade de nitrogênio da dieta controle (DC) foi realizada a adição de três AAs não essenciais (L-ácido glutâmico, L-alanina e L-glicina), na mesma proporção. Quando o teor de proteína digestível da dieta teste era atendido, o amido de milho era incluído para a composição da dieta atender 100% da quantidade total de inclusão de ingredientes.

Tabela 1 Formulação das dietas experimentais (valores com base na matéria natural).

Ingredientes (g/kg)	DC*	DL-ARG*	DL-PHE*	DL-HIS*	DL-ISO*	DL-LEU*	DL-LYS*	DL-MET*	DL-THR*	DL-TRP*	DL-VAL*
Ágar-ágar	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Amido de milho	283,84	277,88	284,30	282,05	285,14	284,43	283,70	284,63	284,86	283,97	284,55
Antifúngico	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Antioxidante	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78
Calcário	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40	21,40
Celulose purificada	26,05	26,05	26,05	26,05	25,65	26,05	26,05	26,05	26,05	26,05	26,05
Farelo de soja	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70	40,70
Farelo de trigo	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25	74,25
Farinha de carne e ossos	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
Farinha de peixe	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80	63,80
Fosfato bicálcico	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03	14,03
Milho	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35	141,35
Quirera de arroz	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10	45,10
Óleo de soja	68,35	68,15	69,35	68,35	68,45	68,85	68,35	68,35	68,35	68,35	68,35
Suplemento vitamínico e mineral ¹	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Sal comum	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Aminoácidos											
L-arginina	6,71	1,53	6,71	6,71	6,71	6,71	6,71	6,71	6,71	6,71	6,71
L-fenilalanina	4,76	4,76	1,35	4,76	4,76	4,76	4,76	4,76	4,76	4,76	4,76
L-histidina	3,15	3,15	3,15	1,02	3,15	3,15	3,15	3,15	3,15	3,15	3,15
L-isoleucina	6,10	6,10	6,10	6,10	2,28	6,10	6,10	6,10	6,10	6,10	6,10
L-leucina	4,18	4,18	4,18	4,18	4,18	0,00	4,18	4,18	4,18	4,18	4,18
L-lisina	13,34	13,34	13,34	13,34	13,34	13,34	5,38	13,34	13,34	13,34	13,34

DL-metionina	3,48	3,48	3,48	3,48	3,48	3,48	3,48	1,34	3,48	3,48	3,48
L-treonina	8,55	8,55	8,55	8,55	8,55	8,55	8,55	8,55	3,63	8,55	8,55
L-triptofano	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	0,85	2,09
L-valina	4,72	4,72	4,72	4,72	4,72	4,72	4,72	4,72	4,72	4,72	1,22
L-ácido glutâmico	43,10	46,88	43,75	44,41	44,04	44,13	45,80	43,55	44,40	43,47	44,03
L-alanina	43,10	46,88	43,75	44,41	44,04	44,13	45,80	43,55	44,40	43,47	44,03
L-glicina	43,10	46,88	43,75	44,41	44,04	44,13	45,80	43,55	44,40	43,47	44,03

*DC–Dieta controle; DL–Dieta limitante; LYS–lisina; MET–metionina; THR–treonina; TRP–triptofano; ARG–arginina; HIS–histidina; ILE–isoleucina; LEU–leucina; PHE–fenilalanina; VAL–valina

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

Tabela 2 Composição química calculada das onze dietas experimentais (valores com base na matéria seca).

Composição Química Calculada ⁵ (g/kg)	DC*	DL-ARG*	DL-PHE*	DL-HIS*	DL-ISO*	DL-LEU*	DL-LYS*	DL-MET*	DL-THR*	DL-TRP*	DL-VAL*
Matéria seca	938,1	956,4	951,5	953,2	952,2	956,9	958,3	952,7	952,5	944,8	948,3
Proteína bruta	270,01	264,76	266,15	265,67	265,93	264,70	264,25	265,81	265,92	268,03	267,10
Proteína digestível ¹	259,14	254,08	255,41	254,96	255,20	254,04	253,60	255,10	255,20	257,22	256,33
Extrato etéreo bruto	89,76	87,83	89,54	88,33	88,53	88,51	87,86	88,38	88,40	89,12	88,79
Extrato etéreo digestível ¹	74,73	73,10	74,55	73,53	73,69	73,69	73,13	73,56	73,58	74,18	73,91
Energia bruta (MJ/kg)	16,45	16,43	16,43	16,45	16,40	16,41	16,41	16,43	16,44	16,43	16,41
Energia digestível (MJ/kg) ¹	13,10	13,11	13,07	13,10	13,05	13,05	13,06	13,07	13,08	13,08	13,06
Extrato não nitrogenado ²	444,73	430,69	438,88	436,01	439,27	436,53	435,21	438,63	438,93	441,68	440,59
Fibra bruta ³	39,50	38,74	38,94	38,87	38,58	38,72	38,66	38,89	38,90	39,22	39,07
Matéria mineral	66,71	65,43	65,77	65,65	65,72	65,40	65,30	65,69	65,70	66,24	65,99
Cálcio total ⁴	13,01	12,76	12,83	12,80	12,82	12,75	12,74	12,81	12,81	12,92	12,87
Fósforo disponível ⁴	6,57	6,44	6,47	6,46	6,47	6,44	6,43	6,46	6,47	6,52	6,49

Aminoácidos essenciais

Arginina total	12,69	7,11	12,51	12,48	12,50	12,44	12,42	12,49	12,49	12,60	12,55
Arginina digestível ¹	12,15	6,56	11,98	11,96	11,97	11,91	11,90	11,97	11,97	12,07	12,02
Fenilalanina total	8,42	8,26	4,73	8,29	8,30	8,26	8,24	8,29	8,29	8,36	8,33
Fenilalanina digestível ¹	7,99	7,84	4,34	7,87	7,88	7,84	7,83	7,87	7,87	7,94	7,91
Histidina total	5,22	5,12	5,15	2,94	5,15	5,12	5,11	5,14	5,14	5,19	5,17
Histidina digestível ¹	5,01	4,91	4,94	2,71	4,94	4,91	4,90	4,93	4,93	4,97	4,96
Isoleucina total	9,38	9,20	9,25	9,23	5,25	9,20	9,18	9,24	9,24	9,31	9,28
Isoleucina digestível ¹	8,95	8,78	8,83	8,81	4,85	8,78	8,77	8,82	8,82	8,89	8,86
Leucina total	10,55	10,35	10,40	10,39	10,40	6,06	10,33	10,39	10,39	10,48	10,44
Leucina digestível ¹	9,81	9,62	9,67	9,65	9,66	5,32	9,60	9,66	9,66	9,74	9,70
Lisina total	15,14	14,85	14,92	14,90	14,91	14,84	8,35	14,91	14,91	15,03	14,97
Lisina digestível ¹	14,71	14,43	14,50	14,48	14,49	14,42	7,92	14,49	14,49	14,61	14,55
Metionina total	5,22	5,12	5,15	5,14	5,15	5,12	5,11	2,94	5,14	5,19	5,17
Metionina digestível ¹	5,01	4,91	4,94	4,93	4,94	4,91	4,90	2,71	4,93	4,97	4,96
Treonina total	11,94	11,71	11,77	11,75	11,76	11,70	11,69	11,76	6,72	11,85	11,81
Treonina digestível ¹	11,41	11,19	11,25	11,23	11,24	11,18	11,17	11,23	6,18	11,33	11,28
Triptofano total	2,98	2,93	2,94	2,94	2,94	2,93	2,92	2,94	2,94	1,69	2,95
Triptofano digestível ¹	2,88	2,82	2,84	2,83	2,84	2,82	2,82	2,83	2,83	1,57	2,85
Valina total	8,63	8,47	8,51	8,50	8,51	8,46	8,45	8,50	8,50	8,57	4,96
Valina digestível ¹	7,99	7,84	7,88	7,87	7,88	7,84	7,83	7,87	7,87	7,94	4,35

