

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PROTEÍNA E ENERGIA DIGESTÍVEIS E COLINA PARA
TILÁPIA-DO-NILO: DESEMPENHO E RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE**

ADEMIR CALVO FERNANDES JUNIOR

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requerimentos para
obtenção do título de Doutor em
Zootecnia, Área de Concentração
Nutrição e Produção Animal

BOTUCATU - SP

Junho – 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PROTEÍNA E ENERGIA DIGESTÍVEIS E COLINA PARA
TILÁPIA-DO-NILO: DESEMPENHO E RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE**

ADEMIR CALVO FERNANDES JUNIOR

Zootecnista

Orientadora: Prof^ª. Dra. MARGARIDA MARIA BARROS

Co-Orientador: Prof^º. Dr. LUIZ EDIVALDO PEZZATO

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requerimentos para
obtenção do título de Doutor em
Zootecnia, Área de Concentração
Nutrição e Produção Animal

BOTUCATU - SP

Junho – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Fernandes Júnior, Ademir Calvo, 1984-
F363p Proteína e energia digestíveis e colina para tilápia-do-Nilo : desempenho e respostas fisiológicas em condições de estresse / Ademir Calvo Fernandes Júnior. - Botucatu : [s.n.], 2012
xiii, 138 f. : il., fots. color., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2012
Orientadora: Margarida Maria Barros
Co-orientador: Luiz Edivaldo Pezzato
Inclui bibliografia

1. Tilápia (Peixe) 2. Peixe - Fisiologia. 3. Peixe - Nutrição. 4. Stress (Fisiologia) 5. Peixe - Alimentação. I. Barros, Margarida Maria. II. Pezzato, Luiz Edivaldo. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Ademir Calvo Fernandes e Janil Francisca dos Santos Fernandes

***PAI**, no dia da minha defesa de mestrado, estava certo que não iria fazer Doutorado, devido à piscicultura. Neste dia você me chamou e disse: “Filho, pode fazer Doutorado que te ajudo a tomar conta da piscicultura”. Prestei o **processo seletivo, fui contemplado e assim começou minha história no Doutorado**. Nesses 3 anos, discutimos muito em função da piscicultura: foi desgastante, mas você cumpriu com sua palavra e a piscicultura está muito melhor do que era. Além desse incentivo, montou um laboratório na piscicultura e não mediu esforços para construção das armações dos tanques-rede, foram várias noites dormidas fora de casa, e por isso devo muito a compreensão da mãe. Foram atitudes como esta que me fizeram ser seu maior admirador. E por isso o título de Doutor para mim, tem muito mais valor.*

*Muito obrigado pela ajuda, ensinamento, educação, amor, simplicidade e por ser meu exemplo de homem. **TE AMO MUITO**.*

***MÃE**, muito obrigado pelos conselhos, principalmente quando eu e o pai discutíamos. Mas, você sempre sábia, contornava a situação. Nesses 3 anos dormiu muitas noites sozinha, mas por amor a esse filho, nunca reclamou. Muito obrigado pelo amor, carinho, educação, humildade, simplicidade, ensinamentos e valores da vida. Você é meu exemplo de mulher. **TE AMO MUITO**.*

*“Meus pais são meus ídolos e tento ser o que me inspira, portanto tento ser um pouquinho de cada, desta forma, devo a eles quem sou. **MUITO OBRIGADO**”.*

DEDICATÓRIA

Ao meu irmão e minha cunhada,

Bruno Felipe Santos Fernandes e **Danielle** M. Alonso Fernandes

*Agradeço pelo apoio, carinho, companheirismo, incentivo e principalmente pela minha sobrinha **Bruninha**, que trouxe alegria a toda família. Amo vocês.*

Aos meus avôs,

José (Zeíco) e **Iranil** (in memorian); **Aristides** (in memorian) e **Benedicta**.

Muito obrigado pelo exemplo. Sempre amarei vocês.

À minha noiva,

Natália Cavaleiro Braz,

Amor, muito obrigado por esses anos de convivência. Agradeço por estar ao meu lado mesmo quando surgiam problemas. Você sempre me apoiou e me ajudou com sua paciência, dedicação, incentivo, carinho e amor. Você me completa.

Obrigado por existir e por ser essa pessoa maravilhosa. Te amo muito.

Aos meus tios,

Jesselina e **Ricardo, Júnior** e **Camila, Josias** (in memorian – muitas saudades) e **Ana Lucia, Gerson** e **Ida**.

Muito obrigado pelo carinho, incentivo e amizade ao longo desses anos.

Aos meus primos,

Thalita, Thiago, Josiana, Rafael e **Luiza**.

Muito obrigado pelo carinho, convivência, amizade e incentivo.

*Pessoas que foram e são fundamentais em todos os momentos de minha vida, base de sustentação dos meus princípios e objetivos. **Amo todos vocês, muito obrigado.***

AGRADECIMENTOS AOS ORIENTADORES

À minha querida orientadora Prof^a Dra. Margarida Maria Barros, mais conhecida por mim como, TEACHER.

Meu exemplo profissional e juntamente com meus pais, meu exemplo humano. Teacher, agradeço primeiramente pela oportunidade de realização de um sonho e confiança na realização do experimento em campo. Você, juntamente com o professor Pezzato, não mediram esforços para obtenção da infraestrutura experimental. Logo depois, disponibilizou todos os equipamentos para análises hematológicas em campo, algo nunca realizado em nosso laboratório. Sou eternamente grato por isso.

*Além de todos os ensinamentos ao longo desses anos, nós sempre brincamos “como cheguei e como estou saindo”: melhorei muito, mas longe do ideal, e é isso o que nos faz crescer, saber que podemos melhorar. Tive sorte, em poder ter uma orientadora como a senhora, pois se algum dia eu for orientador, tive os melhores exemplos, pois como disse, você é minha vitrine, mas caso não seja, aprendi o que é ética, responsabilidade, comprometimento e competência profissional. Tenho muito carinho por você. Além de ser uma das minhas melhores amigas, considero-a como membro da minha família, e isso nunca atrapalhou nosso trabalho, porque sempre tentei fazer o melhor para nossa amizade não se desgastar. O segredo disso tudo é **RESPEITO**: nossa amizade nunca prejudicou o trabalho, pelo contrário, somente beneficiou.*

MUITO OBRIGADO, por tudo, gosto muito de você.

Ao meu querido Co-Orientador Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, mais conhecido por Vado e meu companheiro de quarto preferido.

Assim como a Teacher, tenho um carinho enorme pelo senhor, colocando-o como um dos componentes escolhidos de minha família. Muito obrigado pelos ensinamentos, conversas de quarto e amizade ao longo desses 7 anos. Assim como disse para Teacher, entenda tudo aquilo para o senhor

também, pois a pessoa, respeito, amizade e sentimento que sinto pelo senhor são os mesmos.

*O caráter, responsabilidade, coração, ética, comprometimento, respeito, competência, ensinamentos e excelência fazem de vocês, uma dupla de pesquisadores e amigos que se completam e por isso sou feliz, pois sei que passei nas mãos de vocês e tive a oportunidade de conhecer não só os profissionais, mas também os seres humanos fantásticos que são. **MUITO OBRIGADO, AMO VOCÊS.***

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/UNESP, Botucatu, pela oportunidade e privilégio que tive em realizar o experimento nesta instituição;

À UNESP de Botucatu pela ajuda financeira em viagens no exterior para divulgação de nossos dados;

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP, Botucatu, pela oportunidade e honra em cursar doutorado em uma instituição de excelência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP e a Capes, pela concessão da bolsa de estudos;

À Ajinomoto, em especial o senhor Edgar Ishikawa, pela concessão dos aminoácidos sintéticos;

À Mogiana Alimentos, em especial o senhor João Manoel Cordeiro Alves, pela concessão do premix vitamínico e mineral;

À Leben Alimentos, em especial o senhor Pedro Persichetti Junior, por abrir as portas da empresa para confecção das dietas experimentais;

Aos meus irmãos de república, João Fernando, Pedro, Felipe e minha irmã mais velha Carol e à Flávia pela importante ajuda na realização do experimento, além da ótima convivência, muito obrigado. Gosto muito de vocês;

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani, Departamento de Bioestatística, pela atenção e auxílio na realização das análises estatísticas;

À Prof^ª. Dra. Renée Laufer Amorim, Departamento de Patologia Veterinária da FMVZ – Unesp Botucatu, pelo auxílio nas análises histológicas;

Aos Professores Dr. José Eurico Possebon Cyrino, Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya e Prof^ª Dra. Edma de Carvalho Miranda pelas sugestões dadas para o aprimoramento da tese;

Aos Professores Dr. Ricardo Oliveira Orsi, José Roberto Sartori e Celso Pezzato pelo incentivo, amizade e apoio em todos os momentos;

Aos Professores que participaram da banca de defesa de Tese: Prof. Dra. Margarida Maria Barros, Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino, Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya, Prof. Dra. Ana Lucia Salaro e Prof. Dr. Leandro Portz, muito obrigado pelas considerações e correções;

Ao meu primeiro orientador Professor Dr. Carlo Rossi del Carratore, pela formação, conhecimento, amizade, exemplo profissional e humano;

À toda a equipe do Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes – AquaNutri; João Fernando Albers Koch, Caroline Peregrina Teixeira, Rosangela do Nascimento Fernandes, Altevir Signor, André Moreira Bordinhon, Fernando Kojima Nakagome, Daniel de Magalhães Araújo, Renan de Mattos Botelho, Mariucha Karina Honório Ribeiro Rocha, Rafael Lopes da Silva, Felipe Tenório Cintra, Flavia Mota Damasceno, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho, Igo Gomes Guimarães, Vivian Gomes dos Santos, Graciela Pessoa Martins, Jack, Eric (Jundiá), Mariana (Vuku), Érica e muitos outro que passaram pelo laboratório, agradeço pelo apoio, ajuda, amizade, e respeito acima de tudo. Obrigado pelas experiências.

Aos professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal pelo auxílio e amizade;

Aos Amigos da Seção de Pós-graduação da FMVZ, Posto de Serviço Lageado, Seila Cristina Cassineli Vieira e Carlos Pazini Junior, muito obrigado pelos anos de convivência, amizade e ajuda;

À Gisele do Laboratório de Bromatologia pela ajuda nas análises químico-bromatológicas;

Ao Senhor Miguel pela ajuda na condução do experimento em campo;

Ao José Carlos Pedroso de Lima, pela confecção das lâminas histológicas;

Aos meus amigos Vitão e Cauê por esses anos de convivência e amizade;

À minha querida sogra Maria, meu sogro Roberto e cunhado Lucas, por terem aberto com todo o carinho a porta de sua casa;

Aos amigos de São Manuel, Palmital e futebol, pela amizade;

*A todos que de alguma forma me ajudaram para a realização deste trabalho, o meu **Muito Obrigado!!!***

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	Página
Considerações iniciais	1
1. Proteína	2
2. Energia	9
3. Relação Energia:Proteína	13
4. Colina	18
4.1. Biossíntese de Fosfatidilcolina	21
5. Nutrição e saúde de peixes.....	27
6. Estresse animal.....	29
7. Referência Bibliografica	32
Fig. 1. Estrutura química da etanolamina, colina, serina e glicerol	20
Fig. 2. Estrutura química da fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilcolina ou lecitina	21
Fig. 3. Biossíntese de fosfatidilcolina	22
 CAPÍTULO II	
Proteína e energia digestíveis e colina para tilápia-do-Nilo: desempenho e respostas fisiológicas antes e após estresse térmico.....	51
Resumo	52
Abstract	53
1. Introdução	54
2. Material e métodos	55
2.1. Peixes e procedimento experimental	55
2.2. Dietas	57
2.3. Respostas fisiológicas	58
2.4. Desafio térmico	60
2.5. Análise estatística	60
3. Resultados	61
4. Discussão	63
5. Conclusão	68
6. Referências bibliográficas	69
Tabelas.....	76
Tab. 1. Composição percentual e químico – bromatológica calculada das dietas experimentais.....	77

Tab. 2. Análise químico-bromatológica das dietas (100% matéria seca).....	78
Tab. 3. Valores médios do ganho de peso (GP), consumo aparente de ração (CAR), conversão alimentar aparente (CAA), sobrevivência (SOB), taxa de crescimento específico (TCE), índice hepatossomático (IHS) e gordura visceral (GV) da tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias.....	79
Tab. 4. Desdobramento da interação entre proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) para a variável de conversão alimentar aparente (CAA) e da interação entre proteína digestível (PD) e colina (Col) para a variável de índice hepatossomático (IHS) da tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias.....	80
Tab. 5. Valores médios do número de eritrócitos (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de tilápia-do-Nilo arraçados com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico	81
Tab. 6. Valores médios inicial e final do número de proteína plasmática (PPT), albumina (Alb), globulina (Glob), relação albumina globulina (A:G) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçados com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico.....	82
Tab. 7. Valores médios e desvio padrão quando significativo, do número de eritrócitos (Erit), taxa de hemoglobina (Hb), concentração de albumina (Alb), globulina (Glob) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçados com níveis de proteína digestível (%), energia digestível (kcal ED kg ⁻¹), colina (mg kg ⁻¹) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico.....	83
Tab. 8. Valores médios da porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos de tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico.....	84

CAPÍTULO III

Desempenho e respostas fisiológicas em tilápias-do-Nilo alimentadas com níveis de proteína e energia digestíveis e colina em tanques-rede e submetidas a estresse por classificação.....	85
Resumo	86
Abstract	87
1. Introdução	88
2. Material e métodos	89
2.1. Peixes e procedimento experimental	89
2.2. Dietas	91
2.3. Respostas fisiológicas	93
2.4. Estresse por manejo.....	94
2.5. Análise histopatológica do fígado.....	94
2.6. Análise econômica.....	94
2.7. Análise estatística	95
3. Resultados	95
4. Discussão	98
5. Conclusão	103
6. Referências Bibliográficas	103
Tabelas.....	109
Tab. 1. Quantidade diária de ração fornecida inicialmente em função do peso vivo médio dos peixes (tabela adaptada de uma indústria de ração).....	110
Tab. 2. Composição percentual e químico – bromatológica calculada das dietas experimentais.....	111
Tab. 3. Análise químico-bromatológica das dietas (100% matéria seca).....	112
Tab. 4. Valores médios da biomassa inicial (BI), peso médio inicial (PMI), biomassa final (BF), ganho peso por lote (GPL), peso médio final (PMF), ganho peso médio (GPM), conversão alimentar aparente (CAA), sobrevivência (SOB), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência protéica (TEP) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias	113
Tab. 5. Valores médios do rendimento de filé (RF), índice hepáticossomático (IHS), gordura visceral (GV), extrato etéreo do	

fígado (EE Fígado) e) e composição química do filé na matéria natural (MS – matéria seca, EE – extrato etéreo e MM – matéria mineral) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias.....	114
Tab. 6. Desdobramento das interações proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) para biomassa final (BF), ganho de peso lote (GPL), peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), conversão alimentar aparente (CAA) e rendimento de filé (RF).....	115
Tab. 7. Desdobramento da interação proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina para taxa de eficiência proteica.....	116
Tab. 8. Desdobramento da interação proteína digestível (PD) e colina (Col) para gordura visceral.....	117
Tab. 9. Valores médios do número de eritrócitos (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias e submetida a estresse por classificação.....	118
Tab. 10. Valores médios de proteína plasmática (PPT), albumina (Alb), globulina (Glob), relação albumina:globulina (A:G) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias e submetidas a estresse por classificação.....	119
Tab. 11. Valores médios e desvio padrão, quando significativo, do número de eritrócitos (Erit), volume corpuscular médio (VCM), concentração de albumina (Alb), relação albumina:globulina (A:G) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçoados com níveis de proteína digestível (%), energia digestível (kcal ED kg ⁻¹) e colina (mg kg ⁻¹) durante 119 dias e submetidas a estresse por classificação.....	120
Tab. 12. Valores médios da porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos de tilápia-do-Nilo arraçoadas com níveis de proteína digestível (%), energia digestível (kcal ED kg ⁻¹) e colina (mg kg ⁻¹) durante 119 dias e submetidas a estresse por classificação.....	121
Tab.13. Indicadores econômicos da produção de tilápia-do-Nilo criadas em	

tanques-rede (TR) e arraçadas por 119 dias com as dietas experimentais.....	122
Tab.14. Indicadores econômicos da produção de filés de tilápia-do-Nilo criadas em tanques-rede (TR) e arraçadas por 119 dias com as dietas experimentais.....	123
Tab. 15. Degeneração gordurosa ou hidrópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas com níveis de PD, ED e colina.....	124
Figuras.....	125
Fig. 1. Biomassa final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	126
Fig. 2. Biomassa final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	126
Fig. 3. Ganho de peso do lote das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	127
Fig. 4. Ganho de peso do lote das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	127
Fig. 5. Peso médio final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível	128
Fig. 6. Peso médio final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	128
Fig. 7. Ganho de peso médio das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	129
Fig. 8. Ganho de peso médio das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	129
Fig. 9. Conversão alimentar aparente das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de	

proteína digestível.....	130
Fig. 10. Conversão alimentar aparente das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	130
Fig. 11. Rendimento de filé das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	131
Fig. 12. Rendimento de filé das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg ⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.....	131
Fig. 13. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 32,0% PD/3500 kcal ED kg ⁻¹ /sem colina.....	132
Fig. 14. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 30,0% PD/3500 kcal ED kg ⁻¹ /sem colina.....	132
Fig. 15. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 28,0% PD/3500 kcal ED kg ⁻¹ /sem colina.....	133
Fig. 16. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 26,0% PD/3500 kcal ED kg ⁻¹ /com colina.....	133
Fig. 17. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 24,0% PD/3500 kcal ED kg ⁻¹ /com colina.....	134
Fig. 18. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 1, 0 a 25% de degeneração dos hepatócitos.....	134
Fig. 19. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 2, 26 a 50% de degeneração dos hepatócitos.....	135
Fig. 20. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 3, 51 a 75% de degeneração dos hepatócitos.....	135
Fig. 21. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 4, 76 a 100% de degeneração dos hepatócitos.....	136
 CAPÍTULO IV	
Implicações.....	137

Capítulo I

Considerações iniciais

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Proteína

As proteínas são polímeros de α -aminoácidos e correspondem ao nutriente da dieta de maior importância para o desenvolvimento dos peixes. Desempenham funções essenciais no organismo, as quais podem ser agrupadas em dinâmicas e estruturais. Segundo Devlin (2000), as funções dinâmicas incluem transporte (hemoglobina e transferrina), controle metabólico (hormônios), contração (miosina e actina), catálise de transformações químicas (enzimas), metabólitos essenciais para o normal desenvolvimento do organismo, podendo ainda contribuir para o aporte energético quando os ingredientes ricos em energia estão em baixa concentração na dieta, além do papel protetor contra infecções bacterianas e virais (imunoglobulinas e interferon). O desenvolvimento da matriz óssea e do tecido conjuntivo são funções estruturais das proteínas (colágeno e elastina).