Aminoácidos não essenciais

Ácido Glutâmico total	46,05	49,03	46,03	46,63	46,30	46,16	47,82	45,76	46,66	46,06	46,48
Glicina total	46,05	49,03	46,03	46,63	46,30	46,16	47,82	45,76	46,66	46,06	46,48
Alanina total	46,05	49,03	46,03	46,63	46,30	46,16	47,82	45,76	46,66	46,06	46,48

*DC–Dieta controle; DL–Dieta limitante; LYS–lisina; MET–metionina; THR–treonina; TRP–triptofano; ARG–arginina; HIS–histidina; ILE–isoleucina; LEU–leucina; PHE–fenilalanina; VAL–valina

¹Valores digestíveis calculados segundo coeficientes determinados por Furuya (2010)

²Extrato não nitrogenado ENN= MS – (PB+EE+MM+FB)

³Fibra bruta calculada

⁴Valores calculados a partir da composição química dos ingredientes disponibilizados em Rostagno et al. (2017) e Furuya (2010)

⁵Composição calculada com base em análises pelo NIRS dos alimentos utilizados na confecção das dietas.

De acordo com metodologia proposta por Mambrini e Kaushik (1994), foi realizado um “coating” com 1% de ágar-ágar aos AAs cristalinos antes de serem misturados aos demais ingredientes. O procedimento foi realizado com o intuito de tornar a absorção mais lenta no lúmen intestinal, promovendo uma absorção dos AAs cristalinos mais próximos ao encontrado nas proteínas naturais (Alam et al., 2005; Fournier et al., 2002; Mambrini & Kaushik, 1994; Peres & Oliva-Teles, 2005; Peres & Oliva-Teles, 2009; Segovia-Quintero & Reigh, 2004; Schuhmacher, Wax & Gropp, 1997). A quantidade de água adicionada correspondeu a 21% do peso da dieta, que foi aquecida até atingir 100°C para que 1% de ágar-ágar fosse dissolvido. Após esse processo, a solução foi resfriada naturalmente até atingir 40°C para a adição dos aminoácidos cristalinos (evitando a volatilização dos mesmos). Posteriormente, a mistura do ágar-ágar com os AAs foi homogeneizada em processador industrial de alimentos.

Após a mistura dos AAs aos demais componentes das dietas, que previamente foram finamente moídos com a utilização de um moinho centrífugo simples (Modelo MCS 280, Moinhos Viera, Tatuí, Brasil) equipado com uma peneira de crivo de 0,3 mm, os ingredientes foram homogeneizados em misturador “Y” com capacidade de 100 kg. As dietas foram extrusadas, obtendo-se granulometria de 6 mm, usando-se extrusora de eixo simples (Modelo Ex Micro, Exteec, Ribeirão Preto, Brasil) com capacidade média de extrusão de 20 kg h⁻¹. A temperatura da extrusora foi mantida acima de 90 °C. Após o processamento, as dietas foram secas em estufa de circulação de ar forçada a 55 °C durante 24 horas.

Posteriormente, as dietas foram analisadas (Tabela 3) quanto aos níveis de matéria seca e matéria mineral (AOAC, 2016); proteína bruta pelo método de Dumas em aparelho Leco 528 LC (Etheridge, Pesti & Foster, 1998); extrato etéreo pelo método de hidrólise ácida (AOAC, 2016); energia bruta determinada em bomba calorimétrica e análise do teor de aminoácidos (AOAC, 1995)- aminoácidos livres e totais (DIRETIVA 98/64/CE, 1998) e triptofano livre e total (DIRETIVA 200/45/CE, 2000)-, respectivamente por cromatografia de troca iônica e cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), pela Evonik Industries AG e mantidas em câmara fria (-10°C) até a utilização.

Tabela 3 Composição química analisada das onze dietas experimentais (valores com base na matéria seca).