A constituição básica das proteínas são os aminoácidos, que contêm um átomo central (um carbono alfa), ao qual um grupo carboxílico, um grupo amino e um átomo de hidrogênio estão covalentemente ligados. Além disso, o átomo de carbono alfa está ligado a um grupo químico específico, chamado R ou radical, que define exclusivamente cada um dos 20 aminoácidos comuns (NELSON; COX, 2000).

As proteínas variam quanto a estrutura química, propriedades físicas, tamanho, forma, solubilidade e funções biológicas, mas contêm carbono (51,0 a 55,0%), hidrogênio (6,5 a 7,3%), oxigênio (21,5 a 23,5%), nitrogênio (15,5 a 18,0%), enxofre (0,5 a 2,0%), fósforo (0,0 a 1,5%) e pequena quantidade de ferro. A proporção de nitrogênio depende da natureza da proteína (NELSON; COX, 2000; LIM; WEBSTER, 2006).

As proteínas são os principais constituintes orgânicos dos tecidos dos peixes, perfazendo de 65,0 a 75,0% da matéria seca corporal. Peixes consomem proteínas para obter aminoácidos, sendo que esta é digerida ou hidrolisada e libera aminoácidos livres, que são absorvidos no trato gastrointestinal e distribuídos por meio da corrente sanguínea para órgãos e tecidos. Alguns aminoácidos são usados por vários tecidos para sintetizar nova proteína. É necessária a ingestão regular de proteínas ou aminoácidos porque estes serão utilizados continuamente pelo peixe para crescimento e reprodução, ou para repor as proteínas para manutenção. O fornecimento insuficiente de proteína na dieta resulta na redução ou interrupção do crescimento e diminuição de peso devido ao consumo de proteína de tecidos menos vitais (ex: músculo) para

manter as funções de tecidos mais vitais. Por outro lado, se a dieta for suplementada com níveis acima da exigência, somente parte desta será utilizada para síntese de novas proteínas e o restante será catabolizado e convertido em energia, sendo que o excesso de nitrogênio é eliminado ao ambiente aquático causando, ao longo do tempo, problemas ambientais como eutrofização (HALVER, 1989; PERES, 2011).

O perfil dos aminoácidos presentes nas proteínas é decisivo para a sua qualidade e determina seu valor como componente da dieta. Cabe destacar que os peixes não necessitam de determinada quantidade de proteína, mas sim, de adequado balanço em aminoácidos (SANTIAGO; LOVELL, 1988; WILSON, 1989; PEZZATO et al. 2004; LIM; WEBSTER, 2006).

A exigência de proteína na dieta envolve dois componentes: a necessidade de aminoácidos essenciais, os quais não podem ser sintetizados a partir de outros aminoácidos e que são fundamentais para a deposição de proteínas e produção de diversos compostos com funções metabólicas; e o suprimento dos aminoácidos não essenciais ou de nitrogênio suficiente para que estes possam ser sintetizados pelo peixe. É importante ressaltar que a síntese de aminoácidos não essenciais requer gasto de energia e que o fornecimento de aminoácidos essenciais e não essenciais em proporções adequadas promovem maior eficiência na utilização da proteína e energia contidas na dieta (NRC, 2011). É recomendado que o nível de aminoácidos não essenciais da dieta de tilápias não exceda 60,0% do total de aminoácidos (STICKNEY, 1997).

Dados na literatura têm indicado que o nível ótimo de proteínas em dietas para peixes varia de 25,0 a 50,0%, porém estes valores podem ser afetados por variáveis experimentais, tais como tamanho do peixe, temperatura da água, quantidade de energia não-proteica na dieta, qualidade da proteína e disponibilidade de alimento natural (LOVELL, 1998). As primeiras tentativas de determinação das exigências em proteína e aminoácidos pelos peixes foram conduzidas por Halver e colaboradores no final da década de 50 e início de 60 com espécies de salmão (WILSON, 1989; NRC, 2011). As avaliações das exigências desses nutrientes foram então conduzidas na forma de experimentos de dose – resposta com dietas purificadas, que continham caseína, gelatina, proteína e aminoácidos sintéticos, baseados na proporção de aminoácidos encontrada nos ovos de aves e salmões e saco vitelínico dos salmões (HALVER, 1957; DELONG et al. 1958; CHANCE et al. 1964). Esses trabalhos iniciais foram importantes, pois a partir dessas pesquisas foi possível definir protocolos para determinação da exigência em proteínas e aminoácidos para peixes.

Graeff e Pruner (2003), trabalhando com carpas (*Cyprinus carpio*) de 1,38 gramas (g), avaliaram níveis de 20,0; 27,0; 34,0 e 41,0% de proteína bruta (PB) em duas densidades: 15 e 30 peixes por metro quadrado (m²), num fatorial 4x2 e observaram que as repostas de desempenho tiveram efeito linear com a concentração de proteína, pois quanto maior o índice de proteína bruta, melhor foi o desempenho dos peixes. Aliado a isso a densidade de 15 alevinos/m² proporcionou melhor ganho de peso em relação à de 30 alevinos/m². Já, para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*), foram propostos diversos níveis de PB 32,7; 39,3; 43,4 e 48,6%, sendo que o teor de proteína dietética de 48,6% em dietas peletizadas levou ao melhor desempenho (ITUASSÚ et al. 2005).

Fernandes et al. (2000), estudaram diferentes fontes e níveis de proteína para pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e testaram valores de 22,0; 26,0 e 30,0% de PB e a substituição da farinha de peixe por farelo de soja (0,0; 50,0 e 100%). Conclui-se que a farinha de peixe, tradicionalmente utilizada nas dietas de peixes, pode ser substituída parcial ou totalmente pelo farelo de soja. O nível de 26,0% de PB na dieta foi suficiente para atender as exigências e proporcionar bom desempenho, sem comprometer a composição corporal dos peixes. Resultados similares foram obtidos para essa mesma espécie por Bechara et al. (2005), que testaram os níveis de 25,0; 35,0 e 45,0% PB para estes em tanques escavados. A melhor resposta de desempenho, sem alteração na composição corporal, foi com o menor nível de proteína bruta, 25,0%. Abimorad e Carneiro (2007) e Bicudo et al. (2010) também encontraram para pacu melhores respostas com 25,0 e 27,0% PB na dieta.

Chong et al. (2000), utilizando rações com 35,0; 40,0; 45,0; 50,0 e 55,0% de PB, observaram que a exigência em proteína estimada para maximizar a taxa de crescimento específico (TCE) de alevinos de acará-disco (*Symphysodon* spp) é de 44,9 a 50,1% de PB. Entretanto, Maehana et al. (2004) avaliaram as exigências de proteína para o acará-disco e não foram observadas diferenças significativas de ganho de peso para os alevinos alimentados com rações contendo 35,0; 40,0; 45,0 e 50,0% de PB. Zuanon et al. (2006), fizeram pesquisa semelhante com acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), espécie da mesma família do acará-disco, de hábito alimentar e habitat semelhantes. Para o estudo, utilizaram-se níveis de 34,0; 38,0; 42,0; 46,0 % de PB e não houve diferença entre os parâmetros de desempenho produtivo (peso final, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar (CA), taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica (TEP)). Os autores concluíram que

o nível de 34,0% de PB é suficiente para determinar melhores respostas de desempenho.

Fiogbé et al. (1996), trabalhando com Eurasian perch (*Perca fluviatilis*), determinaram que 43,1% PB proporcionou melhores respostas de desempenho. Resultados similares foram observados por Zhou et al. (2007) que avaliando níveis de proteína (27,0; 33,0; 38,0; 43,0; 49,0 e 54% PB) para juvenis de “Ivory shell” (*Babylonia areolate*) encontraram, por meio de regressão polinomial, 45,0% PB como melhor nível para resposta de crescimento e eficiência alimentar. Igualmente Kim e Lee (2009) testaram níveis de PB (35,0; 40,0; 45,0; 50,0 e 55,0%) para juvenis de “Tiger puffer” (*Takifugu rubripes*) e concluíram que os níveis para o máximo crescimento e melhor estado fisiológico estão entre 41,0 e 45,0%. Já para juvenis de “Pacific threadfin” (*Polydactylus sexfilis*), Deng et al. (2011) testaram cinco níveis de PB (25,0; 30,0; 35,0; 40,0 e 45,0%) e dois níveis de inclusão de lipídeos (10,0 e 14,0%), entretanto os autores citam que o nível de lipídeos não influenciou o desempenho e que 41,0% PB promoveu maior crescimento.

Segundo Austreng et al. (1987) utilizando dietas práticas para salmão do atlântico (*Salmo salar*), houve melhores resultados de crescimento quando alimentados com 44,0% de PB. Já, Arzel et al. (1995) determinaram que 53,0% de PB é o nível que promove melhor crescimento para alevinos de truta marrom (*Salmo trutta*) em relação aos outros níveis testados, 38,0; 43,0; 48,0; 53,0; 57,0; 60,0 e 65,0%.

Shiau e Lan (1996) formularam rações com níveis de PB (0,0; 8,0; 16,0; 24,0; 32,0; 40,0; 48,0 e 56,0%) para alevinos de “Grouper” (*Epinephelus malabaricus*) e observaram que 48,0% PB proporcionou melhor desempenho. Respostas semelhantes foram obtidas por Kim e Lall (2001) para juvenis de “Haddock” (*Melanogrammus aeglefinus*), que avaliaram níveis de proteína (45,0; 50,0; 55,0; 60,0 e 65,0% PB). Não foi observado diferença no desempenho dos peixes, mas 50,0% PB promoveu melhor retenção de energia. Resultados próximos foram encontrados por Kim et al. (2001a), com essa mesma espécie, que testaram 35,0; 40,0; 45,0 e 50,0% PB, e verificaram por meio de equação polinomial que o melhor nível para o desempenho dos animais é 49,9%. Respostas similares foram descritas por Unnikrishnan e Paulraj (2010), ao utilizarem níveis entre 15,0 e 55,0% PB em intervalos de 5,0% para “Giant mud crab” (*Scylla serrata*). A melhor resposta dos peixes ocorreu com a dieta com 45% PB.

Muitos autores já estudaram o efeito de concentrações de PB em rações fornecidas a diversas espécies de peixes. Dentre elas pode-se citar, “Korean rockfish” (*Sebastes schlegeli*); “Oshima” (*Spinibarbus hollandi*); “Australian red claw crayfish” (*Cherax quadricarinatus*); “Pike perch” (*Sander lucioperca*); “Chinese mitten crab” (*Eriocheir sinensis*); “African bonytongue” (*Heterotis niloticus*) e “Large yellow croaker” (*Pseudosciaena crocea*), que exigem para o máximo crescimento e saúde 48,6; 32,7; 22,0; 55,3; 35,0; 34,5 e 57,1% de PB, respectivamente (KIM et al. 2001b; YANG et al. 2003; THOMPSON et al. 2004; SCHULZ et al. 2007; LIN et al. 2010; MONENTCHAM et al. 2010a; YU et al. 2011).

Trabalhando com larvas de jundiás (*Rhamdia quelen*) Salhi et al. (2004) avaliaram níveis de PB de 30,0; 34,0; 38,0 e 43,0% e concluíram que 37,0% proporcionou à larvas melhor desempenho. Já Coldebella et al. (2011) avaliaram para reprodutoras desta mesma espécie, dietas com 28,0; 34,0 e 40,0% PB, e determinaram que o nível de 28,0% PB é suficiente para manter os índices reprodutivos.

Resultados semelhantes são encontrados para o camarão *Litopenaeus vannamei*, 32,0% PB foi o melhor resultado de desempenho, entretanto os autores justificam, que, em função do número de níveis avaliados (16,0; 32,0 e 48,0%), não foi possível determinar a exigência por meio de uma curva (análise polinomial) em função da distância entre os níveis (KURESHY; DAVIS, 2002).

Como em todas as espécies, quanto maior o animal menor a exigência em proteína. Tal fato foi observado por Ozório et al. (2009) e Sá et al. (2008) que trabalhando com “Seabream” (*Diplodus vulgaris*) e “White sea bream” (*Diplodus sargus*) determinaram 35,7% PB para peixes de 6 a 20 g e de 27,0 a 33,0% PB para peixes de 20 a 36 g, respectivamente.

A exigência de proteína para a tilápia-do-Nilo tem sido estudada por diversos autores. Hayashi et al. (2002) determinaram 38,6% de proteína digestível (PD) para larvas de tilápia-do-Nilo durante o período de inversão sexual. Já Abdel-Tawwab et al. (2010) trabalhando com larvas entre 0,4 a 0,5 g encontraram como nível ideal 45% PB. Trabalhando com alevinos são encontrados vários trabalhos com respostas distintas entre eles: Pezzato et al. (1986), Santiago e Lovell (1988), Silva et al. (1989), Furuya et al. (2000); Furuya et al. (2005) e Bonfim et al. (2008), encontraram exigência de 28,0; 35,0; 34,0; 32,0; 27,5 e 28,0% de PB, respectivamente, sendo que os dois últimos afirmaram que essa redução no nível proteico somente é possível devido à suplementação de aminoácidos na dieta. Resultados semelhantes foram descritos por

Abdel-Tawwab et al. (2010) cujo melhor nível para o máximo crescimento de alevinos entre 17,0 e 22,0 g foi de 35,0% PB. Para El-Sayed e Gaber (2005) a exigência para juvenis dessa mesma espécie é de 25,0% de PB. Utilizando juvenis de 35,0 a 270,0 g, Botaro et al. (2007) determinaram exigência de 24,3% de proteína digestível, correspondendo a 26,6% de PB.

Balarin e Haller (1982) trabalharam com alevinos de tilápia-do-Nilo com peso inferior a 1,0 g; de 1,0 – 5,0 g e de 5,0 – 25,0 g e determinaram exigência de 42,5; 35,0 e 27,5% de PB, respectivamente. Resultados similares foram obtidos por Al Hafedh (1999) que testou níveis de 25,0; 30,0; 35,0; 40,0 e 45,0% de PB para tilápia-do-Nilo de 0,51; 96,0; 264,0 g e concluiu que o nível 40,0% de PB foi o mais adequado para os animais com peso de 0,51 g e 30,0% de PB para os pesos de 96,0 e 264,0 g.

De acordo com Furuya et al. (2004) pode-se formular dietas com menor teor de proteína para juvenis e adultos de tilápia-do-Nilo utilizando-se valores de energia e aminoácidos digestíveis. Entretanto, os autores não correlacionaram a redução do teor de proteína com a higidez dos peixes, o que é imprescindível em criação intensiva, principalmente em tanques-rede, considerando os fatores estressores envolvidos e, muitas vezes, inevitáveis.

Níveis de proteína foram testados em condições de campo. Scorvo Filho et al. (2008) em tanques-rede de 2 m³, estudaram o ganho de peso diário, peso médio final, sobrevivência e conversão alimentar aparente de tilápia-do-Nilo com peso médio inicial de 40,0 g e criadas por 227 dias consumindo rações com 28,0; 32,0 e 36,0% de PB e concluíram que a concentração de 28,0% pode ser utilizada sem prejuízo ao desempenho dos peixes.

Igualmente em condições de campo, porém em tanques-rede de maior volume (18 m³), Gonçalves et al. (2009) testaram, para tilápia-do-Nilo de 202,0 ± 20,3 g, quatro rações com níveis crescente de proteína digestível formuladas com base no conceito de proteína ideal (18,0; 22,0; 26,0 e 30,0%). Os autores verificaram que após 200 dias de arrazoamento não houve diferença significativa entre as dietas avaliadas para peso final, ganho de peso médio diário, conversão alimentar aparente, sobrevivência, rendimento de filé, índice hepatossomático e índice de gordura visceral.

Freato et al. (2009) avaliaram o desempenho produtivo, também, em tanques-rede de três linhagens de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidas à quatro planos nutricionais: 1) 32,0% de PB durante todo o período de cultivo; 2) 36,0% de PB (25,0 a 200,0g) e 28,0% de PB (200,0 a 700,0g); 3) 36,0% de PB (25,0 a 170,0g), 32,0% de PB (170,0 a 220,0g) e 28,0% de PB (220,0 a 700,0g) e; 4) 40,0% de PB (25,0 a

61,0g), 36,0% de PB (61,0 a 110,0g), 28,0% de PB (110,0 a 300,0g) e 22,0% de PB (300,0 a 700,0g). Os autores concluíram que, de maneira geral, o plano nutricional três determinou os melhores resultados para as variáveis de desempenho produtivo analisadas, independente da linhagem estudada.

El-Saidy e Gaber (2005) testaram níveis de PB (25,0 e 30,0%) e taxas de arraçamento de 1,0; 2,0 e 3,0% do peso vivo (PV) para tilápias adultas em tanques de concreto. Os valores de 25,0% PB e 2,0% PV proporcionaram melhores respostas de desempenho aos animais. Ng e Hanim (2007) trabalharam com juvenis de duas linhagens de tilápia (Genetic Improved Farmed Tilápia – GIFT e Red hybrid tilápia) e dois níveis proteicos (25,0 e 35,0%), e encontraram que para linhagem GIFT a melhor resposta foi obtida com 35,0% PB. Já, para red hybrid tilapia, pode-se utilizar 25,0% PB para proporcionar ótimo desenvolvimento. Os autores ressaltam que o fator genotípico deve ser considerado para determinação das exigências nutricionais das diferentes linhagens, assim como é realizado para aves e suínos.

A exigência em proteína para peixes varia também em função do hábito alimentar, tamanho, fisiologia do animal e alguns fatores ambientais. Essa diversificação nos resultados de exigência em proteína pode ser observada nas espécies a seguir: “Greenlip abalone” (*Haliotis laevis*); “Giant croaker” (*Nibea japonica*); “Silver barb” (*Puntius gonionotus*); “Cobia” (*Rachycentron canadum*); “Marbled spinefoot rabbitfish” (*Siganus rivulatus*); “Silver perch” (*Bidyanus bidyanus*) e “Shi drum” (*Umbrina cirrosa*), que correspondem a 27,0; 45,0; 31,8; 45,0 e 40,0 % PB, 28,0 e 45,6% de PD respectivamente (COOTE et al. 2000; LEE et al. 2001; MOHANTA et al. 2008; FRASER; DAVIES, 2009; EL DAKAR et al. 2011; ALLAN et al. 2001; AKPINAR et al. 2011).