Composição Química Analisada (g/kg)	DC*	DL-ARG*	DL-PHE*	DL-HIS*	DL-ISO*	DL-LEU*	DL-LYS*	DL-MET*	DL-THR*	DL-TRP*	DL-VAL*
Matéria seca	938,10	956,40	951,50	953,20	952,20	956,90	958,30	952,70	952,50	944,80	948,30
Proteína bruta	293,79	294,33	294,90	296,58	295,74	296,48	296,98	296,32	294,59	296,25	295,48
Proteína digestível ¹	281,95	282,48	283,02	284,63	283,82	284,54	285,02	284,38	282,73	284,32	283,58
Extrato etéreo bruto	109,16	98,60	104,89	102,81	102,92	99,91	103,83	103,18	100,58	99,49	103,87
Extrato etéreo digestível ¹	90,86	82,06	87,33	85,58	85,67	83,17	86,43	85,89	83,72	82,82	86,46
Energia bruta (MJ/kg)	18,96	18,99	18,96	19,16	19,09	18,86	18,97	19,03	18,93	19,17	19,13
Energia digestível (MJ/kg) ¹	15,10	15,15	15,08	15,27	15,19	15,00	15,10	15,15	15,07	15,26	15,22
Extrato não nitrogenado ²	444,72	430,69	438,88	436,01	439,27	436,53	435,21	438,63	438,93	441,68	440,59
Fibra bruta ³	39,50	38,74	38,94	38,87	38,58	38,72	38,66	38,89	38,90	39,22	39,07
Matéria mineral	66,71	65,43	65,77	65,65	65,72	65,40	65,30	65,69	65,70	66,24	65,99
Cálcio total ⁴	13,01	12,76	12,83	12,80	12,82	12,75	12,74	12,81	12,81	12,92	12,87
Fósforo disponível ⁴	6,57	6,44	6,47	6,46	6,47	6,44	6,43	6,46	6,47	6,52	6,49
Aminoácidos essenciais											
Arginina total	13,91	8,51	14,27	14,24	14,08	14,21	14,12	14,00	14,05	14,10	13,95
Arginina digestível ¹	13,33	7,85	13,67	13,64	13,49	13,62	13,53	13,41	13,46	13,51	13,37
Fenilalanina total	9,28	9,18	5,81	9,39	9,40	9,38	9,26	9,47	9,84	9,46	9,42
Fenilalanina digestível ¹	8,81	8,72	5,33	8,91	8,92	8,91	8,79	8,99	9,34	8,98	8,94
Histidina total	5,75	5,68	6,20	4,02	6,12	6,12	6,09	6,08	6,07	6,12	6,02
Histidina digestível ¹	5,51	5,45	5,95	3,71	5,87	5,87	5,85	5,83	5,82	5,87	5,78
Isoleucina total	9,85	10,10	10,13	10,18	6,16	10,14	10,10	10,19	10,12	10,22	10,05
Isoleucina digestível ¹	9,40	9,64	9,67	9,71	5,70	9,68	9,64	9,73	9,66	9,76	9,59
Leucina total	11,90	11,87	12,15	12,09	12,15	7,70	12,07	12,09	12,05	12,10	12,04
Leucina digestível ¹	11,06	11,03	11,29	11,23	11,29	6,76	11,22	11,24	11,20	11,24	11,19
Lisina total	16,70	16,59	16,79	16,83	16,60	16,67	9,89	16,52	13,90	16,55	16,42
Lisina digestível ¹	16,23	16,13	16,32	16,35	16,14	16,20	9,39	16,06	13,51	16,09	15,96
Metionina total	5,23	5,25	5,28	5,33	5,28	5,27	5,32	3,13	5,20	5,26	5,22
Metionina digestível ¹	5,02	5,03	5,06	5,11	5,07	5,05	5,10	2,89	4,98	5,05	5,01
Treonina total	12,29	12,24	12,40	12,39	12,30	12,37	12,26	12,27	7,32	12,17	12,20

Treonina digestível ¹	11,74	11,70	11,85	11,84	11,75	11,82	11,71	11,72	6,73	11,63	11,66
Triptofano total	3,01	2,96	3,01	2,97	2,89	2,94	2,93	2,91	2,95	1,78	2,89
Triptofano digestível ¹	2,90	2,85	2,90	2,86	2,78	2,83	2,83	2,80	2,84	1,65	2,79
Valina total	9,42	9,55	9,64	9,67	9,66	9,66	9,61	9,69	9,65	9,60	6,04
Valina digestível ¹	8,73	8,84	8,92	8,96	8,95	8,94	8,90	8,97	8,93	8,89	5,30
Aminoácidos não essenciais											
Ácido Glutâmico total	60,49	64,17	62,64	63,93	62,81	62,93	64,37	62,00	63,17	61,96	62,59
Glicina total	53,90	57,02	56,42	57,49	56,63	56,81	58,22	55,91	56,69	55,76	56,11
Alanina total	51,47	56,15	53,26	54,76	54,14	54,05	55,32	53,58	54,37	53,09	53,61
Cistina total	1,51	1,48	1,46	1,49	1,48	1,45	1,41	1,45	1,43	1,45	1,43
Metionina+Cistina total	6,75	6,73	6,74	6,82	6,76	6,72	6,73	4,58	6,62	6,71	6,65
Serina total	4,41	4,51	4,48	4,54	4,46	4,53	4,52	4,46	4,49	4,46	4,42
Prolina total	7,24	7,28	7,65	7,89	7,44	7,57	7,56	7,53	7,60	7,79	8,24
Ácido aspártico total	8,83	8,99	9,01	9,03	8,92	9,02	9,02	8,85	8,88	8,90	8,79

*DC–Dieta controle; DL–Dieta limitante; LYS–lisina; MET–metionina; THR–treonina; TRP–triptofano; ARG–arginina; HIS–histidina; ILE–isoleucina; LEU–leucina; PHE–fenilalanina; VAL–valina

¹Valores digestíveis calculados segundo os coeficientes de digestibilidade determinados por Furuya (2010)

²ENN= MS – (PB+EE+MM+FB)

³Fibra bruta calculada

⁴Valores calculados a partir da composição química dos ingredientes disponibilizados em Rostagno et al. (2017) e Furuya (2010)

2.4 Parâmetros de desempenho

Foram realizadas duas biometrias dos peixes, sendo uma no início e outra no final do período experimental. Antes das biometrias, os peixes não foram alimentados por 24 horas, e para evitar possíveis lesões e estresse durante a realização do manejo, os mesmos foram anestesiados com benzocaína para aferir o peso inicial e final. Além disso, o consumo das dietas controles e testes foram mensurados por intermédio da diferença do peso dos potes de ração cheios antes e após o consumo em cada unidade experimental. Desta forma, foram calculadas algumas variáveis zootécnicas, como o ganho em peso médio por peixe (GP), consumo de ração por peixe (CR) e eficiência alimentar (EA), através das equações 1, 2 e 3, respectivamente.

$$(1) GP = \text{Peso médio final} - \text{Peso médio inicial}$$

$$(2) CR = \frac{\text{Alimento consumido (g)}}{N^{\circ} \text{ de Peixes}}$$

$$(3) EA = \frac{\text{Ganho em peso médio por peixe}}{\text{Consumo de ração por peixe}}$$

2.5 Análise da composição corporal

Inicialmente, foi realizada a coleta de um grupo de 15 peixes e, ao final do período experimental, de cinco peixes de cada unidade experimental, totalizando 15 peixes por tratamento, os quais foram eutanasiados através do aprofundamento do plano anestésico, com benzocaína (concentração de 300mg/L). As amostras para a determinação da composição corporal foram moídas e liofilizadas a -50°C em liofilizadora Thermo VLP200, para a obtenção da matéria pré-seca. Após, foram moídas em moinho de bola e encaminhadas para a análise de matéria seca e matéria mineral (AOAC, 2016); análise de proteína bruta (método de Dumas em aparelho Leco 528 LC (Etheridge et al., 1998) e extrato etéreo (método de hidrólise ácida, AOAC, 2016).

2.5.1 Determinação do perfil de AAs pelo método de deleção

Algumas hipóteses são apresentadas para o melhor entendimento do método de deleção: (1) a retirada do primeiro AA limitante causa uma maior diminuição na retenção de N; (2) caso a retirada do AA não apresentar uma redução na retenção de N, então a porção retirada ainda estava em excesso, comparado com o primeiro AA limitante; (3) quando a retirada de um AA culmina em leve redução da retenção de N, a porção que pode ser retirada sem redução da retenção pode ser interpolada proporcionalmente (Wang & Fuller, 1989).

Com o atendimento das presunções, o AA reduzido deverá ser considerado como o primeiro limitante na dieta. Por intermédio desse preceito, é possível o cálculo da mínima exigência dos AAs, onde a pontuação química é substituída pela porcentagem do aminoácido testado na dieta em relação à quantidade do aminoácido em uma dieta referência. Em seguida, calcula-se a relação ideal entre os AAs pela relação entre o primeiro AA limitante do perfil aminoacídico da dieta controle (Green & Hardy, 2002, Peres & Oliva-Teles, 2009; Wang & Fuller, 1989).

2.6 Análises de dados

Inicialmente foi determinado os níveis de deposição de nitrogênio corporal (mg N/ peso metabólico corporal kg/ dia), utilizando a seguinte equação para calcular a deposição desse nutriente (Rollin et al., 2003):

$$\text{Equação (4)} \quad \text{Deposição de N} = \frac{(P_f \times N_f - P_i \times N_i)}{\frac{1}{2} \left(\left(\frac{P_f}{1000} \right)^{0,75} + \left(\frac{P_i}{1000} \right)^{0,75} \right) \times \Delta t}$$

Onde P_f e P_i são as médias final e inicial do peso corporal em gramas, Δt é a quantidade de dias de duração do experimento, e N_f e N_i são as médias final e inicial da composição de N corporal em porcentagem.

Através da relação dos níveis de deposição de N para cada tratamento estipulado, foi possível estimar a relação ideal de AAes que maximize a retenção de N, por intermédio da seguinte equação (Rollin et al., 2003):

$$\text{Equação (5)} \quad \text{Nível indicado} = (AAE)_{DC} \times \left(2 - DEL - \left(\frac{DN_{AAE}}{DN_{DC}} \right) \right)$$

Onde, a exigência do AAE testado (g Kg^{-1} MS), $(AAE)_{DC}$ é a concentração do AAE na dieta controle (DC) (g Kg^{-1} MS); DEL é o nível de deleção (%); DN_{AAE} é a deposição de N ($\text{mg N/peso corporal kg/dia}$) correspondente aos peixes que receberam a dieta do AAE testado; e DN_{DC} é a deposição de N ($\text{mg N/ peso corporal kg/ dia}$) correspondente aos peixes que receberam a dieta controle (DC).

A metodologia baseia-se no pressuposto de que a retenção de N é uma função linear do conteúdo de aminoácido limitante na dieta (Green & Hardy, 2002). O balanço ideal entre os AAEs é obtido pela divisão da exigência estimada para cada AAE pela exigência estimada de lisina (base de lisina = 100%) (Green & Hardy, 2002; Rollin et al., 2003).

Salienta-se que, embora Rollin et al. (2003) mencione o resultado como exigência (Equação (5): “Nível indicado”), não é adequado para atribuir recomendações de níveis nutricionais na dieta. A equação é utilizada como base para calcular a relação ideal de aminoácidos. Desta forma, em vez de exigência, a denominação “nível indicado” foi utilizada no presente estudo.

2.7 Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise pelo programa S.A.S. versão 9.4, 2014, através de análise de variância (One-way ANOVA). Quando ocorreram diferenças significativas nos dados de desempenho, o teste de Duncan ($P < 0,05$) foi aplicado para a comparação das médias. Os valores de deposição de nitrogênio foram submetidos ao teste de Dunnet ($P < 0,05$) para a comparação dos tratamentos testes (dietas deficientes) com o tratamento controle (dieta controle).

3 RESULTADOS

As dietas experimentais foram analisadas quanto à composição aminoacídica e os resultados demonstraram que a proporção do aminoácido deletado de cada dieta em relação à dieta controle apresentou oscilação entre os tratamentos, com as deleções variando de 33% a 41% (Tabela 4).

Tabela 4 Níveis encontrados de deleção do AAE específico em cada dieta teste.

Dietas	AAE Digestível na DC (%)	AAE Digestível na DL (%)	Quantidade deletada do AAE testado (%)¹
DL- Arginina	1,33	0,78	41
DL- Fenilalanina	0,88	0,53	40
DL- Histidina	0,55	0,37	33
DL- Isoleucina	0,94	0,59	37
DL- Leucina	1,11	0,72	35
DL- Lisina	1,62	0,96	41
DL- Metionina	0,50	0,30	40
DL- Treonina	1,17	0,70	40
DL- Triptofano	0,29	0,17	41
DL- Valina	0,87	0,56	36

¹[1 - (Quantidade digestível do AAE na DL/ quantidade digestível do AAE na DC)]*100
AAE= Aminoácido essencial; DC= Dieta Controle e DL= Dieta Limitante.

As respostas referentes a cada dieta deficiente em AA sobre o crescimento e a eficiência alimentar são apresentadas na Tabela 5. O maior ganho em peso corporal e eficiência alimentar foram observados no grupo da dieta controle (DC). Neste estudo, a deleção de metionina, valina e treonina na dieta acarretou em maior redução do crescimento das tilápias e ao menor consumo de ração, comparativamente à dieta controle. No entanto, todas as dietas deficientes em aminoácidos essenciais proporcionaram redução no crescimento dos peixes quando comparados com aqueles que receberam a dieta controle.

Avaliando o consumo alimentar é possível observar que os peixes alimentados com dietas deficientes em metionina, treonina e valina apresentaram a menor ingestão de ração, indicativo que a deficiência em um determinado aminoácido pode reduzir o consumo. Por outro lado, os peixes que receberam as dietas deficientes em lisina e histidina não tiveram o consumo de ração afetado, apresentando valores desta variável muito próxima

da dieta controle, com exceção dos animais alimentados com a dieta deficiente em isoleucina que apresentou ingestão de ração superior ao da dieta controle. Apesar dos peixes submetidos a este tratamento consumirem mais ração, este fato não influenciou no ganho de peso. Com exceção da dieta controle, a eficiência alimentar foi reduzida pela deleção de cada AAE, sendo que a histidina apresentou melhor eficiência alimentar e a fenilalanina a maior redução.

As dietas deficientes em aminoácidos reduziram significativamente ($P < 0,05$) a deposição de nitrogênio no período. A deleção de metionina promoveu a maior redução na deposição de nitrogênio, bem como a maior redução do crescimento, seguida pela valina, triptofano, fenilalanina e treonina (Tabela 5). Com exceção da dieta controle, a eficiência de retenção de nitrogênio foi maior nos tratamentos com redução de leucina e isoleucina, seguida de lisina, treonina, arginina, histidina, metionina, fenilalanina e triptofano deletados, sendo o menor valor encontrado na dieta onde a valina foi deletada.

A relação entre a deposição de nitrogênio e a ingestão de aminoácido para a dieta controle e as dietas deficientes em aminoácidos é apresentada na Figura 1. Conforme os valores observados na Tabela 4 e Figura 1, e considerando que uma resposta linear entre a deposição de nitrogênio e a ingestão de AA ocorre quando os animais são alimentados com dieta deficiente em determinado aminoácido essencial, observa-se o efeito da deleção no ganho de nitrogênio corporal da tilápia-do-Nilo e verifica-se que a metionina, triptofano e valina são os aminoácidos mais limitantes para a retenção de nitrogênio.