Analisando valores de proteína digestível, Lupatsch e Kissil (2005) determinaram que a exigência diária pelo “White grouper” (*Epinephelus aeneus*) de 5,0; 50,0; 250,0 e 750,0 g é de 0,107; 0,401; 1,014 e 1,919 g/peixe/dia, respectivamente. Para “Barramundi” (*Lates calcarifer*) a exigência diária de PD para peixes de 50,0; 100,0 500,0 1000,0 e 2000,0 g é 0,82; 1,11; 2,29; 3,16 e 4,36 g/peixe/dia, respectivamente (GLENCROSS, 2008). Já, para “Yellowtail kingfish” (*Seriola lalandi*) a exigência diária de PD para o máximo crescimento de peixes com 50,0; 100,0; 250,0; 500,0; 750,0; 1000,0; 1500,0 e 2000,0 g é de 1,35; 1,99; 3,35; 4,97; 6,26; 7,38; 9,32 e 11,01 g/peixe/dia, respectivamente (BOOTH et al. 2010). Glencross et al. (2011) constataram que a exigência diária de PD pelo “Tra catfish” (*Pangasianodon hypophthalmus*) de 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 e 1000,0 g é de 0,61; 1,28;

1,76; 3,76 e 5,25 g/peixe/dia, respectivamente. Trung et al. (2011) verificaram que a exigência diária de PD pela tilápia-do-Nilo de 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 e 1000,0 g é de 0,253; 0,546; 0,765; 1,708 e 2,442 g/peixe/dia, respectivamente.

2. Energia

A energia não é um nutriente, mas sim o produto liberado durante a oxidação de carboidratos, lipídeos e aminoácidos (DE SILVA; ANDERSON, 1995). A energia dos alimentos ingeridos é utilizada para manutenção das atividades metabólicas, crescimento e elaboração de produtos reprodutivos, sendo parte eliminada nas fezes, urina e brânquias e, parte dissipada como calor. A magnitude dessas perdas depende principalmente das características da dieta e da qualidade do arraçoamento (DE SILVA; ANDERSON, op. cit.).

Para manutenção da massa corporal, a energia absorvida da dieta deve ser equivalente às perdas para manutenção e atividade dos animais. Quando a energia da dieta excede essas necessidades pode ocorrer o crescimento com deposição de matéria, que para os peixes é predominantemente proteína. Na ausência de fornecimento de qualquer dieta, toda energia para manutenção e atividade precisam ser providas a partir de fontes endógenas, como carboidratos, lipídios e proteínas assimilados durante o crescimento (BRETT; GROVES, 1979).

A ingestão de energia é exigência nutricional básica porque os processos de manutenção da vida são prioritários sobre o crescimento e outras funções. Assim, a concentração energética deve ser a primeira a ser considerada numa formulação de ração. Na prática, entretanto, geralmente é dada prioridade aos níveis de proteína em função do maior custo dos alimentos proteicos em relação aos energéticos (NRC, 2011).

Como os peixes são animais pecilotérmicos, a exigência em energia varia de acordo com a temperatura do meio em que vivem, embora seja amplamente aceito que a exigência em energia de manutenção esteja entre 5,0 e 10,0% daquela observada para mamíferos e aves (SMITH, 1989). Um dos fatores que explica a necessidade de baixa energia de manutenção é que os peixes excretam amônia e não uréia. Soma-se ainda o fato de que seu movimento na água é mais eficiente, do ponto de vista energético, quando comparado aos animais terrestres (PANNEVIS; HOULIHAN, 1992).

Shiau e Huang (1990) trabalhando com alevinos de 1,6 g de tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) testaram seis níveis de energia (190,0; 230,0; 270,0; 310,0; 350,0 e 390,0 kcal/100g de dieta) e dois níveis de PB (21,0 e 24,0%) e o melhor resultado foi com 24,0% PB e 2300 kcal/kg de dieta. Entretanto, os autores concluíram que é possível utilizar 21,0% PB, desde que se utilize 3100 kcal de energia/kg de dieta.

Boscolo et al. (2005) testaram o desempenho produtivo de larvas de tilápia-do-Nilo ($21,0 \pm 4,0$ mg) arraçadas, por 30 dias, com cinco dietas que diferiam quanto aos níveis de energia digestível (ED) (3300, 3525, 3750, 3975 e 4200 kcal/kg). Os autores concluíram que o aumento nos níveis de ED durante a fase de reversão sexual proporciona redução no desempenho. Já Tran-Duy et al. (2008) compararam para juvenis de tilápia-do-Nilo o uso de dietas com mesma relação P:E, com níveis de energia (20,12; 16,61 e 13,71 KJ/g de dieta), e diferentes fontes (lipídeos e carboidratos). Neste caso observou-se que 16,61 KJ/g de dieta e o lipídeo como fonte de energia, proporcionou melhor desempenho. Segundo Trung et al. (2011) a exigência diária de ED pela tilápia-do-Nilo de 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 e 1000,0 g é de 7,74; 19,48; 29,14; 75,36 e 114,33 kJ/peixe/dia, respectivamente.

Hajra et al. (1988) determinaram para juvenis de "Tiger prawn" (*Penaeus monodon*) como melhor nível energético, 4126 kcal/kg de dieta. Já, Navarro et al. (2007) objetivaram determinar a exigência de energia para pós larvas ($0,56 \pm 0,02$ g) de piaçu (*Leporinus macrocephalus*). Os autores avaliaram o desempenho produtivo proporcionado por cinco dietas isoproteicas (28,0% PB) contendo 2600, 2700, 2800, 2900 e 3000 Kcal de energia digestível/kg e concluíram que 2700 kcal/kg resultou em maior desempenho.

Borba et al. (2006) avaliaram níveis de energia metabolizável (EM) para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbinyanus*). Os níveis testados foram 10,92; 12,29; 13,63; 14,82 e 16,16 kJ/g de dieta, juntamente com duas relações carboidrato (CHO):lipídeos (5,3 e 12,8). A ração com níveis entre 13,63 e 14,82 kJ EM/kg dieta e relação 5,3 promoveram melhores respostas de desempenho.

Sistemas de arração também foram testados para determinação de níveis de energia. Paspatis e Boujard (1996) trabalhando com juvenis de salmão do atlântico avaliaram dois tipos de alimentadores, liberação de ração programada e método *self service*, com alta e baixa energia (20,3 e 18,5 kJ/g, respectivamente). A dieta com baixa energia proporcionou melhores resultados, independentemente do tipo de alimentador.

Segundo revisão de Bailey e Alanärä (2006), a exigência em ED para esturção branco (*Acipenser transmontanus*) é 21,0 MJ ED/kg de dieta; para a enguia americana (*Anguilla rostrata*) é de 17,8 MJ ED/kg de dieta; para “Silver perch” é de 13,7 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 11,8 a 14,7 MJ ED/kg de dieta; para “Walking catfish” (*Clarias batrachus*) é de 14,1 MJ ED/kg de dieta; para o bagre africano (*Clarias gariepinus*) é de 15,1 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 14,4 a 16,4 MJ ED/kg de dieta. Para o tambaqui (*Collosoma macropodum*) é de 15,8 MJ ED/kg de dieta; para “European whitefish” (*Coregonus lavaretus*) é de 18,8 MJ ED/kg de dieta; para “European seabass” (*Dicentrarchus labrax*) é de 17,3 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 15,8 e 18,4 MJ ED/kg de dieta; para “Cod” (*Gadus morhua*) é de 12,2 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 6,1 e 19,3 MJ ED/kg de dieta; para “Atlantic halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*) é de 21,0 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 20,0 e 22,1 MJ ED/kg de dieta.

De acordo com Bailey e Alanärä op. cit., a exigência em ED para “Channel catfish” (*Ictalurus punctatus*) é de 10,8 MJ ED/kg de dieta com variação entre 7,5 e 14,0 MJ ED/kg de dieta; para “Haddock” é de 18,6 MJ ED/kg de dieta; para “Stripped bass” (*Morone saxatilis*) é de 12,7 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 12,0 e 13,3 MJ ED/kg de dieta; para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é de 18,4 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 13,2 e 21,6 MJ ED/kg de dieta; para “Chinook salmon” (*Oncorhynchus tshawytscha*) é de 16,4 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 15,8 a 16,9 MJ ED/kg de dieta. Para tilápia mossambicana (*Oreochromis mossambicus*) é de 15,1 MJ ED/kg de dieta; para tilápia-do-Nilo é de 15,4 MJ ED/kg de dieta com variação entre 11,9 a 17,7 MJ ED/kg de dieta; para “Spotted sand-bass” (*Paralabrax maculatofasciatus*) é de 16,0 MJ ED/kg de dieta; “Bastard halidut” (*Paralichthys olivaceus*) é de 16,8 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 16,1 a 18,0 MJ ED/kg de dieta; para “Perch” (*Perca fluviatilis*) é de 14,5 MJ ED/kg de dieta.

Já para salmão do Atlântico a exigência em ED é de 20,4 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 14,8 a 22,4 MJ ED/kg de dieta; para “Arctic charr” (*Salvelinus alpinus*) é de 17,7 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 17,0 a 19,4 MJ ED/kg de dieta; para “Brook trout” (*Salvelinus fontinalis*) 20,6 é de MJ ED/kg de dieta; para “Red drum” (*Sciaenops ocellatus*) é de 14,4 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 12,2 a 16,9 MJ ED/kg de dieta; para “Turbot” (*Scophthamus maximus*) é de 17,3 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 15,9 a 19,0 MJ ED/kg de dieta. Para “Rockfish” é de 16,9 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 15,9 a 17,9 MJ ED/kg de dieta e para dourada (*Sparus aurata*) é de 17,4 MJ ED/kg de dieta, com variação entre 15,3 a 19,9 MJ

ED/kg de dieta (Bailey e Alanärä op. cit.). Entretanto, resultados distintos podem ser observados dentro de uma mesma espécie, todavia isso pode ser explicado pelas variáveis temperatura e tamanho dos peixes, que influenciam na determinação de ED.

Trabalhando com truta arco-íris, Alanärä (1994) avaliou níveis de energia bruta (EB) (19,8; 20,7 e 22,0 MJ EB/kg de dieta), e não observou melhora do desempenho independentemente do nível de energia utilizado, concluindo que 19,8 MJ EB/kg de dieta é o nível ideal, resultado este semelhante aos de Bailey e Alanärä (2006) que encontraram um valor médio dos acervos consultados de 18,4 MJ ED/kg de dieta. Entretanto, Bermudes et al. (2010) testaram com “Barramundi” diferentes níveis energéticos, e 23,0 MJ ED/kg de dieta, proporcionou melhor resultado de desempenho e eficiência alimentar aos peixes, desde que trabalhe com temperatura entre 26,2 a 34,9°C. Segundo os autores, fora desta faixa térmica, provavelmente a exigência energética seria outra.

Company et al. (1999) trabalhando com “Gilthead seabream”, avaliaram os riscos de se utilizar dietas com alto teor de lipídeos. Para isto testaram duas rações: 55,0%PB + 9,0% lipídeos (20,9 KJ/g de dieta) e 46,0%PB + 17% lipídeos (22,4 KJ/g de dieta). Não observaram diferenças nas respostas de desempenho, entretanto o acúmulo de gordura nas vísceras e fígado foi maior nos animais alimentados com a dieta com alto teor de lipídeo. Kang'ombe et al. (2007) determinaram como melhor nível de energia para “Malawian tilápia” (*Oreochromis shiranus*) 20,50 kJ/g de dieta, perfazendo a relação P:E 14,63. Sendo que os níveis testados foram 13,39; 16,74; 20,50 e 23,85 kJ EB/g de dieta. Já, Lee et al. (2000) avaliaram dois níveis de energia (baixa 12,7 kJ/g e alta 17,2 kJ/g de dieta), porém com quatro frequências alimentares (1x/2 dias, 1x/dia, 2x/dia e 3x/dia) para juvenis de “Flounder”. Os melhores resultados de desempenho foram obtidos alimentando os peixes 2x/dia com nível de energia de 17,2 kJ/g de dieta ou 3x/dia, com 12,7 kJ/g de dieta.

McGoogam e Gatlin III (2000) determinaram para “Red drum”, que os níveis de energia (15,1; 15,9; 16,7; 17,6 e 18,4 kJ/g de dieta) não influenciaram o desempenho dos animais, mas os animais alimentados com dietas com menores níveis produziram mais amônia, justamente em função da maior ingestão de alimento. Já, para truta arco-íris e carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) o melhor nível energético encontrado foi 17,5 kJ/g de dieta e 2672 kJ/kg de dieta, respectivamente (KIM; KAUSHIK, 1992; DU et al. 2005).

Boujard et al. (2004) trabalhando com “European sea bass”, compararam três dietas (baixa, média e alta energia: 10,0; 20,0 e 30,0 % de lipídeos) e dois tipos de

alimentação (restrita e à vontade), sendo que não houve diferenças para os animais alimentados à vontade. Entretanto, quando há restrição, a dieta com alta energia (25,8 KJ/g de dieta) proporcionou melhor desempenho, além de melhorar a retenção de nitrogênio e energia, diminuindo também a excreção de nitrogênio para o meio. Trabalhando com essa mesma espécie, Lupatsch et al. (2010a) determinaram que a energia de manutenção para indivíduos mantidos em baixa densidade (5,5 kg/m³) foi de 50,9 kJ/dia e em alta densidade (36,0 kg/m³), de 43,15 kJ/dia, não havendo diferença no desempenho entre esses dois grupos. Entretanto, os autores citam que os níveis de glicose e cortisol são maiores nos animais mantidos em alta densidade, mas isso não comprometeu a saúde dos animais.

Segundo Lupatsch e Kissil (2005) a exigência diária de ED pelo “White grouper” de 5,0; 50,0; 250,0 e 750,0 g é de 3,20; 14,43; 42,21 e 88,85 kJ/peixe/dia, respectivamente. Para “Barramundi” a exigência diária de ED para peixes de 50,0; 100,0 500,0 1000,0 e 2000,0 g é 23,91; 36,74; 101,49; 158,64 e 249,45 kJ/peixe/dia, respectivamente (GLENCROSS, 2008). Já, para “Yellowtail kingfish” a exigência diária de ED para o máximo crescimento dos peixes de 50,0; 100,0; 250,0; 500,0; 750,0; 1000,0; 1500,0 e 2000,0 g é 31,17; 51,39; 99,71; 164,84; 221,30; 272,81; 366,51 e 452,04 kJ/peixe/dia respectivamente (BOOTH et al. 2010). Já, Glencross et al. (2011) determinaram que a exigência diária de ED pelo “Tra catfish” de 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 e 1000,0 g é de 20,44; 50,62; 75,19; 191,59 e 289,18 kJ/peixe/dia, respectivamente.

3. Relação Energia:Proteína

A concentração ótima de proteína em dietas para peixes é obtida pelo balanço entre a proteína e a energia (P:E), sendo que, o excesso de energia pode levar à inibição da ingestão de alimento, sem que haja consumo da quantidade necessária da fração protéica (CHO, 1992). A ingestão de alimentos é, fundamentalmente, influenciada pela quantidade de energia na dieta. Uma dieta deficiente em energia resulta na redução da taxa de crescimento e na eficiência de deposição proteica, uma vez que parte da proteína pode ser utilizada como fonte energética (NRC, 2011).

Resultados de diversos estudos conduzidos em laboratório com espécies de peixes carnívoros, como salmonídeos e percídeos, indicam que o crescimento ótimo é alcançado quando aproximadamente metade da energia da dieta é suprida pela proteína, sendo que a proteína deve proporcionar de 40,0 a 50,0% da energia dietética

para estas espécies (JOBBLING, 1994). Entretanto, Kubitza (1997) enfatizou que nem sempre a dieta com alto teor de proteína promove o melhor desempenho produtivo dos peixes. Cho et al. (1985) afirmaram que a exigência de proteína depende do tamanho do animal, portanto, peixes de tamanho reduzido exigem maior nível de proteína para o máximo crescimento quando comparados a peixes de maior tamanho.

Deste modo, Sampaio et al. (2000) avaliando o efeito da relação E:P no desempenho produtivo e composição corporal do tucunaré (*Cichla* sp), concluíram que dependendo do tamanho do peixes pode-se utilizar dietas com 8,0 a 9,0 kcal de ED/g de PB (37,0 a 41,0% de PB e 3500 kcal de ED). Já Portz et al. (2001) estudaram níveis de PB e EB para juvenis de “Largemouth bass” (*Micropterus salmoides*) e determinaram que a melhor relação E:P na dieta varia entre 25,0 e 26,9 mg/kJ.

Signor et al. (2010a) estudaram a relação E:P (3250 e 3500 kcal/kg e 25,0; 30,0 e 35,0% PB) para pacus em tanques-rede e não observaram diferenças estatísticas para desempenho. Entretanto, a variável gordura visceral foi influenciada pelo nível de energia da dieta, sendo recomendado a relação 130, que corresponde a 25,0% PB e 3250 kcal ED/kg de dieta. Para essa mesma espécie, Bicudo et al. (2010) indicam como melhor resposta de desempenho 27% PB com relação PB:ED de 22,2 g/MJ.

Meyer e Fracalossi (2004), trabalhando com jundiás, testaram 26,0; 29,0; 33,0; 37,0 e 41,0% PB e 3200 e 3650 kcal/kg EM, e a melhor resposta encontrada foi com 3200 kcal/kg e 32,6% PB, e para 3650 kcal/kg, 37,3% PB, indicando que os melhores resultados foram obtidos com a relação entre 97 e 98. Segundo Salhi et al. (2004), para larvas desta mesma espécie a melhor relação P:E é 23,6 mg/kJ perfazendo 38,0% PB, 14,0% de lipídeos e 14,2 kJ de energia/g de dieta. Já Reidel (2007) testou níveis de energia digestível (3250 e 3500 kcal ED/kg dieta) e proteína bruta (25, 30 e 35%) para jundiás criados em tanques-rede e concluiu que a melhor relação para o desempenho foi de 108, sendo esta relação oriunda da dieta com 30% PB e 3250 kcal ED/kg dieta.

Hajra et al. (1988) constataram que para juvenis de “Tiger prawn” (*Penaeus monodon*) a melhor relação P:E foi de 112,1. Resultados semelhantes foram encontrados para larvas de “Rabbitfish” cujo a melhor relação P:E está entre 93 e 120, sendo 35,0% PB e 3832 kcal/kg de dieta (PARAZO, 1990). Samantaray e Mohanty (1997) concluíram que a melhor relação para “Snakehead”, (*Channa striate*) é de 90,9 mg proteína/kcal ED. Já Gómez-Montes et al. (2003) verificaram para “Green abalone” (*Haliotis fulgens*) que a melhor relação P:E é 100.

Para o peixe rei (*Odonthestes bonariensis*) Piedras et al. (2004) compararam relações de energia digestível:proteína bruta (ED:PB), que variaram de 82 a 63. Os melhores resultados de desempenho produtivo encontrados estavam entre as relações 69 e 63, que correspondeu às dietas com 51,0 e 54,0% PB e 3400, 3500 e 3600 kcal ED/kg.