Com base na Figura 1 é possível verificar que cada aminoácido essencial é limitante para o crescimento da espécie. Assim, a relação dos aminoácidos essenciais em relação à lisina (=100%) foi estimada em: arginina (80,73%); fenilalanina (69,73%); histidina (34,15%); isoleucina (51,24%); leucina (66,01%); metionina (41,49%); treonina (88,96%); triptofano (23,07%) e valina (72,63%). Também foi possível expressar a exigência em função do teor de proteína dietética g / 16 g N, estimando-se em: arginina (4,21), fenilalanina (3,64), histidina (1,79), isoleucina (2,67), leucina (3,45), lisina (5,26), metionina (2,16), treonina (4,64), triptofano (1,51) e valina (3,81).

Tabela 5 Desempenho, deposição e eficiência de retenção de nitrogênio, nível indicado e relação ideal para *O. niloticus* na fase de terminação alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais durante 60 dias.

Dietas	Peso corporal (g)		Ganho em Peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar (g/g)	Deposição de N (mg GP ^{0.75} kg ⁻¹ dia ⁻¹)	Eficiência de Retenção de N (g/g)	Nível indicado (g kg ⁻¹)	Relação de AAEs (%)
	Inicial (g)	Final (g)							
Controle (DC)	624,7±9	#782,3±11 ^a	#172,37±11 ^a	#290,12±19 ^{ab}	#0,56±0,03 ^a	*307,8± 50 ^a	#86,88±10 ^a		
DL- Lisina	633,3±6	736,0±17 ^b	122,35±17 ^b	308,89±46 ^{ab}	0,39±0,04 ^{bc}	208,7±41 ^b	69,65±13 ^b	14,84	100
DL- Arginina	616,9±6	717,6±19 ^{bc}	100,64±9 ^{bc}	258,80±21 ^{bc}	0,39±0,06 ^{bc}	170,7±20 ^b	66,71±12 ^b	11,98	80,73
DL- Fenilalanina	627,6±12	704,1±39 ^{bc}	76,56±39 ^{bc}	272,11±14 ^{bc}	0,28±0,1 ^c	132,6±106 ^b	49,96±19 ^{bc}	10,35	69,73
DL- Histidina	618,6±23	735,9±12 ^b	129,23±12 ^b	302,14±27 ^{ab}	0,43±0,06 ^b	190,5±24 ^b	62,94±17 ^b	5,07	34,15
DL- Isoleucina	632,3±14	725,7±10 ^{bc}	100,71±10 ^{bc}	349,63±47 ^a	0,31±0,05 ^{bc}	206,2±43 ^b	74,01±15 ^{ab}	7,6	51,24
DL- Leucina	617,2±7	718,6±18 ^{bc}	101,39±18 ^{bc}	260,33±35 ^{bc}	0,38±0,01 ^{bc}	234,4±49 ^b	82,92±7 ^{ab}	9,79	66,01
DL- Metionina	618,7±17	683,4±28 ^c	64,72±28 ^c	213,48±36 ^c	0,29±0,04 ^{bc}	114,3±52 ^b	54,19±19 ^{bc}	6,16	41,49
DL- Treonina	615,2±28	689,6± 19 ^c	74,35±19 ^c	221,73±21 ^c	0,33±0,09 ^{bc}	145,1±47 ^b	61,95±14 ^b	13,2	88,96
DL- Triptofano	627,2±10	709,5±32 ^{bc}	82,25±32 ^{bc}	270,31±54 ^{bc}	0,30±0,07 ^{bc}	126,4±91 ^b	42,72±16 ^{bc}	4,26	23,07
DL- Valina	634,4±6	706,6±15 ^{bc}	72,18±15 ^c	220,26±19 ^c	0,33±0,04 ^{bc}	125,0±94 ^b	30,77±5 ^c	10,78	72,63
Valor P	0,7349	0,021	0,004	0,002	0,0211	0,0408	0,042		

DC= Dieta Controle; DL= Dieta Limitante; N= Nitrogênio; GP= Ganho em Peso; AAEs= aminoácidos essenciais

Média±desvio padrão

#Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes diferem significativamente (P <0,05) pelo teste de Duncan.

*Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes diferem significativamente (P <0,05) pelo teste de Dunnet.

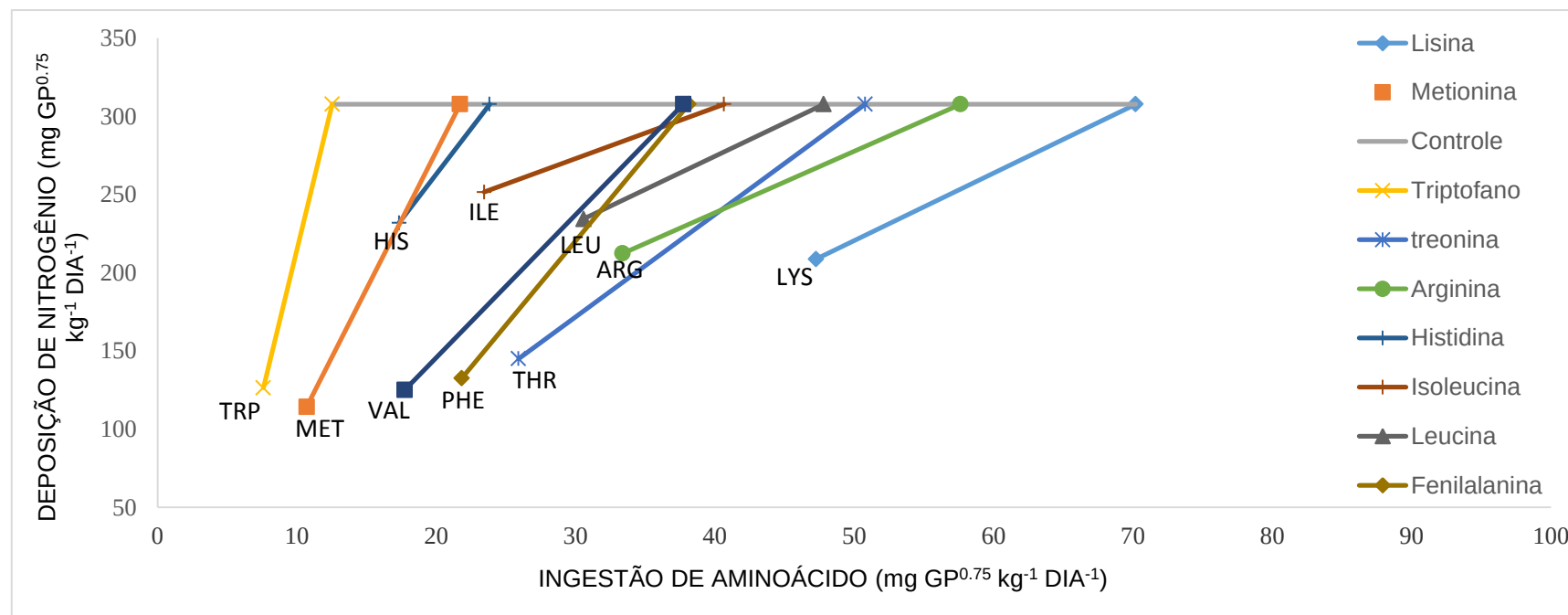


Figura 1 Efeito na retenção de nitrogênio de tilápia-do-Nilo quando 33 a 41% de cada aminoácido essencial é removido da dieta balanceada.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo, o método de deleção foi capaz de predizer a relação de aminoácidos essenciais para a tilápia-do-Nilo na fase de terminação. A deleção dos aminoácidos das dietas ficou entre 33 a 41% da exigência do aminoácido testado em relação à dieta controle, limite que está dentro do estabelecido por Wang e Fuller (1989), que é de 15 a 45% de deleção do aminoácido avaliado. Os resultados obtidos foram capazes de proporcionar diferenças no ganho em peso e na retenção de nitrogênio dos animais alimentados com as dietas deficientes e controle ($P < 0,05$), possibilitando calcular a relação ideal dos aminoácidos essenciais.

Wang e Fuller (1989) mencionam que todos os aminoácidos são igualmente limitantes para o acréscimo de proteína corporal, e como a dieta controle ofereceu os aminoácidos em níveis adequados, conforme a exigência nutricional para tilápias-do-Nilo, proporcionou o maior ganho em peso dos peixes. Os peixes alimentados com a dieta controle apresentaram o maior ganho em peso, melhor deposição de nitrogênio e eficiência de retenção de nitrogênio, uma vez que receberam uma dieta mais equilibrada na composição com AAes, demonstrando que o método da deleção, proposto inicialmente por Wang e Fuller (1989) e adaptado para peixes (Diógenes et al., 2016; Peres & Oliva-Teles, 2009; Rollin et al., 2003) é uma ferramenta eficiente, rápida e de importância para estimar o perfil aminoacídico da espécie eleita no presente estudo.

Neste estudo, os peixes alimentados com a dieta deficiente em metionina, valina e treonina apresentaram os menores ganhos em peso e, da mesma forma, também apresentaram a mais baixa ingestão dessas dietas, comparativamente à dieta controle. Consequentemente, as deficiências desses aminoácidos afetaram a deposição de nitrogênio no corpo. O mesmo foi observado por Diógenes et al. (2016) ao adotarem o método de deleção para juvenis de tilápia-do-Nilo, onde a deleção de metionina, treonina e valina também resultaram em menor ganho em peso e baixa ingestão das dietas. A deleção de treonina e metionina nas dietas também ocasionou maior redução do crescimento e deposição de nitrogênio em juvenis de dourada (*Sparus aurata*) (Peres & Oliva-Teles, 2009) e em juvenis de pargo prateado-preto (*Sparidentex hasta*) (Marammazi et al., 2017). Destaca-se

que a metionina também é mencionada como o aminoácido mais limitante ao crescimento de salmonídeos (Green & Hardy, 2002; Rollin et al., 2003).

Estudos com diferentes espécies de peixes e em diferentes fases de crescimento demonstraram que os aminoácidos essenciais são limitantes ao crescimento dos mesmos (Diógenes et al., 2016; Marammazi et al., 2017; Peres & Oliva-Teles, 2009), corroborando ao encontrado no presente estudo. Para juvenis de tilápia-do-Nilo pesando de 20 a 70g (Diógenes et al., 2016), concluíram que a metionina, treonina e valina são os aminoácidos essenciais mais limitantes para a retenção de nitrogênio nessa fase de crescimento e, neste estudo, os três mais limitantes foram metionina, triptofano e valina.

Além disso, o ganho em peso e a retenção de nitrogênio das dietas deficientes em AAEs ficaram abaixo do encontrado para a dieta controle, esse comportamento também foi encontrado em outros estudos que utilizaram o método de deleção (Diógenes et al., 2016; Marammazi et al., 2017; Peres & Oliva-Teles, 2009; Rollin et al., 2003), evidenciando que a deficiência de um único aminoácido essencial pode acarretar em redução do crescimento e deposição de nitrogênio corporal em diferentes espécies e fases de crescimento.

A relação de 34% para histidina em relação à lisina apresenta-se igual ao mensurado por Diógenes et al. (2016) para juvenis de tilápia-do-Nilo e próximo ao encontrado por Peres e Oliva-Teles (2009) de 36,8% para juvenis de dourada. A maioria dos resultados da relação entre os aminoácidos essenciais deste estudo (Tabela 5), embora estejam inferiores, os mesmos aproximam-se da relação encontrada por Diógenes et al. (2016) para os valores estimados para treonina, triptofano, valina e isoleucina, respectivamente de 93%, 24%, 76%, 57%. Considerando a fase de crescimento avaliada no presente estudo, com exceção da histidina mensurada para a fase inicial da espécie por Diógenes et al. (2016), pode-se inferir que os valores de treonina, triptofano, valina e isoleucina reduziram conforme a espécie mudou para a fase de terminação.

No presente estudo, a proporção dos aminoácidos estimados em relação à lisina, com a utilização do método de deleção (80,73% para a arginina e de 51,24% para a isoleucina), apresentaram-se próximos ao mencionado de 76% de

arginina para salmão do Atlântico por Rollin et al. (2003) e 49,7% de isoleucina por Peres e Oliva-Teles (2009) para dourada.

Embora o método de deleção preconize que a “exigência” estimada não deve ser utilizada para fazer recomendações de níveis nutricionais na dieta, pois é apenas utilizada como referência para o cálculo da relação ideal dos aminoácidos (Rollin et al., 2003), os valores encontrados de exigência corroboram a alguns estudos encontrados na literatura, os quais foram realizados para aferir a exigência de apenas um aminoácido essencial para a tilápia-do-Nilo em ensaios de dose-resposta.

Nestes estudos, os autores indicaram para a fase inicial da tilápia-do-Nilo as seguintes inclusões de aminoácidos: 4,9 g kg⁻¹ de metionina na dieta (Nguyen & Allen Davis, 2009), 15,21 g kg⁻¹ de lisina (Furuya et al., 2012), 12,48 g kg⁻¹ de leucina (Gan, Zhou, Li & Yue, 2015), 8,2 g kg⁻¹ de histidina (Michelato et al., 2017), e para animais de 560 a 830g, Michelato et al. (2015) estimaram a inclusão de 11,5 g kg⁻¹ de treonina. Apesar de serem fases diferentes, comparando essas recomendações com as do presente estudo, observamos que para a lisina, leucina e histidina as recomendações foram inferiores (14,84, 9,79 e 5,07 g kg⁻¹, respectivamente), e superiores para a treonina e metionina (13,2 g kg⁻¹ e 6,16 g kg⁻¹, respectivamente).