Catacutan e Coloso (1995) avaliaram três níveis PB e lipídeos (35,0; 42,5 e 50,0/5,0; 10,0 e 15,0%, respectivamente) para “Barramundi”, e a melhor resposta de desempenho obtida foi com 42,5% PB e 10,0% de lipídeos, perfazendo como relação P:E ideal 128 mg proteína/kcal. Já para “Channel catfish”, 37,0% PB e 3600 kcal/kg de dieta, promoveram melhor desempenho, sendo a relação P:E equivalente a 103 (GAYLORD; GATLIN III, 2001). Já Reis et al. (1989) trabalhando com essa mesma espécie avaliaram níveis de proteína bruta (26, 31, 35 e 39%) com 2900 kcal ED/kg, e a dieta com 35% PB determinou melhores resultados perfazendo 120 como a melhor relação P:E.

El-Sayed e Teshima (1992) analisaram cinco níveis de PB (30,0; 35,0; 40,0; 45,0 e 50,0%) e três níveis de energia (3000, 4000 e 5000 kcal EB/kg de dieta), para larvas de tilápia-do-Nilo, e concluíram que a melhor resposta de crescimento em condições de laboratório foi com 45,0% PB e 4000 kcal EB/kg de ração. Já Sweilum et al. (2005) estudaram dois tamanhos de juvenis, (23,0 e 40,0 g), dessa mesma espécie, e testaram níveis de PB (20,0; 25,0 e 30,0%) e energia (10,5; 12,6 e 14,7 kJ/g), sendo que para peixes de 23,0 g a melhor resposta foi com 30,0% PB e 10,5 kJ/g, e para peixes de 40,0 g, 25,0% PB e 12,6 kJ/g, perfazendo as relações 118,3 e 82,06 respectivamente. Igualmente com tilápia-do-Nilo, El-Sayed e Kawanna (2008), trabalhando com reprodutoras, pelo período de 150 dias, determinaram melhores índices reprodutivos com 40,0% PB e 16,7 MJ EB/kg, sendo que os níveis testados foram 30,0; 35,0; e 40,0%PB e 14,6; 16,7 e 18,8 MJ EB/kg. Utilizando essa mesma espécie e classe (reprodutoras de 300,0 g), Lupatsch et al. (2010b) constataram que a relação PD:ED que promove melhores índices reprodutivo é 20,5 g/MJ. Segundo Trung et al. (2011) a relação PD:ED para tilápia-do-Nilo de 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 e 1000,0 g é 32,7; 28,0; 23,3; 22,7 e 21,4 g/MJ, respectivamente.

Foi descrito por Allan e Booth (2004) que a relação PD:ED de 17,3 a 19,2 g/MJ, proporcionam melhores respostas para juvenis de silver perch. Resultados distintos foram obtidos por Ye et al. (2009) para juvenis de “Yellow catfish” (*Pelteobagrus fulvidraco*), no qual a relação P:E ideal varia entre 24,0 e 28,2 mg/kJ. Para juvenis de “Chinese sucker” (*Myxocyprinus asiaticus*) a relação P:E que promove melhor

desempenho oscila entre 29,2 e 31,4 mg/kJ (YUAN et al. 2010), e 34,0 mg PB/kJ ED para juvenis de “Cobia” (JR WEBB et al. 2010).

Segundo Lupatsch e Kissil (2005) a relação PD:ED para white “Grouper” de 5,0; 50,0; 250,0 e 750,0 g é de 33,0; 27,8; 24,0 e 21,5 g/MJ, respectivamente. Para “Barramundi” a relação PD:ED para peixes de 50,0; 100,0 500,0 1000,0 e 2000,0 g é de 34,1; 30,2; 22,6; 19,9 e 17,5 g/MJ, respectivamente (GLENCROSS, 2008). Para essa mesma espécie Glencross e Bermudes (2011) verificaram que a melhor relação PD:ED para peixes de 100,0 g cultivados em águas com temperatura de 25,0; 30,0 e 35,0°C é de 28,0; 28,5 e 34,7 g/MJ, respectivamente. Já, para peixes de 500,0; 1000,0 e 2000,0 g cultivados a 35°C a melhor relação é de 26,9; 24,1 e 21,5, respectivamente. Booth et al. (2010) trabalharam com “Yellowtail kingfish” e constataram que a relação PD:ED para o máximo crescimento de peixes com 50,0; 100,0; 250,0; 500,0; 750,0; 1000,0; 1500,0 e 2000,0 g é de 43,3; 38,8; 33,6; 30,1; 28,3; 27,1; 25,4 e 24,3 g/MJ, respectivamente. Já, Glencross et al. (2011) determinaram melhor relação PD:ED para “Tra catfish” de 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 e 1000,0 g, como sendo de 29,9; 25,3; 23,5; 19,6 e 18,1 g/MJ, respectivamente.

De acordo com Nematipour et al. (1992) a relação E:P que proporciona melhor desempenho e eficiência alimentar para o híbrido “Striped bass” (*Morone chrysops* x *m. saxatilis*) é de 8,0 kcal/g de proteína. Já Dias et al. (1998) determinaram que as melhores respostas para “European seabass” foram obtidas utilizando dietas com relação P:E entre 19,0 a 20,0 mg/kJ. Trabalhando com juvenis dessa mesma espécie Boujard et al. (2004) encontraram respostas semelhantes, que testaram três relações de PD:ED (26,0; 22,8 e 20,9 mg/kJ) e as melhores respostas de desempenho foram determinadas com 20,9 mg/kJ. Diferentemente, Ai et al. (2004) encontraram resultados distintos para juvenis de “Japanese seabass” (*Lateolabrax japonicus*), pois ao testarem níveis de PB (36,0; 41,0 e 46,0%) e lipídeos (8,0; 12,0 e 16,0%) encontraram como melhor relação P:E 24,2 mg proteína/kJ (41,0%PB e 12,0% de lipídeos).

McGoogam e Gatlin III (2000) avaliaram para “Red drum”, três dietas, 33,0% PD/13,0 kJ; 40,0% PD/15,5 kJ e 50,0% PD/18,0 kJ/g de dieta e a que promoveu melhor desempenho foi a dieta com 40,0% PD e 15,5 kJ/g de ração. Resultados semelhantes foram encontrados por Catacutan (2002) para juvenis de “Mud crab” (*Scylla serrata*) no qual a relação P:E ideal foi entre 14,7 a 17,6 kJ/g de dieta. Diferentemente, para juvenis de “Pacific threadfin”, Deng et al. (2011) avaliaram cinco níveis de PB (25,0; 30,0; 35,0; 40,0 e 45,0%) e dois níveis de inclusão de lipídeos

(10,0 e 14,0%), perfazendo as relações P:E entre 13,3 e 24,9 g/MJ, e as melhores relações obtidas para desempenho produtivo foram entre 21,0 e 22,3 g/MJ.

Kim e Kaushik (1992) determinaram para truta arco-íris, que a relação P:E que promoveu melhor desempenho aos peixes foi de 25,9 mg/kJ. Respostas semelhantes foram encontradas por Rueda-López et al. (2011), que testaram para juvenis de “Totoaba” (*Totoaba mcdonaldi*) três níveis de proteína bruta (43,0; 48,0 e 52,0%) e dois de lipídeos (8,5 e 18,0%), que equivalem a 20,1 e 22,3 kJ/g, respectivamente, variando a P:E entre 19,5 a 25,7 mg proteína/kJ. A melhor resposta de desempenho foram 52,0% PB e 8,5% de lipídeos perfazendo a relação 25,7 mg proteína/kJ. Em função dos resultados obtidos ainda é desconhecido se a espécie exige teor de proteína e energia maior para seu máximo crescimento, uma vez que 52,0% PB foi o maior nível e 8,5% esta distante do valor máximo de lipídeos utilizado.

Para “South african abalone” (*Haliotis midae*) a melhor relação P:E para peixes de 0,2 e 8,0 g é 22,5 e 24,8 mg/kJ, respectivamente (BRITZ; HECHT, 1997). Já, Ali e Jancey (2005) trabalhando com juvenis de bagre africano avaliaram relações P:E de 15,5 a 22,3 mg PB/kJ EB, sendo que a relação 20,5 mg PB/kJ EB proporcionou melhor ganho de peso aos animais. Resposta semelhantes foram observadas por Mohanta et al. (2008) para “Silver barb”, na qual se estabeleceu como melhor relação P:E 21,1 mg PB/kJ de EB.

Resultados distintos foram obtidos por Phumee et al. (2009) e Liu et al. (2011) com “Asian catfish”, que encontraram como melhor relação P:E 20,0 e 27,0 g/MJ, respectivamente. Também foram determinadas relações P:E diferentes para “White sea bream”, 14,3 e 20,0 g/MJ (SÁ et al. 2006; OZÓRIO et al. 2006).

A partir desta contextualização nota-se que os resultados, não necessariamente chegam às mesmas respostas uma vez que estágio de vida, estrutura experimental, manejos e características das dietas, são algumas variáveis que podem interferir na determinação da relação P:E. Muitas são as espécies de poder econômico, entretanto nem todas possuem dietas espécie específica, principalmente pela grande variação da relação P:E.

Foram determinadas relações P:E para algumas espécies como: “Red snapper” (*Lutjanus argentimaculatus*); “Olive flounder”; “Turbot” (*Scophthalmus maximus*); “Red porgy” (*Pagrus pagrus*); “Silver barb”; “Black sea bass” (*Centropristis striata*); “Snakehead”; “African bonytongue”, “African abalone”; “Senegalese sole” (*Solea senegalensis*) e “Persian sturgeon” (*Acipenser persicus*) de: 23,3; 27,5; 33,4; 24,6; 20,2; 29,7; 24,3; 14,7; 14,2; 27,6 e 18,8 mg/kJ, respectivamente (CATACUTAN et al.

2001; KIM et al. 2004; CHO, 2005; SCHUCHARDT et al. 2008; MOHANTA et al. 2009; ALAM et al. 2009; ALIYU-PAIKO et al. 2010; MONENTCHAM et al. 2010b; GREEN et al. 2011; GUERREIRO et al. 2011; MOHSENI et al. 2011).

Deve-se atentar aos valores de relação P:E, para que não se compare dados brutos com digestíveis, desta forma é necessário averiguar as relações com as mesmas unidades. Alguns dados de relação PD:ED também foram encontrados na literatura para “Gilthead seabream”; “American eel”; “Australian redclaw crayfish” (*Cherax quadricarinatus*); “Pikeperch”; “Humpback grouper” (*Cromileptes altivelis*); “Amberjack” (*Seriola dumerili*); “Lackspot seabream” (*Pagellus bogaraveo*) e “Mulloway” (*Argyrosomus japonicus*); como sendo 20,8; 22,1; 18,4; 24,5; 31,5; 27,7; 27,5 e 28,6 g PD/MJ ED, respectivamente (SANTINHA et al. 1999; TIBBETTS et al. 2001; CORTÉS-JACINTO et al. 2005; NYINA-WAMWIZA et al. 2005; USMAN et al. 2005; TAKAKUWA et al. 2006; FIGUEIREDO-SILVA et al. 2010; PIROZZI et al. 2010).

O estudo da relação entre o nível proteico da dieta e o nível energético tem sido realizado com espécies comerciais, no entanto, há muitas variações de resultados o que dificulta o estabelecimento de valores adequados para a relação energia/proteína e para níveis de proteína e energia para a tilápia. Somado a isso, existe o fator ambiental a ser considerado, uma vez que o excesso de proteína e de outros nutrientes utilizados nas dietas vem sendo eliminados no ambiente prejudicando, consideravelmente, a qualidade da água.

Em função do exposto e, ainda, considerando-se o aumento do cultivo de tilápia em sistema de tanques-rede faz-se necessário estudos para a determinação de valores de nutrientes e energia digestíveis e também a conscientização de fabricantes de rações e produtores dos custos fisiológicos e ambientais para a utilização de valores acima do exigido pelo peixe.

4. Colina

A colina é considerada substância essencial para o organismo animal e é utilizada para regulação dos processos metabólicos, como manutenção das células estruturais e formação da lecitina, sendo responsável pelo transporte de lipídeos e formação das membranas. É também necessária para síntese de acetilcolina, importante neurotransmissor (MCDOWELL, 1989). Outra função é o fornecimento de radicais metil, para reações de metilação, participando do processo de formação da metionina (MCDOWELL, 1989; HALVER, 1989). Visto este efeito, Tsiagbe et al. (1992)

constatarem que a colina pode ser substituída e substituir parcialmente a metionina em rações de aves de postura, sem prejudicar a produção e qualidade dos ovos.

A forma mais comumente encontrada de colina é o cloreto de colina, com cerca de 60,0 a 70,0% de colina disponível. Sua estabilidade a altas temperaturas foi comprovado por Aburto et al. (1998), sendo que no processo de extração do óleo de soja e obtenção do farelo, os níveis de colina se mantiveram. Esta é estável também ao meio ácido, entretanto em meio alcalino ela é destruída (HALVER, 1989). A colina é indispensável para o crescimento ótimo dos peixes e previne o fígado gorduroso (KETOLA, 1976; HALVER, 1989). Os animais conseguem sintetizar essa substância, porém são produzidas em quantidades insuficientes para atender à exigência, sendo necessária sua inclusão na dieta.

A exigência de colina pode ser afetada por alguns fatores, como por exemplo: a concentração de metionina, betaína, inositol, ácido fólico e vitamina B₁₂, ou a combinação de níveis e composição da gordura, carboidratos e proteínas, além da espécie, sexo e idade. Tudo isso deve ser considerado, pois influencia sua exigência e ação lipotrófica (MOOKERJEA, 1971). A sua deficiência nos animais pode ser medida por meio de avaliações sanguíneas, na qual se observa diminuição do número de eritrócitos, queda na porcentagem de hematócrito e na taxa de hemoglobina, além de aumentar a infiltração de gordura no fígado e rins (LEWIS; SOUTHERN, 2001). Entretanto, Fernandes Junior et. al. (2010a) trabalhando com dietas práticas para juvenis de tilápias-do-Nilo não observaram influência da suplementação de colina na eritropoiese dos peixes.

A deficiência de colina piora a conversão alimentar aparente e o crescimento dos peixes, além de causar hemorragia no intestino. Porém, peixes alimentados com dietas sem suplementação de colina e ricos em farelos de trigo, soja e outras leguminosas, não apresentaram sinais de deficiência, uma vez que esses ingredientes são ricos em colina, com níveis acima de 2,0 mg de colina por grama de ingredientes (HALVER, 1989). Isso foi evidenciado para alevinos de bagre do canal, por Zhang e Wilson (1999), que avaliaram a disponibilidade de colina nos ingredientes, e concluíram que, a disponibilidade de colina nas dietas comerciais variou de 1037,0 a 1681,0 mg colina/kg de dieta, desconsiderando a colina adicionada, níveis estes satisfatórios para o máximo desempenho. Entretanto a suplementação de 400,0 mg colina/kg de ração para essa espécie é indicada para evitar o fígado gordo. Em função disso, Menten et al. (1997), em estudo com frangos de corte, extraíram toda a colina do farelo de soja utilizando-se lavagem com metanol, para posteriormente adicionar a

concentração de colina desejada. O autor cita ainda que o método funciona e que seria interessante fazer o mesmo processo com outros ingredientes, sendo possível fazer experimentos mais precisos para determinação de exigência de colina com dietas práticas.

Segundo Devlin (2000) a colina faz parte da formação de fosfolipídeos, sendo estes lipídeos polares, iônicos, compostos por 1,2-diacilglicerol e uma ponte fosfodiéster que liga o esqueleto do glicerol a uma base, geralmente nitrogenada, como colina, serina ou etanolamina (Figura 1). Os fosfolipídeos mais abundantes nos tecidos são a fosfatidilcolina (também chamada de lecitina), fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina (Figura 2).

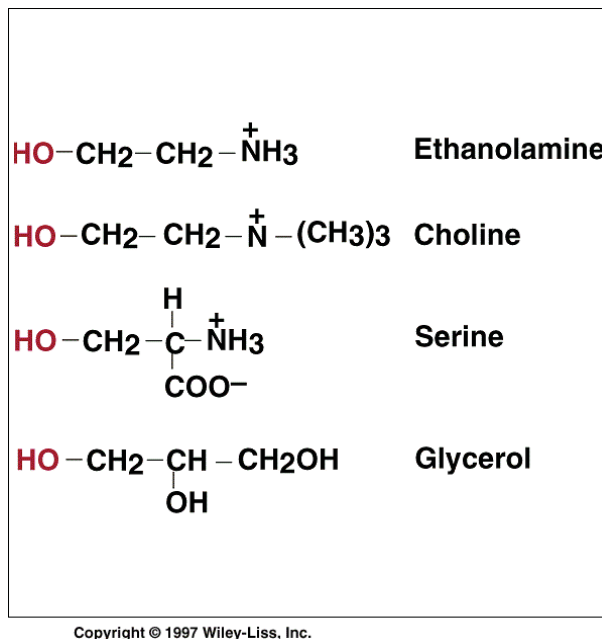


Figura 1: Estrutura química da etanolamina, colina, serina e glicerol (DEVLIN, 2000).

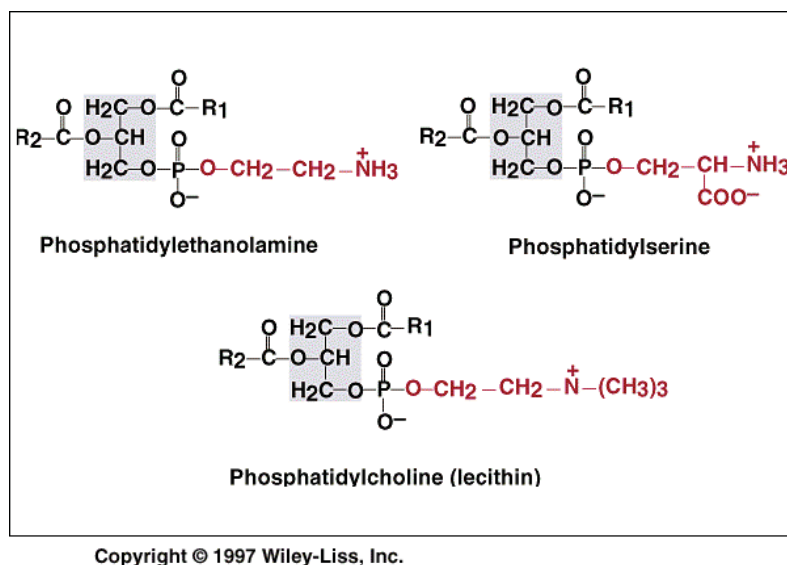


Figura 2: Estrutura química da fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilcolina ou lecitina (DEVLIN, 2000).