Seguindo o adequado balanceamento entre os aminoácidos, a exigência de 14,84 g kg⁻¹ de lisina encontra-se próximo ao mensurado de 14,4g kg⁻¹ para juvenis (Furuya, dos Santos, Furuya & Sakaguti, 2006) e superior a 13,10 g kg⁻¹ de lisina digestível para tilápias (87 a 226g) em dietas balanceadas para a relação arginina:lisina (Furuya et al., 2013). Liebert e Benkendorff (2007) obtiveram resultado superior ao encontrado no presente estudo para a tilápia-do-Nilo na fase inicial (15,5 g kg⁻¹ de lisina na dieta), demonstrando que peixes na fase inicial de crescimento apresentam-se mais exigentes nutricionalmente.

Furuya (2010) descreveu a exigência de aminoácidos nas Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias utilizando valores estimados em diversos estudos realizados separadamente para a espécie com peso acima de 100g. Com exceção da arginina (1,14%), os valores de histidina, leucina e treonina (0,47;

0,92 e 1,07%, respectivamente) encontram-se inferiores ao encontrado no presente estudo (Tabela 5).

O conhecimento sobre a relação de AAes nas diferentes fases de crescimento da tilápia-do-Nilo é de extrema importância para a nutrição dessa espécie, porém esses estudos ainda são incipientes, apesar da presente investigação ter estimado a relação de AAes para a fase de terminação, posteriores pesquisas são necessárias para o estabelecimento adequado das relações ideais para auxiliar na formulação de dietas que atendam o adequado balanceamento de aminoácidos e que possibilitem o ajuste de acordo com a exigência nutricional em diferentes fases de crescimento.

5 CONCLUSÃO

O método da deleção demonstrou eficiência na estimativa da relação ideal dos aminoácidos essenciais para a tilápia-do-Nilo na fase de terminação. Assim, foi possível estimar a seguinte relação dos aminoácidos essenciais em relação à lisina (=100%): arginina (80,73%); fenilalanina (69,73%); histidina (34,15%); isoleucina (51,24%); leucina (66,01%); metionina (41,49%); treonina (88,96%); triptofano (23,07%) e valina (72,63%). Também foi possível expressar a exigência em g kg⁻¹ de MS na dieta, o equilíbrio ideal para a fase de terminação foi estimado em: arginina (11,98), fenilalanina (10,35), histidina (5,07), isoleucina (7,6), leucina (9,79), lisina (14,84), metionina (6,16), treonina (13,2), triptofano (4,26) e valina (10,78).

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo de bolsa nº 134642/2017-1) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Projeto temático nº 2013/25761-4).

A Ajinomoto® Animal Nutrition, Evonik Industries AG e Evonik Brasil Ltda pela análise de dietas e a doação de aminoácidos para esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Abboudi, T., Mambrini, M., Ooghe, W., Larondelle, Y., & Rollin, X. (2006). Protein and lysine requirements for maintenance and for tissue accretion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Aquaculture*, 261(1), 369-383. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.07.041
- Alam, M. S., Teshima, S. I., Koshio, S., Ishikawa, M., Uyan, O., Hernandez, L. H. H., & Michael, F. R. (2005). Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 248(1), 13-19. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.015
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1995). *Official Methods of Analysis* (16th ed.). Washington, United States: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2016). *Official Methods of Analysis* (20th ed.). Rockville, United States: AOAC International.
- Bicudo, A. J. A., & Cyrino, J. E. P. (2009). Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40, 318-823. doi: 10.1111/j.1749-7345.2009.00303.x
- Boisen, S., Hvelplund, T., & Weisbjerg, M. R. (2000). Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. *Livestock Production Science*, 64(2), 239- 251. doi: 10.1016/S0301-6226(99)00146-3
- Comission Directive 98/64/EC of September 1998, establishing Community methods for the determination of amino acids in feedstuff and amending Directive 71/393/ECC, annex part A, Determination of Amino Acids. *Official Journal of the European Communities*, L257, 14-23, 1998.
- Cyrino, J. E. P., Bicudo, A. J. A., Sado, R. Y., Borghesi, R., & Dairiki, J. K. (2010). A piscicultura e o ambiente—o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(suppl.), 68-87. doi: 10.1590/S1516-35982010001300009
- Diógenes, A. F., Fernandes, J. B. K., Dorigam, J. C. P., Sakomura, N. K., Rodrigues, F. H. F., Lima, B. T. M., & Gonçalves, F. H. (2016). Establishing the optimal essential amino acid ratios in juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the deletion method. *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 435-443. doi: 10.1111/anu.12262
- Directiva 2000/45/CE da comissão de 6 de Julho de 2000 que estabelece métodos de análise comunitários para a determinação da vitamina A, da vitamina E e do triptofano nos alimentos para animais. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, L 174/32, 1-19, 2000.

Dorigam, J. C. P. (2016). Método dose-resposta para determinar exigências nutricionais. In N. K. Sakomura & H. S. Rostagno, *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos* (2th ed., pp. 132-159). Jaboticabal, Brasil: FUNEP.

Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F' tests. *Biometrics*, v. 11, n.1, p. 1-42, 1955. doi: 10.2307/3001478

Etheridge, R. D., Pesti, G. M., & Foster, E. H. (1998). A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. *Animal Feed Science and Technology*, 73, 21-28.

Fournier, V., Gouillou-Coustans, M. F., Metailler, R., Vachot, C., Guedes, M. J., Tulli, F., & Kaushik, S. J. (2002). Protein and arginine requirements for maintenance and nitrogen gain in four teleosts. *British Journal of Nutrition*, 87(5), 459-469. doi: 10.1079/BJN2002564

Furuya, W. M., Dos Santos, V. G., Silva, L. C. R., Furuya, V. R. B., & Sakaguti, E. S. (2006). Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 937-942. doi: 10.1590/S1516-35982006000400001

Furuya, W. M. (Ed.). (2010). *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*. Toledo, Brasil: GFM.

Furuya, W. M., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Gongora, L. D., Righetti, J. S., & Furuya, V. R. B. (2012). Digestible lysine requirement of Nile tilapia fingerlings fed arginine-lysine-balanced diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(3), 485-490. doi: 10.1590/S1516-35982012000300003

Furuya, W. M., Michelato, M., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Furuya, V. R. B., & Moura, L. B. (2013). Exigência de lisina digestível para a tilápia-do-Nilo de 87 a 226 g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina:lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4), 1945-1954. doi: 10.5433/1679-0359.2013v34n4p1945

Gan, L., Zhou, L. L., Li, X. X., & Yue, Y. R. (2015). Dietary leucine requirement of Juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 22(5), 1040-1046. doi: 10.1111/anu.12353

Golterman, H. L.; Clymo, R. S.; Ohnstad, M. A. M. (1978). *Methods for physical and Chemical Analysis of Freshwaters*. London, England: Blackwell Science Publishers.