4.1. *Biossíntese de fosfatidilcolina*

Segundo Devlin (2000) a principal via para biossíntese de fosfatidilcolina (lecitina) envolve a conversão sequencial de colina em fosfocolina, citidina-difosfato (CDP)-colina e fosfatidilcolina, a qual será descrita a seguir. Nessa via, o grupo da cabeça polar da fosfocolina é ativado usando citidina trifosfato (CTP), de acordo com as seguintes reações: a colina livre, uma necessidade dietética da maioria dos mamíferos, incluindo o homem, é primeiro fosforilada por ATP, pela colina quinase. A fosfocolina é convertida em CDP-colina, às custas de CTP, na reação catalisada por fosfocolina citidililtransferase. A ligação pirofosforil de alta energia da CDP-colina é instável e reativa, de modo que a porção fosfocolina pode ser transferida facilmente para o centro nucleofílico fornecido pelo grupo OH da posição 3 do 1,2-diacilglicerol, pela colina fosfotransferase.

A etapa limitante da velocidade da biossíntese de fosfatidilcolina é a reação da citidililtransferase, que forma CDP-colina. Essa enzima é regulada por mecanismo notável, envolvendo a troca de enzima entre o citosol e o retículo endoplasmático. A forma citosólica da citidililtransferase é inativa e parece funcionar como reservatório da enzima; a ligação da enzima à membrana resulta em ativação. O deslocamento da citidililtransferase do citosol para o retículo endoplasmático é regulado por cAMP e acil graxo-CoA. Fosforilação reversível da enzima por uma quinase dependente de cAMP faz com que ela seja liberada da membrana, ficando inativa. Subsequente

desfosforilação fará a citidililtransferase se ligar novamente à membrana e se tornar ativa. Acil graxo-CoAs ativam a enzima por promoverem sua ligação ao retículo endoplasmático (Figura 3). Somente no fígado, fosfatidilcolina é formada por metilação repetida de fosfatidiletanolamina. Fosfatidiletanolamina *N*-metiltransferase do retículo endoplasmático catalisa a transferência de grupos metil, um de cada vez, de *S*-adenosilmetionina (AdoMet) para fosfatidiletanolamina, produzindo fosfatidilcolina. Não se sabe se uma ou mais enzimas estão envolvidas nessas transferências de metil.

Segundo trabalhos de Kanazawa et al. (1985) e Poston (1990a), entre os fosfolipídeos, o que demonstra melhor efeito de crescimento é a fosfatidilcolina. Já Takeuchi et al. (1992) e Kanazawa (1993) demonstraram que a fosfatidiletanolamina tem efeito pior em relação aos demais fosfolipídeos. Igualmente para Camara et al. (1997), a inclusão de fosfatidilcolina na dieta, na forma pura, fez com que os camarões atingissem a fase de larva, tendo melhor desempenho, do que os animais alimentados com outras fontes de fosfatidilcolina.

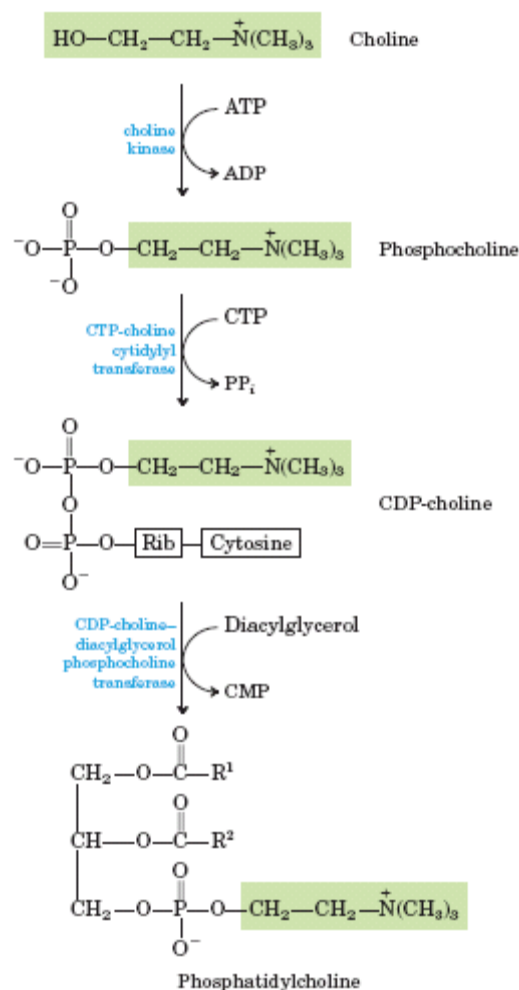


Figura 3: Biossíntese de fosfatidilcolina (NELSON; COX, 2000).

Os fosfolipídeos têm função detergente (emulsificante) nos lipídeos, especialmente a fosfatidilcolina, desempenham papel importante na bile, pois atuam na solubilização do colesterol. Um problema na produção de fosfolipídeos e em sua secreção na bile pode resultar em formação de cálculos de colesterol e de pigmentos biliares. Fosfoinositol e fosfatidilcolina também funcionam como fonte de ácido araquidônico para síntese de prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e compostos relacionados (DEVLIN, 2000).

Segundo Devlin (op. cit.) os lipídeos são importantes componentes das membranas, sendo os três principais: glicerofosfolipídeos, esfingolipídeos e colesterol. Os glicerofosfolipídeos (fosfoglicerídeos) são os lipídeos mais abundantes nas membranas. Estes têm uma molécula de glicerol com um fosfato esterificado no carbono alfa e dois ácidos graxos de cadeia longa, esterificados nos átomos de carbono remanescentes. Glicerol não tem carbono assimétrico, mas os átomos de carbono alfa não são estequiometricamente idênticos. A esterificação de fosfato a um carbono alfa torna a molécula assimétrica. Os glicerofosfolipídeos de ocorrência natural são designados pelo sistema de numeração estereoespecífica (*sn*).

O 1,2-diacylglicerol 3-fosfato ou ácido fosfatídico é o composto que dá origem a uma série de glicerofosfolipídeos onde diferentes compostos contendo hidroxilas, alguns dos quais polares, são esterificados ao fosfato. Os principais compostos ligados por uma ponte fosfodiéster ao glicerol são colina, etanolamina, serina, glicerol e inositol. Fosfatidiletanolamina ou cefalina e fosfatidilcolina (colina glicerofosfolipídeos ou lecitina) são os glicerofosfolipídeos mais comuns em membranas (DEVLIN, op. cit.).

Observa-se que a colina apresenta respostas importantes para saúde e desenvolvimento animal. Isso pode ser evidenciado em diversas pesquisas com peixes e outros animais. O fornecimento insuficiente de colina pode acarretar acúmulo de gordura no fígado e outras disfunções orgânicas (OSOL et al. 1982). Isso foi evidenciado por Ogino et al. (1970), sendo que a deficiência de colina em carpa comum não alterou o crescimento, mas demonstrou aumento de 10,0% na concentração de lipídeo no fígado. Diferentemente, Wu et al. (2011) determinaram que 566,0 mg colina/kg de dieta semi purificada foi suficiente para melhorar o desempenho de juvenis de carpa Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian).

Segundo Woodward (1994), a exigência nutricional de colina para salmonídeos pode variar de 430,0 a 4050,0 mg/kg e em Esturção branco varia de 1700,0 a 3200,0 mg/kg. Entretanto, o autor cita que essas exigências devem ser melhor estudadas já que a exigência de colina está ligada a várias outras vitaminas e metionina.

Conhecendo-se os processos de liberação de radicais metil pela colina, para reações de metilação, com formação da metionina e vice versa, Wilson e Poe (1988) constataram que a exigência de metionina para o bagre do canal pode ser menor quando se utiliza colina. Em estudo conduzido por estes autores observou-se que a suplementação de 0,39% de metionina e 400,0 mg de colina/kg de ração determinou melhores resultados de desempenho produtivo, comparando-se aos demais tratamentos (0,39% metionina + 0,0; 200,0; 800,0; 1200,0; 1600 mg colina/kg dieta, e (0,59; 0,79; 0,99% metionina). Foi observado ainda que a medida que o nível de colina iria aumentando a concentração de lipídeos no fígado diminuía. Resultados similares foram observados em carpas por Ogino et al. (1970) e em “Red drum” por Craig e Gatlin III (1997). Igualmente, Graciano et al. (2010) observaram menores concentrações de lipídeos hepáticos quando suplementaram colina nas dietas de tilápia-do-Nilo, entretanto não houve diferença significativa para o desempenho produtivo.

Shils et al. (2003), enfatizaram que a metionina pode substituir a colina somente quando a fosfatidiletanolamina-*N*-metiltransferase for totalmente ativa. Desta forma, Mai et al. (2009), trabalhando com juvenis de “Cobia”, avaliaram níveis de colina para essa espécie, entretanto a dieta utilizada continha 1,05% de metionina, nível este, aquém da exigência de 1,19% exigido pela espécie, e os melhores resultados determinados foram entre 696,0 a 950,0 mg colina/kg de dieta.

Já, para camarões (*Marsupenaeus japonicus*), Teshima et al. (1993) avaliaram que a exigência de colina varia de 0,06% até 0,30% da dieta. Em estudo realizado por Michael et al. (2006) com juvenis de camarão, compararam o efeito da colina e metionina como doador de radical metil, e observou-se que quando a metionina esta deficiente na dieta, os animais alimentados com 0,12% de cloreto de colina, equipararam em ganho de peso e sobrevivência com os animais alimentados com dietas suplementadas com 1,5% de metionina e 0,06% de cloreto de colina. Ressaltaram os autores que, quando a dieta esta deficiente de metionina é preciso maior teor de colina para suprir a exigência de radicais metil e, conseqüentemente, deste aminoácido. Resultados similares foram encontrados por esses mesmos autores (2011), para essa mesma espécie, quando avaliou-se a interação entre metionina (Met) 0,0 e 15,0 g/kg de dieta e cloreto de colina (CC) 0,0; 0,6 e 1,2 g/kg de dieta, sendo que a dieta basal foi deficiente deste aminoácido. Os melhores resultados obtidos foram: 0,0 g Met e 1,2 g CC ou 15 g Met e 0,6 g CC. Pode-se concluir que quando há deficiência de Met a exigência de CC aumenta. Michael et al. (2007)

avaliaram as interações entre fontes de colina (cloreto de colina (CC) 0,6 e 1,2 g/kg de dieta e fosfatidilcolina (SPC) 20,0 e 40,0 g/kg de dieta) para pós-larvas de camarão (*Marsupenaeus japonicus*) e concluíram que ambas são essenciais ao desenvolvimento do animal, sendo que 40 g SPC/kg de dieta, independentemente do nível de CC, promoveu melhores respostas de desempenho.

Craig e Gatlin III (1996) determinaram que para “Red drum” a exigência de colina varia de 330,0 a 676,0 mg/kg. Griffin et al. (1994) demonstraram que o híbrido do “Striped bass” teve melhor desempenho quando alimentado com dietas suplementadas com 500,0 mg de cloreto de colina/kg de ração.

Estudos foram desenvolvidos para determinar a exigência de colina para tilápia-do-Nilo. Viera et al. (2001) determinaram que 375,0 mg de cloreto de colina/kg de ração, foi suficiente para atender as exigências de alevinos de tilápias-do-Nilo. Neste trabalho foi demonstrado ainda que o uso de betaína não determinou o mesmo desempenho dos animais alimentados com dietas com colina, com isso não foi possível sua substituição. Resultados semelhantes foram encontrados por Rumsey (1991). Mas segundo Kasper et al. (2002) para tilápia, a betaína pode substituir a colina sem prejudicar o crescimento. Nesse estudo o melhor resultado se deu utilizando a proporção de 10:90, colina e betaína, respectivamente, sendo 300,0 mg de colina/kg de ração e 2,24 gramas de betaína/kg de ração.

Já, em estudo realizado por Kasper et al. (2000), avaliou-se a interação de metionina e colina para tilápia, cujo o melhor resultado de ganho de peso e sobrevivência foi utilizando 0,5% de aminoácidos sulfurados totais (AAS) e 3,0 g de colina/kg de ração, porém quando utilizou-se 0,5% de AAS e 4,0 g de colina/kg de ração, houve piora no crescimento e aumento na mortalidade. Isso possivelmente aconteceu, pois o nível de 4,0 g de colina/kg de dieta pode estar próximo do que se considera letal. Foi possível ainda concluir que o uso de colina é necessário somente caso o metionina não esteja em excesso. Segundo Shiau e Lo (2000), os juvenis do híbrido de tilápias tiveram melhor desempenho quando alimentados com dietas contendo 880,0 a 920,0 mg/kg de colina na ração. Resultados semelhantes foram descritos por Fernandes Junior et al. (2010b), que determinaram melhor estado de saúde do fígado de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 800,0 mg de colina/kg de dieta.

Foi demonstrado por Poston (1991a) que larvas de truta arco-íris arraçadas com dietas suplementadas com colina, apresentaram melhor crescimento em comparação às larvas arraçadas com rações não suplementadas. O mesmo foi

observado por Rumsey (1991), quando alevinos da mesma espécie com 1,4 gramas revelaram exigência de colina de 813,0 mg/kg de dieta e peixes com 3,2 g de 774,0 mg/kg de dieta. Segundo Twibell e Brown (2000), a colina é essencial quando as concentrações de aminoácidos sulfurados não estão em excesso em relação à exigência. Tal fato também foi confirmado por Kasper et al. (2000).

De acordo com Twibell e Brown (2000), a exigência de colina para juvenis de "Yellow perch" (*Perca flavescens*) com 16,0 g varia de 598,0 a 634,0 mg de colina/kg de dieta e a melhor fonte foi o cloreto de colina. A exigência de colina para os peixes varia de 50,0 mg/kg de ração para juvenis de truta arco-íris (POSTON, 1991b) até 3400,0 mg/kg de ração para Esturjão branco (HUNG, 1989). Hung e Lutes (1988), trabalhando com o esturjão branco, utilizou lecitina de soja e cloreto de colina como fonte de colina em dietas purificadas, e os melhores resultados foram 800,0 mg de cloreto de colina/kg de dieta e 8,0 g de lecitina de soja/kg de ração, entretanto os autores indicam a utilização do cloreto de colina.

Poston (1990b) trabalhando com salmão do Atlântico concluiu que a utilização de lecitina para peixes de 7,5 g não é eficaz no desempenho produtivo, porém quando adicionado na dieta, juntamente com a colina, para peixes com 0,18; 1,0 e 1,7 g determina melhores desempenhos. Com essa mesma espécie Poston (1991c), determinou que a interação de lecitina e colina melhoraram o desempenho, e os melhores níveis foram 6,0% de lecitina e 0,3% de colina na dieta, podendo então utilizar a lecitina sem afetar no desempenho. Já Hung et al. (1997) constataram para larvas de salmão do Atlântico que o uso de 880,0 mg de colina/kg de ração e a inclusão de 30,0 g/kg de lecitina, melhoraram a digestibilidade dos nutrientes, obtendo resultados satisfatórios. Resultados semelhantes foram encontrados para essa mesma espécie, truta arco Iris e "Red drum". (HUNG et al. 1997; POSTON, 1991b; CRAIG; GATLIN III, 1997). Entretanto, Sealey et al. (2001) trabalhando com o híbrido striped bass, não encontraram resultados satisfatórios utilizando lecitina e colesterol.

Estudos mostram que a vitamina B₁₂ e o ácido fólico reduzem a exigência de colina em frangos e ratos (WELCH; COUCH, 1955), sendo estas necessárias para síntese de grupo metil. Isso pôde ser comprovado no trabalho realizado por Ryu et al. (1997), em que aves de postura alimentadas com rações à base de farelo de soja e milho, contendo 23,0% de PB e 750,0 mg/kg de colina contida nos ingredientes, não apresentaram sinais de deficiência, mas quando ocorreu a adição de 500,0 mg de colina/kg de ração, totalizando 1250,0 mg/kg, pode-se diminuir a exigência do ácido fólico de 1,3 mg/kg para 1,2 mg/kg.

Para suínos jovens, estudos mostram que a suplementação de colina traz benefícios e para animais adultos foi observado que o uso de colina aumenta o número da leitegada e faz com que as fêmeas permaneçam por mais tempo em reprodução (CUNHA, 1977). Matthews et al. (1998) trabalhando com suínos em terminação usou a betaína como ingrediente na ração 0,125% na dieta e constatou que essa não melhorou aos índices zootécnicos, a não ser no rendimento de carcaça. Em pesquisa realizada com leitões a utilização de citrato de colina melhorou perfil hematológico, comparado com o uso de metionina e sulfato (LOVETT et al. 1986). Russett et al. (1979) testou a interação de metionina e colina em dietas para leitões, e sugeriu que a suplementação de colina deverá ser feita somente quando a dieta estiver com 11,0% de proteína, 0,13 % de cistina (dieta semi-purificada) e quando estiver somente 0,32% de metionina na dieta.

Em leitões, pesquisas demonstraram que a interação de metionina, treonina e colina, com 0,42%; 0,63%; e 1646,0 mg/kg de dieta, respectivamente, apresentaram resultados semelhantes a esses mesmos níveis, só que isento de colina. Somente houve ganho de desempenho com a suplementação de colina quando a quantidade de metionina estava insuficiente na dieta. Isso também foi observado em ratos; esses animais quando alimentados com dietas isentas da suplementação de colina apresentaram teor de gordura no fígado maior em relação aos alimentados com dietas suplementadas com 16,0 e 9,2%, respectivamente (KROENING et al. 1967).

Para gatos jovens o uso de 0,10% de colina determinou desempenho semelhante a 0,37% de metionina. Isso indica que a metionina é capaz de sintetizar colina. Entretanto, quando foi adicionado AMP, inibidor de síntese de colina, o uso de colina determinou resultado melhor em relação à metionina e beneficiou a concentração de gordura no fígado, 19,6 e 25,3% respectivamente, sendo que os animais alimentados com 0,1% obtiveram ótimo crescimento. Porém gatos alimentados com dietas com 0,3% de colina tiveram menor teor de gordura no fígado em relação ao nível de 0,1% de colina (ANDERSON et al. 1979). Em coelhos a exigência de colina está em torno de 0,13% na dieta para crescimento, prevenção de cirrose no fígado e necrose dos rins (HOVE et al. 1954).

5. Nutrição e saúde de peixes

A produção de peixes no Brasil vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, ocupando cada vez mais espaço no mercado, principalmente em função da

intensificação dos sistemas de produção (produção de peixes em tanques-rede), indústrias de ração e comunidade científica (nutricionistas). Atualmente buscam-se métodos de criação cada vez mais intensivos, cuja finalidade é a de maior produção por unidade de área. Na década de 80 a produção era fundamentada exclusivamente no rápido crescimento do animal, assim como as determinações de exigência nutricionais para peixes, que avaliam a quantidade mínima de um nutriente ou energia que proporcionam melhor resposta de desempenho. Entretanto nas atuais condições de cultivo não é suficiente para manter a produtividade sem afetar o meio e a resistência orgânica dos peixes, gerando impactos ambientais e econômicos para toda a cadeia produtiva.

Com base nisso, um novo conceito de formulação e balanceamento de rações vem se estabelecendo, voltando-se à nutrição, saúde e responsabilidade ambiental. Para tal, as pesquisas científicas buscam determinar exigências de nutrientes que não somente melhoram o desempenho, mas também a higidez dos peixes. Uma ferramenta que vem auxiliando o entendimento da nutrição é a hematologia (reflete o estado de saúde do animal naquele momento), que ajuda a determinar e minimizar os efeitos do estresse, mantendo o equilíbrio orgânico frente a situações adversas do sistema de produção.

Em um sistema de produção intensivo de peixes existem muitos fatores estressores. Dentre ele destacam-se a temperatura da água, que pode sofrer alterações abruptas, principalmente durante épocas de inverno e verão, altas densidades de estocagem e ainda os diferentes manejos exigidos neste sistema como classificação, despesca e transporte. De modo geral os animais quando bem nutridos podem suportar o estresse por um período finito sem afetar a saúde, porém há diminuição do crescimento e da reprodução para manutenção da homeostase. Entretanto quando o período é prolongado à condição geral de saúde dos animais é prejudicada (BARTON; IWAMA, 1991).

Vários trabalhos têm como enfoque a higidez dos peixes utilizando como ferramenta, a hematologia, entre eles Falcon et al. (2007); Falcon et al. (2008); Barros et al. (2009); Fernandes Junior et al. (2010a); Signor et al. (2010b); Araújo et al. (2011); Lim et al. (2011) e Teixeira et al. (2011) entre outros. Por meio dos parâmetros hematológicos buscam-se confirmar respostas obtidas pelo desempenho produtivo e ou demonstrar que os níveis que proporcionaram melhor desempenho, nem sempre são os que promovem melhor higidez ou preparam os animais para o enfrentamento aos agentes estressores.

Desta forma, o estado nutricional do animal em situações de estresse é consequência direta e indireta da quantidade e qualidade dos nutrientes presentes e disponíveis na ração. Assim, dietas que influenciem positivamente a saúde e resistência orgânica dos peixes vêm sendo desenvolvidas, com a utilização de probióticos e componentes que melhoram a imunidade dos peixes, como vitamina C.

Os principais fatores estressores são encontrados no sistema intensivo de produção (tanques-rede) como descrito anteriormente, sendo necessário simular experimentos no campo, de forma observar respostas concretas de desempenho e o estado de saúde dos animais, porém trabalhos como estes são caros e há dificuldades de montar estruturas experimentais e laboratórios para essas análises, entretanto é o caminho para compreender melhor as respostas fisiológicas dos peixes.

6. Estresse Animal

Os peixes por serem animais pecilotérmicos e estarem em contato com o ambiente aquático enfrentam constantes desafios, como aspectos físico-químicos da água e conflitos de dominância entre os animais do cardume ou da população (WEDEMEYER, 1996). Na aquacultura, os desafios naturais se somam àqueles impostos pela atividade, como, por exemplo, práticas de manejo, transporte, classificação, tratamentos e altas densidades de estocagem.

Segundo Wendeelar-Bonga (1997), o estresse pode ser definido como a condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, homeostase, é ameaçado ou perturbado em decorrência da ação de estímulos intrínsecos denominados estressores. A ação dos estressores é dupla e produzem efeitos que ameaçam ou perturbam o equilíbrio homeostático e provocam respostas comportamentais e fisiológicas, como ação compensatória e/ou adaptativa, habilitando o animal para superar as ameaças.

No ambiente, a resposta ao estresse pode ser vista como a capacidade dos peixes mobilizarem as reservas de energia de forma a evitar ou vencer imediatamente situações de ameaça. Em piscicultura intensiva, a situação de estresse está implícita e pode afetar o desempenho produtivo dos peixes, prejudicando o estado de saúde e aumentando a suscetibilidade a doenças (CARMICHAEL, 1984).

O estresse fisiológico segue com o desencadeamento da Síndrome de Adaptação Geral (SAG), dividida em três respostas: primária, secundária e terciária (MOYLE; CECH, 1998). A resposta neuroendócrina, ou primária, é caracterizada por

significativo aumento dos hormônios corticosteróides (cortisol) e da concentração de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), enquanto a resposta secundária é usualmente definida como a canalização das ações e dos efeitos imediatos desses hormônios em nível sanguíneo e de tecidos, estimulando a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, diminuindo a proteína muscular, aumento do batimento cardíaco, causando distúrbios osmorregulatórios e piora do perfil hematológico. Os corticosteróides estimulam o aumento da permeabilidade da membrana celular. A resposta terciária é marcada pela diminuição da resistência dos peixes às doenças, pois ocorre diminuição no número de leucócitos (leucopenia); linfócitos (linfopenia) e aumento do número de neutrófilos circulantes (neutrofilia) (MAZEUAUD et al. 1977). Respostas semelhantes foram obtidas para tilápia-do-Nilo sob condições de estresse por Falcon et al. (2008), Fernandes Junior et al. (2010) Araújo et al. (2011).

Segundo Pickering (1993), o eixo hipotalâmico-pituitária-interrenal (HPI) é estimulado em resposta à maioria, se não todas formas de estresse. O efeito catabólico do cortisol em estresse crônico é responsável pela supressão do crescimento. Isto pode ser evidenciado em trabalhos com o uso de cortisol em peixes sob condições normais. A elevação crônica do cortisol também é responsável pelo aumento da suscetibilidade a doenças e da interrupção dos processos reprodutivos (STRANGE et al. 1977). Porém, as taxas de crescimento continuam a ser afetadas em peixes estressados, com níveis de cortisol no plasma, recuperados. Então, supõe-se que outros componentes do sistema endócrino estejam envolvidos no crescimento. Alguns estudos têm demonstrado que o cortisol pode estimular a liberação do hormônio do crescimento (GH) em tilápia (PICKERING, 1993).

O GH aumenta o apetite e a eficiência na conversão do alimento, porém, a secreção deste hormônio pela glândula pituitária é inibida em peixes sob condições de estresse (HEW, 1989). Trabalhos apontam que o nível de corticosteróides em resposta ao estresse pode variar entre peixes, mesmo dentro da mesma espécie. Assim, pode existir peixes que respondam com nível consideravelmente alto de cortisol, e peixes que respondem mais discretamente, ambos apresentando desempenho similar e sendo da mesma população (WEIL et al. 2001). O estresse pode inibir o crescimento, diminuindo os níveis plasmáticos dos hormônios tireoidianos T_3 e T_4 , em função da alteração do estado nutricional causada pela redução na quantidade de alimento ingerida, sendo também observada influência do cortisol neste processo (CARNEIRO; URBINATI, 1999).

O cortisol plasmático é o indicador de estresse mais utilizado em peixes, qualquer que seja o seu estágio de desenvolvimento (WEENDELAR BONGA, 1997). Concentrações de cortisol plasmático em diferentes espécies de peixes normalmente se elevam alguns minutos após a exposição ao agente estressor agudo moderado, atingem o pico e retornam a valores basais dentro de, aproximadamente, seis horas (PICKERING; POTTINGER, 1989). Tipos diversos de estressores, tais como exposição brusca a metais pesados, rápidas mudanças de temperatura, manejo e confronto com predadores, podem ser classificados como estressores agudos, os quais induzem a curva de cortisol plasmático similar (Brown, 1993). Quando o estressor é crônico, concentrações de cortisol podem permanecer elevadas, embora bem abaixo dos níveis de pico (WENDEELAR-BONGA, 1997).

Com base no exposto, o estudo propõe determinar os níveis de proteína e energia digestíveis e colina para tilápias do Nilo, avaliando desempenho produtivo, respostas fisiológicas antes e após o estresse em laboratório e sistema intensivo de tanques-rede, e ainda, avaliação econômica da dieta em sistema intensivo. Desta forma, apresentam-se dois estudos que serão expostos no capítulo II e III.

O capítulo II, intitulado “**Proteína e energia digestíveis e colina para tilápia-do-Nilo: desempenho e respostas fisiológicas antes e após estresse térmico**” teve por objetivo avaliar em condições laboratoriais o desempenho produtivo e resposta fisiológicas antes e após o estresse térmico de tilápia-do-Nilo alimentada com níveis de proteína digestível, energia digestível e colina. A redação deste capítulo foi realizada de acordo com as normas de publicação da *Aquaculture Research*.

O capítulo III, intitulado “**Desempenho produtivo e respostas fisiológicas das tilápias-do-Nilo alimentadas com níveis de proteína e energia digestíveis e colina criadas em tanques-rede e submetidas a estresse por classificação**” teve por objetivo avaliar em sistema intensivo de tanques-rede o desempenho produtivo e respostas fisiológicas antes e após o estresse por classificação e quebra de dominância da tilápia-do-Nilo alimentada com níveis de proteína digestível, energia digestível e colina. A redação deste capítulo foi realizada de acordo com as normas de publicação da *Aquaculture*.

7. Referências Bibliográficas

- ABDEL-TAWWAB, M. et al. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 298, p. 267–274, 2010.
- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles – fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 1-9, 2007.
- ABURTO, A.; VAZQUEZ, M.; DALE, N. M. Strategies for Utilizing Overprocessed Soybean Meal: I. Amino Acid Supplementation, Choline Content, and Metabolizable Energy, **Journal Applied Poultry**, Athens, v. 7, p. 189-195, 1998.
- AI, Q. et al. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 230, p. 507-516, 2004.
- ALAM, M. S. et al. Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance and body composition of black sea bass *Centropristis striata* during grow-out in a pilot-scale marine recirculation system. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, p. 442-449, 2009.
- ALANÄRÄ, A. The effect of temperature, dietary energy content and reward level on the demand feeding activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 126, p. 349-359, 1994.
- AL-HAFEDH, Y. S. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v.30, p.385-393, 1999.
- ALI, M. Z.; JAUNCEY, K. Approaches to optimizing dietary protein to energy ratio for African catfish *Clarias gariepinus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.11, p. 95-101, 2005.
- ALIYU-PAIKO, M. et al. Influence of different sources and levels of dietary protein and lipid on the growth, feed efficiency, muscle composition and fatty acid profile of snakehead *Channa striatus* fingerling. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, p. 1365-1376, 2010.
- ALLAN, G. L. et al. Estimating digestible protein requirements of silver perch, *Bidyanus bidyanus* Mitchell. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, p. 337-347, 2001.

- ALLAN, G. L.; BOOTH, M. A. The effects of dietary digestible protein and digestible energy content on protein retention efficiency of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, p. 970-980, 2004.
- AKPINAR, Z. et al. Dietary protein requirement of juvenile shi drum, *Umbrina cirrosa*, **Aquaculture Research**, Oxford, doi: 10.1111/j.1365.2011.02845.x, 2011.
- ANDERSON, P. A. et al. Choline-Methionine Interrelationship in Feline Nutrition. **Journal Animal Science**, Ottawa, v. 49, n° 2, p. 522-527, 1979.
- ARAÚJO, D. M. et al. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.3, p.294-302, 2011.
- ARZEL, J. et al. The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 130, p. 67-78, 1995.
- AUSTRENG, E.; STOREBAKKEN, T.; ASGARD, T. Growth rate estimates for cultured Atlantic salmon and rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 60, p. 157 – 160, 1987.
- BAILEY, J.; ALANÄRÄ, A. Digestible energy need (DEN) of selected farmed fish species. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 251, p. 438-455, 2006.
- BALARIN J. D.; HALLER R. D. The intensive culture of tilapia in tanks, raceways and cages. In: **Recent Advances in Aquaculture** (ed. by J.F. Muir & R.J. Roberts), pp. 265 - 356. Croom Helm, London. 1982.
- BARROS, M. M. et al. Hematological response and growth performance of Nile tilapia fed diets containing folic acid. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 895-903, 2009.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of cortivosteroids. **Annual Review Fish Diseases**, v.1, p.3-26, 1991.
- BECHARA, J. A. et al. The effect of dietary protein level on pond water quality and feed utilization efficiency of pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 546-553, 2005.
- BERMUDES, M. et al. The effects of temperature and size on the growth, energy budget and waste outputs of barramundi (*Lates calcarifer*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 306, p. 160-166, 2010.
- BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p. 213-222, 2010.

- BONFIM, M. A. D. et al. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p.1713-1720, 2008.
- BOOTH, M. A.; ALLAN, G. L.; PIROZZI, I. Estimation of digestible protein and energy requirements of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* using a factorial approach. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 307, p. 247-259, 2010.
- BORBA, M. R.; FRACALOSSO, D. M.; PEZZATO, L. E. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbinyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.12, p. 183-191, 2006.
- BOSCOLO, W. R. et al. A. Energia Digestível para Larvas de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) na Fase de Reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.6, p.1813-1818, 2005.
- BOTARO, D. et al. Redução da proteína, com base no conceito de proteína ideal, para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), criada em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p.517-525, 2007.
- BOUJARD, T. et al. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilization in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, p. 529-545, 2004.
- BRETT, J. R.; GROVES, T. D. D. Physiological energetics. In: HOAR, W. S.; ANDALL, D. J.; BRETT, J. R. (Eds.). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, v.3, p.279-352, 1979.
- BRITZ, P. J.; HECHT, T. Effect of dietary protein and energy level on growth and body composition of South African abalone, *Haliotis midae*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 156, p. 195-210, 1997.
- BROWN J. Endocrine responses to environmental pollutants. In: RANKIN J, JENSEN F (Ed.). **Fish ecophysiology**. London: Chapman & Hall, p.276-296, 1993.
- CAMARA, M. R. Dietary phosphatidylcholine requirements in larval and postlarval *Penaeus japonicus* Bate. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, vol 3, p. 39 – 47, 1997.
- CARMICHAEL G. J. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. **The Progress Fish Culture**, v.46, p.11-115, 1984.
- CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. “Stress” e crescimento de peixes em piscicultura intensiva. In: **III SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES**, Campinas. Anais. Campinas: CBNA, p.25-40, 1999.

- CATACUTAN, M. R.; COLOSO, R. M. Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 131, p. 125-133, 1995.
- CATACUTAN, M. R.; PAGADOR, G. E.; TESHIMA, S. Effect of dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios on growth, survival and body composition of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, p. 811-818, 2001.
- CATACUTAN, M. R. Growth and body composition of juvenile mud crab, *Scylla serrata*, fed different dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 208, p. 113-123, 2002.
- CHANCE, R. E.; MERTZ, E. T.; HALVER J. E. Nutrition of salmonid fishes, XII. Isoleucine, Leucine, Valine and Phenylalanine requirements of Chinook salmon and interrelations between isoleucine and leucine for growth. **Journal of Nutrition**, Bethesda v. 83, p. 177-185, 1964.
- CHO, C. Y. Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 100, p. 107-123, 1992.
- CHO, C. Y.; COWEY, C. B.; WATANABE, T. eds. **Finfish Nutrition in Asia. Methodological Approaches to Research and Development**. Ottawa, Canada: IDRC. 1985.
- CHO, S. H. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L) reared under optimum salinity and temperature conditions. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, p. 235-240, 2005.
- CHONG, A. S. C.; HASHIM, R.; ALI, A. B. Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon spp*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, p. 275-278, 2000.
- COLDEBELLA, I. J. et al. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 312, p.137–144, 2011.
- COMPANY, R. et al. Growth performance and adiposity in gilthead seabream (*Sparus aurata*): risks and benefits of high energy diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 171, p. 279-292, 1999.
- COOTE, T. A. et al. Optimal protein level in a semipurified diet for juvenile greenlip abalone *Haliotis laevis*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, p. 213-220, 2000.

- CORTÉS-JACINTO, E. et al. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth and survival of juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, p. 283-291, 2005.
- CRAIG, S. R.; GATLIN, D. M. III Dietary Choline Requirements of Juvenile Red Drum (*Sciaenops ocellatus*). **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 126, n. 6, p. 1696 – 1700, 1996.
- CRAIG, S. R.; GATLIN, D. M. III. Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, p. 259-267, 1997.
- CUNHA, T. J. **Swine Feeding and Nutrition**. Acad. Press, New York, 1977.
- DE LONG, D. C.; HALVER, J. E.; MERTZ, E. T. Nutrition of salmonid fishes.VI: Protein requirements of Chinook salmon at two water temperatures. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 65, p. 589-599, 1958.
- DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. **Fish nutrition in Aquaculture**. Fish and Fisheries Series n.01, Ed. Chapman & Hall, London, p. 330, 1995.
- DENG, D. et al. Optimal dietary protein levels for juvenile Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*) fed diets with two levels of lipid, **Aquaculture**, Amsterdam, v. 316, p. 25-30, 2011.
- DEVLIN, T. M. **Manual de Bioquímica com Correlações Químicas**. Edgard Blucher, São Paulo, 2000.
- DIAS, J. et al. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile european seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, p. 169-186, 1998.
- DU, Z. Y. et al. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, p. 139-146, 2005.
- EL-DAKAR, A. Y.; SHALABY, S. M.; SAOUD, I. P. Dietary protein requirement of juvenile marbled spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 42, p. 1050-1055, 2011.
- EL-SAYED, A. M.; KAWANNA, M. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 280, p.179–184, 2008.
- EL-SAYED, A. M.; TESHIMA, S. Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 103, p. 55-63, 1992.

- EL-SAYED, D. M. S. D.; GABER, M. M. A. Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), cultured in concrete tanks. **Aquaculture Research**, Oxford, v.36, p.163-171, 2005.
- FALCON, D. R. et al. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C and lipid diets and submitted to low temperature stress. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 38, p. 287-295, 2007.
- FALCON, D. R. et al. Leucograma da tilápia-do-nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina c e lipídeo submetidas a estresse por baixa temperatura. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v.9, n.3, p.543-551, 2008.
- FERNANDES JUNIOR, A. C. et al. Resposta hemática da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com níveis crescentes de colina e submetida a estímulo por baixa temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1619-1625, 2010a.
- FERNANDES JUNIOR, A. C. et al. Desempenho produtivo de tilápia-do-Nilo alimentada com níveis de colina na dieta. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, p. 163/10.4025-167, 2010b.
- FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, Viçosa, 2000.
- FIGUEIREDO-SILVA, A. C. et al. Dietary protein/lipid level and protein source effects on growth, tissue composition and lipid metabolism of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p.173-187, 2010.
- FIOGBÉ, E. D. et al. The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 144, p. 239-249, 1996.
- FRASER, T. W. K.; DAVIES, S. J. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): a review. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, p. 1219-1234, 2009.
- FREATO, T. A. et al. Desempenho produtivo de linhagens de tilápia-do-Nilo cultivadas em tanques-rede e submetidas a diferentes planos nutricionais. In: **46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Maringá-PR. Anais, 2009.