Green, J. A., & Hardy, R. W. (2002). The optimum dietary essential amino acid pattern for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), to maximize nitrogen retention and minimize nitrogen excretion. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27(1-2), 97-108. doi: 10.1023/B:FISH.0000021878.81647.6e

Henry-Silva, G. G., & Camargo, A. F. M. (2008). Impacto das atividades de aquicultura e sistemas de tratamento de efluentes com macrófitas aquáticas -

relato de caso. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(1), 163-173. Retirado de https://www.pesca.sp.gov.br/34_1_163-173.pdf

Koroleff, F. (1976). Determination of nutrients. In K. Grasshoff (Ed.), *Methods of seawater analysis* (pp. 117-181). Weinheim, Deutschland: Verlag Chemie.

Liebert, F., & Benkendorff, K. (2007). Modeling lysine requirements of *Oreochromis niloticus* due to principles of the diet dilution technique. *Aquaculture*, 267(1-4), 100-110. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.022

Mackereth, F. J. H., Heron, J., & Talling, J. F. (1978). *Water Analysis: Some revised methods for limnologists (Scientific Publication/ Freshwater Biological Association)*. London, England: Freshwater Biological Assn.

Mambrini, M., & Kaushik, S. J. (1994). Partial replacement of dietary protein nitrogen with dispensable amino acids in diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 109(2), 469-477.

Mambrini, M., & Kaushik, S. J. (1995). Effect of temperature on sulfur amino acid requirements for maintenance and growth of juvenile rainbow trout. In A. F. Nunes, A. V. Portugal, J. P. Costa & J. R. Ribeiro (Eds.), *Protein Metabolism and Nutrition* (pp. 117-122). Portugal: INIA.

Marammazi, J. G., Yaghoubi, M., Safari, O., Peres, H., & Mozanzadeh, M. T. (2017). Establishing the optimum dietary essential amino acid pattern for silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*) juveniles by deletion method. *Aquaculture Nutrition*, 23(6), 1483-1491. doi: 10.1111/anu.12524

Michelato, M., Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Graciano, T. S., de Moura, L. B., Furuya, V. R. B., & Furuya, W. M. (2015). Dietary threonine requirement to optimize protein retention and fillet production of fast growing Nile tilapia. *Aquaculture Nutrition*, 22(4), 759-766. doi: 10.1111/anu.12293

Michelato, M., Zaminhan, M., Boscolo, W. R., Nogaroto, V., Vicari, M., Artoni, R. F., Furuya, V. R. B., & Furuya, W. M. (2017). Dietary histidine requirement of Nile tilapia juveniles based on growth performance, expression of muscle-growth-related genes and haematological responses. *Aquaculture*, 467, 63-70. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.06.038

NRC (National Research council). (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. Washington, United States: National Academies Press.

Nguyen, T. N., & Allen Davis, D. (2009). Methionine requirement in practical diets of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(3), 410-416. doi: 10.1111/j.1749-7345.2009.00261.x

Peres, H., & Oliva-Teles, A. (2005). The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus*

maximus juveniles. *Aquaculture*, 250(3), 755-764. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.046

Peres, H., & Oliva-Teles, A. (2009). The optimum dietary amino acid profile for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 296, (1-2), 81-86. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.04.046

Portz, L., & Furuya, W. M. (2013). Energia, proteína e aminoácidos. In D. M. Fracalossi & J. E. P. Cyrino, *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira* (1. ed., pp. 65-77). Florianópolis, Brasil: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática.

Resende, E. K. D. (2009). Pesquisa em rede em aquicultura: bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil. Aquabril. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(n. spe), 52-57. doi: 10.1590/S1516-35982009001300006.

Riegel, R. E. (2012). *Bioquímica* (5th rev. ed.). São Leopoldo, Brasil: Unisinos.

Rollin, X., Mambrini, M., Abboudi, T., Larondelle, Y., & Kaushik, S. J. (2003). The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *British Journal of Nutrition*, 90(5), 865-876. doi: 10.1079/BJN2003973

Rostagno, H. S. et al. (2017). *Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais)* (4th ed., 488p.) Viçosa, Brasil: Departamento de Zootecnia, UFV.

Sakomura, N. K.; Rostagno, H. S. (2016). *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos* (2th ed., 262p.). Jaboticabal, Brasil: FUNEP.

Science for Environment Policy. (2015). *Sustainable Aquaculture*. Future Brief 11. Brief produced for the European Commission DG Environment by the Science Communication Unit, UWE, Bristol. Retirado de <http://ec.europa.eu/science-environment-policy>

Schuhmacher, A., Wax, C., & Gropp, J. M. (1997). Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. *Aquaculture*, 151(1), 15-28. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01502-5

Sidonio, L., Cavalcanti, I., Capanema, L., Morch, R., Magalhães, G., Lima, J., Burns, V., Alves Júnior, A. J., & Mungioli, R. (2010). Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. *BNDES Setorial*, 35, 421-463.

Sipaúba-Tavares, L. H. (1994). *Limnologia aplicada à aquicultura (Boletim técnico, n. 1)*. Jaboticabal, Brasil: FUNEP. 1994.

Sipaúba-Tavares, L. H., & Santeiro, R. M. (2013). Fish farm and water quality management. *Acta Scientiarum*, 35(1), 21-27. doi: 10.4025/actascibiolsci.v35i1.10086

Segovia-Quintero, M. A., & Reigh, R. C. (2004). Coating crystalline methionine with tripalmitin-polyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 238(1-4), 355-367. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.05.023

SAS Institute 2014. SAS/STAT ® 13.2. User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Wang, T. C., & Fuller, M. F. (1989). The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. *British Journal of Nutrition*, 62(1), 77-89. doi: 10.1079/BJN19890009

Webster, C. D., & Lin, C. E. (2000). *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. New York, United States: CABI Publishing.

Wilson, R. P. (2003). Amino Acid Requirements of Finfish and Crustaceans. In J. P. F. D'Mello (Ed.), *Amino Acids in Animal Nutrition* (2th ed., pp. 427-447). Wallingford, England: CABI Publishing.

Wilson, R. P., & Poe, W. E. (1985). Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 80(2), 385-388. doi: 10.1016/0305-0491(85)90224-X

Wilson, R. P., & Halver, J. E. (1986). Protein and amino acid requirements of fishes. *Annual Review of Nutrition*, 6(1), 225-244. doi: 10.1146/annurev.nu.06.070186.001301

Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids*, 45(3), 407-411. doi: 10.1007/s00726-013-1500-6

Wu, G. (2014). Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(34), 1-12. doi: 10.1186/2049-1891-5-34

Yang, S.-D., Liou, C.-H., & Liu, F.-G. (2002). Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 213(1-4), 363-372. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00120-5