- FURUYA, W. M. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.1912-1917, 2000.
- FURUYA, W. M. et al. Exigência de metionina + citina pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase juvenil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.6, p. 1933-1937, 2004.
- FURUYA, W. M. et al. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, p. 1433-1441, 2005.
- GAYLORD, T. G.; GATLIN III, D. M. Dietary protein and energy modifications to maximize compensatory growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 194, p. 337-348, 2001.
- GLENCROSS, B. D. A factorial growth and feed utilization model for barramundi, *Lates calcarifer* based on Australian production conditions. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.14, p. 360-373, 2008.
- GLENCROSS, B. et al. A factorial approach to defining the energy and protein requirements of Tra catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.17, p. 396-405, 2011.
- GLENCROSS, B. D.; BERMUDEZ, M. Adapting bioenergetic factorial modeling to understand the implications of heat stress on barramundi (*Lates calcarifer*) growth, feed utilization and optimal protein and energy requirements – potential strategies for dealing with climate change? **Aquaculture Nutrition**, Oxford, doi: 10.1111/j.1365-2095.2011.00913.x, 2011.
- GÓMEZ-MONTES, L. et al. Effect of dietary protein:energy ratio on intake, growth and metabolism juvenile green abalone *Haliotis fulgens*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 220, p. 769-780, 2003.
- GONÇALVES, G. S. et al. Níveis de proteína digestível para tilápia-do-Nilo em tanques rede. In: **46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Maringá-PR. Anais. 2009.
- GRACIANO, T. S. et al. Desempenho e morfologia hepática de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas suplementadas com metionina e colina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.7, p.737-743, 2010.
- GRAEFF, A.; PRUNER, E. N. Efeito de diferentes níveis de proteína bruta em rações para crescimento de carpas (*Ciprinus carpio*) em duas densidades. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 894-902, 2003.

- GREEN, A. J.; JONES, C. L. W.; BRITZ, P. J. The protein and energy requirements of farmed South African abalone *Haliotis midae* L. cultured at optimal and elevated water temperatures. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 42, p. 1653-1663, 2011.
- GRIFFIN, M. E. et al. Dietary Choline Requirements of Juvenile Hybrid Striped Bass. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 124, n. 9, p. 1685 – 1689, 1994.
- GUERREIRO, I. et al. Effect of temperature and dietary protein/lipid ratio on growth performance and nutrient utilization of juvenile senegalese sole (*Solea senegalensis*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, doi: 10.1111/j.1365-2095.2011.00884.x, 2011.
- HAJRA, A.; GHOSH, A.; MANDAL, S. K. Biochemical studies on determination of optimum dietary protein to energy ratio for tiger prawn, *Penaeus monodon*, Juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 71, p. 71-79, 1988.
- HALVER, E. J. **Fish Nutrition**. . Acad. Press, Inc, San Diego, 1989.
- HALVER, E. J. Nutrition of salmonids fishes III. Water soluble vitamin requirement of Chinook salmon. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 62, p. 225-243, 1957.
- HAYASHI, C. et al. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a fase de reversão sexual, **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, p. 823-828, 2002.
- HEW, C. L. Transgenic fish: present status and future directions. **Fish Physiology Biochemical**, v.7, p.1-4. 1989.
- HOVE, E. L.; COPELAND, D.H.; SALMON, W.D. Choline deficiency in the rabbit. **Journal of Nutrition**, Bethesda, p. 377-389, 1954.
- HUNG, S. S. O.; BERGE, G. M.; STOREBAKKEN, T. Growth and digestibility effects of soya lecithin and choline chloride on juvenile Atlantic salmon. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 3, p. 141- 144, 1997.
- HUNG, S. S. O.; LUTES, P. B. A Preliminary study on the non-essentiality of lecithin for hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 68, p. 353-360, 1988.
- HUNG, S. S. O. Choline requirements of hatchery – produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). **Aquaculture nutrition**, Oxford, v. 78, p. 183 – 194, 1989.
- ITUASSÚ, D. R. et al. Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.3, p.255-259, 2005.
- JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. London: Chapman & Hall, p. 307, 1994.

- JR WEBB, K. A.; RAWLINSON, L. T.; HOLT, G. J. Effects of dietary starches and the protein to energy ratio on growth and feed efficiency of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.16, p. 447-456, 2010.
- KANAZAWA, A. Essential phospholipids of fish and crustaceans. **Fish Nutrition in Practice**. June 24-27. No. 61 Paris. p. 519-530, 1993.
- KANAZAWA, A.; TESHIMA, S.; SAKAMOTO, M. Effects of dietary bonito-egg phospholipids and some phospholipids on growth and survival of the larval ayu, *Plecoglossus altivelis*. **Journal Applied Ichthyology**, v, 1. p. 165-170, 1985.
- KANG'OMBE, J. et al. Effect of varying dietary energy level on feed intake, feed conversion, whole-body composition and growth of Malawian tilapia, *Oreochromis shiranus* – Boulenger. **Aquaculture research**, Oxford, v. 38, p. 373-380, 2007.
- KASPER, C. S.; WHITE, M. R.; BROWN, P. B. Choline is required by tilapia when methionine is not in excess. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, p. 238-242, 2000.
- KASPER, C. S.; WHITE, M. R.; BROWN, P. B. Betaine can Replace Choline in Diets for Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 205, p. 119-126, 2002.
- KETOLA, H. G. Choline metabolism and nutritional requirement of Lake trout (*Salvelinus namaycush*). **Journal Animal Science**, Ottawa, v. 43, p. 474 – 477, 1976.
- KIM, J.D.; KAUSHIK, S.J. Contribution of digestible energy from carbohydrates and estimation of protein/energy requirements for growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 106, p. 161-169, 1992.
- KIM, J.; LALL, S. P. Effect of dietary protein level on growth and utilization of protein and energy by juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 195, p. 311-319, 2001.
- KIM, J. D.; LALL, S. P.; MILLEY, J. E. Dietary protein requirements of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). **Aquaculture Research**, Oxford, v.32, p.1-7, 2001a.
- KIM, K. W.; WANG, X. J.; BAI, S. C. Reevaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 2001, p. 119-125, 2001b.

- KIM, K. W. et al. Evaluation of optimum dietary protein-to-energy ratio in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). **Aquaculture Research**, Oxford, v.35, p. 250-255, 2004.
- KIM, S.; LEE, K. Dietary protein requirement of juvenile tiger puffer (*Takifugu rubripes*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 287, p. 219-222, 2009.
- KROENING, G. H.; POND, W. G. Methionine, choline and threonine interrelationships for growth and lipotropic action in the baby pig and rat. **Journal Animal Science**, Ottawa, v. 31, p. 412-419, 1967.
- KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação de peixes**. Piracicaba: Ed. Franciscana, Brasil. 1997.
- KURESHY, N.; DAVIS, D. A. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 204, p. 125-143, 2002.
- LEE, S. M.; CHO, S. H.; KIM, D. J. Effects of feeding frequency and dietary energy level on growth and body composition of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v.31, p. 917-921, 2000.
- LEE, H. Y. M. et al. Dietary protein requirement of juvenile giant croaker, *nibea japonica* Temminck & Schlegel. **Aquaculture research**, Oxford, v. 32, p. 112-118, 2001.
- LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. **Swine nutrition**. CRC Press, Boca Raton, 2001.
- LIM, C.; WEBSTER, D. **Tilapia—biology, culture and nutrition**. The Haworth Press, New York, XIX + 678 p., ISBN-13, 2006.
- LIM, C. et al. Thiamin requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the world aquaculture society**, Baton Rouge, v. 42, n. 6, p. 824-833, 2011.
- LIN, S.; LUO, L.; YE, Y. Effects of dietary protein level on growth, feed utilization and digestive enzyme activity of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p. 290-298, 2010.
- LIU, X. Y.; WANG, Y.; JI, W. X. Growth, feed utilization and body composition of Asian catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fed at different dietary protein and lipid levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 17, p. 578-584, 2011.
- LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 267p. 1998.
- LOVETT, T. D. et al. Methionine, choline and sulfate interrelationships in the diet of weanling swine. **Journal Animal Science**, Ottawa, v, 63, p. 467-471, 1986.

- LUPATSCH, I.; KISSIL, G. W. Feed formulations based on energy and protein demands in white grouper (*Epinephelus aeneus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 248, p. 83-95, 2005.
- LUPATSCH, I. et al. Effect of stocking density and feeding level on energy expenditure and stress responsiveness in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 298, p. 245-250, 2010a.
- LUPATSCH, I.; DESHEV, R.; MAGEN, I. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, p. 763-769, 2010b.
- MAEHANA, K. R. et al. Determinação da exigência em proteína para alevinos de acará disco (*Symphysodon spp.*). In: **Anais da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, p.407. Vitória. 2004.
- MAI, K. et al. Dietary choline requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 289, p. 124-128, 2009.
- MATTHEWS, J. O. et al. Interactive effects of betaine, crude protein, and net energy in finishing pigs. **Journal Animal Science**, Ottawa, v. 76, p. 2444-2455, 1998.
- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p.201- 212, 1977
- MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal nutrition – Comparative aspects to human nutrition**. San Diego: *Academic Press*, p. 486, 1989.
- MCGOOGAN, B. B.; GATLIN III, D. M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*. II. Effects of energy level and nutrient density at various feeding rates. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 182, p. 271-285, 2000.
- MENTEN, J. F. M.; PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I. A new method for determining the availability of choline in soybean meal. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, p. 1292-1297, 1997.
- MEYER, G.; FRACALOSSI, D. M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 240, p. 331- 343, 2004
- MICHAEL, F. R. et al. Effect of Choline and Methionine as Methyl Group Donors on Juvenile Kuruma Shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, p. 521-528, 2006.

- MICHAEL, F. R. et al. Effect of two choline sources on the performance of postlarval *Marsupenaeus japonicus* bate. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 59-64, 2007.
- MICHAEL, F. R.; TESHIMA, S.; KOSHIO, S. Interactive effect of two methyl-group sources on the growth and phospholipids content of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicas* bate post-larvae. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 17, p. 701-707, 2011.
- MOHANTA, K. N. et al. Protein requirement of silver barb, *Puntius gonionotus* fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 143-152, 2008.
- MOHANTA, K. N. et al. A dietary energy level of 14.6 MJ kg⁻¹ and protein-to-energy ratio of 20.2 g MJ⁻¹ results in best growth performance and nutrient accretion in silver barb *Puntius gonionotus* fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 15, p. 627-637, 2009.
- MOHSENI, M. et al. Effects of the dietary protein levels and the protein to energy ratio in sub-yearling Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin). **Aquaculture Research**, Oxford, doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.03041.x, 2011.
- MONENTCHAM, S. E.; POUMOGNE, V.; KESTEMONT, P. Influence of dietary protein levels on growth performance and body composition of African bonytongue fingerlings, *Heterotis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p. 144-152, 2010a.
- MONENTCHAM, S. E.; POUMOGNE, V.; KESTEMONT, P. Growth, feed utilization and body composition of African bonytongue, *Heterotis niloticus*, fingerlings fed diets containing various protein and lipid levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, p. 438-445, 2010b.
- MOOKERJEA, S. Action of choline in lipoprotein metabolism. **Federation Proceedings**. v.30, p. 143 – 150, 1971.
- MOYLE, P. B.; CECH JR, J. J. **Fishes: An introduction to ichthyology**. 2ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ, USA. p. 559, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, D.C. National Academic Press.: p. 376, 2011.
- NAVARRO, R. D. et al. Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piaçú (*Leporinus macrocephalus*) em fase pós-larval. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v.29. n.1, p. 109-114, 2007.
- NELSON, D. L.; COX. M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 3rd ed. Worth Publishers, 2000.

- NEMATIPOUR, G. R.; BROWN, M. L.; GATLIN III, D. M. Effects of dietary energy:protein ration on growth characteristics and body composition of hybrid striped bass, *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 107, p. 359-368, 1992.
- NG, W. K.; HANIM, R. Performance of genetically improved Nile tilapia compared with red hybrid tilapia fed diets containing two protein levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v.38, p. 965-972, 2007.
- NYINA-WAMWIZA, L. et al. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings, **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 486-492, 2005.
- OGINO, C. et al. B vitamin requirements of carp. IV. Requirement for choline. **Bulletin Japanese Society Scientific Fisheries**. v. 36, p. 1140 – 1146, 1970.
- OSOL, A, et al. **Blakiston's pocket medical dictionary**. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, p. 1169, 1982.
- OZÓRIO, R. O. A. et al. Growth performance and body composition of white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles fed diets with different protein and lipid levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, p. 255-263, 2006.
- OZÓRIO, R. O. A. et al. Protein requirement for maintenance and maximum growth of two-banded seabream (*Diplodus vulgaris*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 15, p. 85-93, 2009.
- PANNEVIS M. C.; HOULIHAN, D. F. The energetic cost of protein synthesis in isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal Comparative Physiology B**, v. 162, p. 393–400, 1992.
- PARAZO, M. M. Effect of dietary protein and energy level on growth, protein utilization and carcass composition of rabbitfish, *Siganus guttatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 86, p. 41-49, 1990.
- PASPATIS, M.; BOUJARD, T. A comparative study of automatic feeding and self-feeding in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets of different energy levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 145, p. 245-257, 1996.
- PERES, H. Protein and amino acid nutrition of marine fish species. In **Anais 4º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes**, ISSN: 2176-4077, 23 a 25 novembro, Botucatu, p.87-114, 2011.
- PEZZATO, L. E. et al. Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetida a reversão sexual. In: **Simpósio Brasileiro de Aquicultura**, Cuiabá, p. 70-71, 1986.

- PEZZATO, L. E. et al. Nutrição de Peixes. In: CYRINO, J.E.P. et al. **Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva**. São Paulo: Aquabio, v.1, p.75-170, 2004.
- PHUMEE, P. et al. Effects of dietary protein and lipid content on growth performance and biological indices of iridescent Shark (*Pangasius hypophthalmus*) fry. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, p. 456-463, 2009.
- PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. Stress response and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevations of plasma cortisol. **Fish Physiology Biochemistry**, v.7, p. 253-258, 1989.
- PICKERING, A. D. Growth and stress in fish production. **Aquaculture**, Amsterdam, v.111, p. 51-63, 1993.
- PIEDRAS, S. R. N.; POUEY, J. L. O. F.; RUTZ, F. Efeitos de diferentes níveis de proteína bruta e de energia digestível na dieta sobre o desempenho de alevinos de peixe-rei. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.10, p. 97-101, 2004.
- PIROZZI, I.; BOOTH, M. A.; ALLAN, G. L. The interactive effects of dietary protein and energy on feed intake, growth and protein utilization of juvenile mullet (*Argyrosomus japonicus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p. 61-71, 2010.
- PORTZ, L.; CYRINO, J. E. P.; MARTINO, R. C. Growth and body composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, p. 247-254, 2001.
- POSTON, H. A. Performance of rainbow trout fry fed supplemental soy lecithin and choline. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 52, n. 4, p. 218-225, 1990a.
- POSTON, H. A. Effect bodysize on growth, survival and chemical composition of Atlantic salmon fed soy lecithin and choline. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 53, p. 226-230, 1990b.
- POSTON, H. A. Choline requirements of swimming up rainbow trout fry. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 53, p. 1140-1146, 1991a.
- POSTON, H. A. Response of rainbow trout to soy lecithin, choline, and autoclaved Isolated soy protein. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 53, p. 85-90, 1991b.
- POSTON, H. A. Response of Atlantic salmon fry to feed-grade lecithin and choline. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 53, p. 224-228, 1991c.

- REIDEL, A. níveis de energia e proteína na alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*) criados em tanques rede. **Tese de doutorado**. Caunesp. Jaboticabal – SP. 2007.
- REIS, L. M.; REUTEBUCH, E. M.; LOVELL, R. T. Protein-to-energy ratios in production diets and growth, feed conversion and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 77, p. 21-27, 1989.
- RUEDA-LÓPEZ, S. et al. Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 319, p. 385-390, 2011.
- RUMSEY, G. L. Choline-betaine requirements of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 95, p. 107-116, 1991.
- RUSSET, J. C. et al. Choline-methionine interactions in young swine. **Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 49, n° 3, p. 708-714, 1979.
- RYU, K. S.; ROBERSON, K. D.; PETI, G. M. The folic acid requirements of broiler chicks fed diets based on practical ingredients. 1 – Interrelationships with dietary choline. **Poultry-science**, Champaign, v. 74, n. 9, p. 1447 – 1455, 1997.
- SÁ, R.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of White sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, p. 310-321, 2006.
- SÁ, R.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Dietary protein requirement of White sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 309-317, 2008.
- SALHI, M. et al. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, p. 435-444, 2004.
- SAMANTARAY, K.; MOHANTY, S. S. Interactions of dietary levels of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striata*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 156, p. 241-249, 1997.
- SAMPAIO, A. M. B.; KUBITZA, F.; CYRINO, J. E. P. Relação energia:proteína na nutrição do tucunaré. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.213-219, 2000.
- SANTIAGO, C. B.; LOVELL, R. T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.118, p.1540-1546, 1988.

- SANTINHA, P. J. M. et al. Effects of the dietary protein : lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 5, p. 147-156, 1999.
- SCHUCHARDT, D. et al. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 1-9, 2008.
- SCHULZ, C. et al. Effect of dietary protein on growth, feed conversion, body composition and survival of pike perch fingerlings (*Sander lucioperca*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.13, p. 373-380, 2007.
- SCORVO FILHO, J. D. et al. Desempenho da tilápia criada em tanques-rede em represa rural, alimentada com rações de diferentes concentrações de proteína bruta. **Anais Aquaciência**, Maringá-PR, 2008.
- SEALEY, W. M.; CRAIG, S. R.; GATLIN III, D. M., Dietary cholesterol and lecithin have limited effects on growth and body composition of hybrid Striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, p. 25-31, 2001.
- SHIAU, S.; HUANG, S. Influence of varying energy level with two protein concentrations in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*) reared in seawater. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 91, p. 143-152, 1990.
- SHIAU, S.; LAN, C. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 145, p. 259-266, 1996.
- SHIAU, S. Y.; LO, P. S. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, p. 100-103, 2000.
- SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9ª Edição, Editora Manole Ltda., 2003.
- SIGNOR, A. A. et al. Proteína e energia na alimentação de pacus criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa**, v.39, n.11, p.2336-2341, 2010a.
- SIGNOR, A. et al. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo: efeito da dieta suplementada com levedura e zinco e do estímulo pelo frio. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, p. 509-519, 2010b.
- SILVA, S. S.; GUNASEKARA, R. M.; ATAPATU, D. The dietary protein requirements of young tilapia and an evaluation of the least cost of dietary protein levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v.80, p.271-284, 1989.

- SMITH, R. R. In **"Fish Nutrition,"** 2nd. ed. (Halver, J. E.), p. 2–29. Academic Press, San Diego, CA. 1989.
- STICKNEY, R. R. Tilapia nutrition, feeds and feeding. p.35-54. In: COSTA-PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. **Tilapia aquaculture in the americas.** World Aquaculture Society, Baton Rouge, 1997.
- STRANGE, R.; SCHRECK, C. B.; GOLDEN, J. T. Corticoid stress responses to handling and temperature in salmonids. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.106, p.213-218, 1977.
- SWEILUM, M.; ABDELLA, M. M.; EL-DIN, S. A. S. Effect of dietary protein-energy levels and fish initial sizes on growth rate, development and production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 1414-1421, 2005.
- TAKAKUWA, F. et al. Optimum digestible protein and energy levels and ratio for greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso) fingerling. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, p. 1532-1539, 2006.
- TAKEUCHI, T. et al. Supplemental effect of phospholipids and requirement of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid of juvenile *Striped jack*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 58. p. 707-713, 1992.
- TEIXEIRA, C. P. et al. Growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing levels of pyridoxine and hematological response under heat stress. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 1, p. 1-8, 2011.
- TESHIMA, S.; KANAZAWA, A.; KOSHIO, S. Recent development in nutrition and microparticulate diets of larval prawns. **The Israel Journal of Aquaculture**, v. 45, p. 175–184, 1993.
- THOMPSON, K. R. et al. Effects of feeding practical diets containing various protein levels on growth, survival, body composition, and processing traits of Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) and on pond water quality. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, p. 659-668, 2004.
- TIBBETTS, S. M.; LALL, S. P.; ANDERSON, D. M. Optimum dietary ratio of digestible protein and energy for juvenile American eel, *Anguilla rostrata*, fed practical diets. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, p. 213-220, 2001.
- TRAN-DUY, A. et al. Effects of dietary starch and energy levels on maximum feed intake, growth and metabolism of nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 277, p. 213-219, 2008.

- TRUNG, D. V. et al. Development of a nutritional model to define the energy and protein requirements of tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 320, p. 69-75, 2011.
- TSIAGBE, V. K.; HARPER, A. E.; SUNDE, M. L. A feather-sexed strain of laying hens was more responsive to dietary supplements of choline and metionine than a vent-sexed strain. **Poultry-science**, Champaign, v. 71, p. 1271–1276, 1992.
- TWIBELL, R. G.; BROWN, P. B. Dietary choline requirement of juvenile Yellow perch (*Perca flavescens*). **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, p. 95-99, 2000.
- UNNIKRISHNAN, U.; PAULRAJ, R. Dietary protein requirements os giant mud crab *Scylla serrata* juveniles fed iso-energetic formulated diets having graded protein levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v.41, p. 278-294, 2010.
- USMAN, R. et al. Optimum dietary protein and lipid specifications for grow-out of humpback grouper *Cromileptes altivelis* (Valenciennes). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 1285-1292, 2005.
- VIERA, I.; CYRINO, J. E. P.; PEZZATO, L. E. Colina e betaína em rações purificadas na nutrição da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis Niloticus*). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, p. 675-680, 2001.
- WEDEMEYER G. A. **Physiology of fish in intensive culture systems**. New York: Chapman & Hall, 1996.
- WEIL, L.; BARRY, T.; MALISON, J. Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post-stress cortisol concentrations. **Aquaculture**, Amsterdam, v.193, p. 373-380, 2001.
- WELCH, B. E.; COUCH, J. R., Homocytine, vitamin B¹², choline, and methionine in the nutrition of the laying fowl, **Poultry Science**, Champaign, v. 34, p. 217–222, 1955.
- WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiology**. 77, p.591-625, 1997.
- WILSON, R. P. Amino acids and proteins. p. 111–151 In: Halver, J. E. **Fish Nutrition**. Academic press, Inc. San Diego, Ca, USA. 1989.
- WILSON, R. P.; POE, W. E. Choline nutrition of fingerling channel catfish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 68, p. 65-71, 1988.
- WOODWARD, B. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, p. 133 - 168, 1994.

- WU, P. et al. Effect of dietary choline on growth, intestinal enzyme activities and relative expressions of target of rapamycin and eIF4E-binding protein2 gene in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 317, p. 107-116, 2011.
- YANG, S. D. et al. Influence of dietary protein levels on growth performance, carcass composition and liver lipid classes of juvenile *Spinibarbus hollandi* (Oshima). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, p. 661-666, 2003.
- YE, W. J. et al. Effects of dietary protein to carbohydrate ratios on growth and body composition of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* (Siluriformes, Bagridae, Pelteobagrus), **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, p. 1410-1418, 2009.
- YU, H. et al. Effects of dietary protein levels on the growth, survival, amylase and trypsin activities in large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R., larvae. **Aquaculture Research**, Oxford, doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02814.x, 2011.
- YUAN, Y. C. et al. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, p. 205-212, 2010.
- ZHANG, Z.; WILSON, R. P. Reevaluation of choline requirements of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and determination of the availability of choline in common feed ingredients. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 180, p. 89-98, 1999.
- ZHOU, J. et al. Optimal dietary protein requirement for juvenile ivory shell *Babylonia areolate*. **Aquaculture**. Amsterdam, v. 270, p. 186-192, 2007.
- ZUANON, J. A. S. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de acará bandeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Visçosa, v. 35, p. 1893-1896, 2006.

Capítulo II

**Proteína e energia digestíveis e colina para tilápias-do-Nilo:
desempenho e respostas fisiológicas antes e após estresse
térmico**

Proteína e energia digestíveis e colina para tilápias-do-Nilo: desempenho e respostas fisiológicas antes e após estresse térmico

Resumo: Pesquisas para determinar a exigência em proteína e energia digestíveis e colina simultaneamente são escassas. Este estudo avaliou o efeito da proteína e energia digestíveis e colina no desempenho produtivo e nas respostas fisiológicas da tilápia-do-Nilo. Juvenis ($87,0 \pm 7,0$ g), identificados individualmente com micro-chipe foram distribuídos em 40 aquários de 250L (8 peixes/aquário) utilizando um delineamento experimental inteiramente casualizado com 20 tratamentos em esquema fatorial $5 \times 2 \times 2$ e 16 repetições: 24,0; 26,0; 28,0; 30,0 e 32,0% proteína digestível, 3200 e 3500 kcal kg^{-1} energia digestível e 0,0 e 1000,0 mg colina kg^{-1} . Foram determinados parâmetros de desempenho produtivo, índice hepatossomático, gordura visceral, além das respostas fisiológicas antes e após estímulo a quente. A dieta suplementada com colina melhorou a conversão alimentar aparente; os peixes alimentados com dieta com 32,0% PD tiveram menores IHS e GV e a dieta com 3500 kcal ED kg^{-1} determinou melhores condições de saúde após estresse, enquanto que os peixes alimentados com dieta com 32,0% PD com 3500 kcal ED kg^{-1} , e suplementada com colina determinou melhor desempenho produtivo e higidez dos peixes.

Palavra chave: estresse, hematologia, nutrição e saúde, *Oreochromis niloticus*, cloreto de colina.

Digestible protein and energy and choline for Nile tilapia: performance and physiological profile before and after heat stress

Abstract: Research effects aimed at determining digestible energy, protein and choline requirement simultaneously are scarce. This study evaluated effects of digestible protein, digestible energy and choline in the physiological response and growth performance of Nile tilapia. Juveniles (87.0 ± 7.0 g), individually tagged Nile tilapia (Animaltag®) were randomly distributed into 40, 250-L 8 fish per tank setting up a totally randomized trial, 5x2x2 factorial arrangement, with twenty treatments (n=2): 24.0; 26.0; 28.0; 30.0 and 32.0% digestible protein, 3200 and 3500 kcal kg⁻¹ digestible energy and 0.0 and 1000 mg choline kg⁻¹ diet. Growth performance, hepatosomatic index, visceral fat and physiological response before and after heat stress were evaluated. Dietary choline supplementation yielded better feed conversion rate; fish fed diet containing 32.0% DP had lower HSI and VF and diet containing elicited 3500 kcal kg⁻¹ best health condition after stress, while fish fed diets with 32.0% DP plus 3500 kcal DE kg⁻¹ and supplemented with choline had better productive performance and were healthier.

Keys-words: choline chloride, hematology, nutrition and health, *Oreochromis niloticus*, stress

1. Introdução

Dados na literatura têm indicado que o nível ótimo de proteínas em dietas para peixes varia de 25,0 a 50,0%, porém estes valores podem ser afetados por variáveis experimentais, tais como tamanho do peixe, temperatura da água, quantidade de energia não-proteica na dieta, qualidade da proteína e disponibilidade de alimento natural (Lovell 1998). Pesquisas têm determinado a exigência de proteína bruta e energia bruta, entretanto faltam estudos para determinação dos valores de exigência em proteína e energia digestíveis, principalmente em condições intensivas. Os produtores, na sua maioria, utilizam rações com 32,0% PB durante todo o ciclo de produção, nível este acima do recomendado por alguns autores (Pezzato *et al.* 1986; Furuya *et al.* 2005; Bonfim *et al.* 2008) principalmente considerando-se que a tilápia é onívora e não necessitaria dessa quantidade para atender sua exigência, além de representar o componente mais oneroso da ração.

O excesso de proteína e a baixa digestibilidade da ração, causam piora na qualidade da água em função da maior excreção de nitrogênio pelos peixes (Peres 2011). Destaca-se, portanto, a importância de se adequar o teor proteico na dieta de forma que atenda a sua exigência utilizando-se ingredientes mais digestíveis para o balanceamento das rações.

Um dos problemas que tem sido observado na criação de peixes é a esteatose hepática causada, possivelmente, pelo excesso de proteína e energia na dieta. Várias pesquisas evidenciaram que a colina melhora o estado do fígado possivelmente pela diminuição dos níveis de gordura (Ogino *et al.*

1970; Osol *et al.* 1982; Wilson & Poe 1988; Graciano *et al.* 2010), porém ainda faltam estudos para melhor esclarecimento desta ação.

Na aquacultura, os desafios naturais como alta temperatura da água somam-se àqueles impostos pela atividade, como, por exemplo, práticas de manejo, transporte, classificação, tratamentos e altas densidades de estocagem causando nos peixes estresse. Segundo Wendeelar-Bonga (1997), o estresse pode ser definido como a condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, homeostase, é ameaçado ou perturbado em decorrência da ação de estímulos intrínsecos denominados estressores. A ação dos estressores é dupla e produzem efeitos que ameaçam ou perturbam o equilíbrio homeostático e provocam respostas comportamentais e fisiológicas, como ação compensatória e/ou adaptativa, habilitando o animal para superar as ameaças.

Desta forma, esta pesquisa teve por finalidade determinar o melhor nível de proteína e energia digestíveis, mais a presença de colina no desempenho e respostas fisiológicas da tilápia-do-Nilo antes e após o estresse térmico em condições laboratoriais.

2. Material e métodos

2.1. Peixes e procedimento experimental

O experimento foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Univ. Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, Laboratório

de Nutrição e Saúde de Peixes – AquaNutri. Foram utilizados juvenis de tilápia Tailandesa, linhagem Supreme[®], proveniente da Piscicultura Fernandes – São Manuel/SP, selecionados de forma garantir a homogeneidade do lote. Os juvenis foram alojados em tanques circulares de 1000L para seleção e distribuição nos aquários experimentais e permaneceram nessas condições de adaptação por uma semana, recebendo uma dieta controle três vezes ao dia com 28%PD/3200 kcal ED/kg e suplementada com colina.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2x2, com cinco níveis de proteína digestível (PD) (24,0; 26,0; 28,0; 30,0 e 32,0% de PD), dois níveis de energia digestível (ED) (3200 e 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta) e dois níveis de colina (Col) (0,0 e 1000 mg kg⁻¹ de dieta) e o período experimental foi de 60 dias. Os tratamentos foram distribuídos ao acaso entre os aquários (250 L), sendo dois aquários por tratamento e oito peixes (87,0 g $\pm$ 7,0) por aquário. Os peixes foram identificados por micro-chipe, sendo cada peixe considerado uma repetição, totalizando oito repetições por aquário e 16 por tratamento.

Os aquários possuíam aquecimento controlado por sistema digital integrado e a água do sistema estava acoplada a central de aeração e filtragem físico-biológica, mantendo sua qualidade e renovação total a cada duas horas. Diariamente, foi medida a temperatura da água e, semanalmente o pH, teor de oxigênio dissolvido, saturação de oxigênio dissolvido, sólidos totais dissolvidos e a amônia total utilizando-se sonda YSI 556[®]. Os resultados obtidos de qualidade de água foram 25,8 $\pm$ 0,8 °C; 7,1 $\pm$ 0,2; 5,0 $\pm$ 0,4 mg L⁻¹ ; 61,0 $\pm$ 5,0%; 0,15 $\pm$ 0,6 g L⁻¹; 0,25 $\pm$ 0,07, respectivamente, estando dentro do

conforto para a espécie estudada (Boyd 1996). Os aquários foram sifonados semanalmente para retirada do excesso de fezes e manutenção da qualidade da água. Os peixes foram alimentados até saciedade aparente e o arraçoamento foi executado quatro vezes ao dia (8:30; 11:30; 14:30 e 17:30 h).

Ao final de 60 dias, foram determinados os resultados de desempenho produtivo: Ganho de peso (GP); Peso final (PF); Conversão alimentar (CA); Consumo de ração (CR); Taxa de sobrevivência (SOB); Taxa de crescimento específico (TCE); Gordura visceral (GV); Índice hepatossomático (IHS);

Sendo:

$GP\ (g) = \text{peso final}\ (g) - \text{peso inicial}\ (g);$

$CA = \text{quantidade de ração fornecida}\ (g) / GP\ (g);$

$CR\ (g) = \text{quantidade de dieta ingerida}\ (g);$

$SOB = \text{números de animais/números de óbitos} \times 100;$

$TCE = ((\ln \text{peso final} - \ln \text{peso inicial})/\text{tempo}) \times 100;$

$GV\ (\%) = (\text{peso gordura}\ (g)/\text{peso corporal}\ (g)) \times 100;$

$IHS\ (\%) = (\text{peso fígado}\ (g)/\text{peso corporal}\ (g)) \times 100;$

2.2. Dietas

Os ingredientes utilizados nas dietas foram moídos de forma apresentarem diâmetro inferior a 0,71 mm. Posteriormente, foram homogeneizadas manualmente, acrescidas de 23,0% de água e extrudadas a 90 – 120 °C em extrusora laboratorial de rosca simples (Exteec® – Ribeirão Preto/SP/Brasil), apresentando grânulos próximos a 4,0 mm (diâmetro

geométrico médio - DGM). As rações foram secas em estufa de circulação forçada de ar à 55°C por 18 horas e armazenadas em câmara fria a 4,0°C.

Foram formuladas as rações com 24,0 e 32,0% PD com 3200 e 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta (tabela 1). As demais dietas experimentais foram obtidas pelo método de diluição. Estas apresentaram níveis de aminoácidos conforme determinado por Furuya *et al.* (2001) e demais nutrientes segundo NRC (1993).

Composição das demais dietas:

26% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ = 75% de 24% PD/3200 + 25% 32% PD/3200

26% PD/3500 kcal ED kg⁻¹ = 75% de 24% PD/3500 + 25% 32% PD/3500

28% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ = 50% de 24% PD/3200 + 50% 32% PD/3200

28% PD/3500 kcal ED kg⁻¹ = 50% de 24% PD/3500 + 50% 32% PD/3500

30% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ = 25% de 24% PD/3200 + 75% 32% PD/3200

30% PD/3500 kcal ED kg⁻¹ = 25% de 24% PD/3500 + 75% 32% PD/3500

As dietas experimentais (20 tratamentos) foram compostas pelas dez fórmulas apresentadas na Tabela 1, sendo que cada uma compõem dois tratamentos: com ou sem adição de colina.

As análises químico-bromatológicas das dietas foram realizadas conforme metodologia proposta pela AOAC (2000) e realizadas no Laboratório de Bromatologia da FMVZ, UNESP, Câmpus de Botucatu (Tabela 2).

2.3. Respostas fisiológicas

A avaliação dos parâmetros fisiológicos, antes do estresse foi realizada anteriormente à determinação dos parâmetros de desempenho produtivo. Para

avaliação dos parâmetros hematológicos foram retirados, aleatoriamente, três peixes/aquário, totalizando seis por tratamento. Os peixes, primeiramente, foram anestesiados com benzocaína, na concentração $0,1 \text{ g L}^{-1}$ (1,5 g do anestésico em 15 L de água). Após completa dessensibilização, foi coletado sangue por meio de punção do vaso caudal com auxílio de seringa de 1,0 mL, banhada com anticoagulante (EDTA 3,0%). A contagem do número de eritrócitos (Erit) foi realizada pelo método do hemocítômetro em câmara de Neubauer, utilizando-se como diluente e corante a solução azul de toluidina a 0,01%. Este foi colocado em *ependorf* na diluição 200:1 (azul de toluidina:sangue) com auxílio de pipeta automática. A diferenciação dos leucócitos foi realizada em extensão sanguínea, corada com May-Grünwald Giemsa. A taxa de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando-se kit comercial Analisa Diagnóstica[®], para determinação colorimétrica, segundo Collier (1944). A porcentagem de hematócrito (HTC) foi determinada pelo método do microhematócrito, segundo Goldenfarb *et al.* (1971). A proteína plasmática total (PPT) foi mensurada por meio do uso de refratômetro manual de Goldberg, pela quebra do tubo de microhematócrito logo acima da camada de leucócitos, após a leitura do hematócrito. A análise de albumina (Alb) sérica foi efetuada utilizando-se kit de análise (Analisa Diagnóstica[®]) e as globulinas (Glob) foram determinadas por cálculo diferencial ($\text{Glob} = \text{PPT} - \text{Alb}$). Após a determinação das concentrações de albumina e globulina foi calculada a relação albumina: globulina (A:G) (Jain 1986). As análises de glicose (Glic) foram realizadas utilizando-se o kit comercial Analisa Diagnóstica[®]. Posteriormente, foram calculados os índices

hematimétricos: volume corpuscular médio [$VCM = (Htc \times 10)/\text{eritrócitos}$] e concentração de hemoglobina corpuscular média [$CHCM = (Hb \times Htc) \times 100$], segundo Wintrobe (1934).

2.4. *Desafio térmico*

Os peixes permaneceram na mesma estrutura de 250 litros, porém a temperatura da água foi elevada em 6,0 °C ($32,4 \pm 0,4$ °C), e no período da manhã o sistema de aeração foi desligado de forma diminuir a concentração e saturação de oxigênio dissolvido, atingindo $1,7 \pm 0,7$ mg L⁻¹ e $20,0 \pm 5,0\%$, respectivamente em função da temperatura da água e do sistema de aeração.

Os peixes permaneceram nestas condições pelo período de quatro dias. Ao final deste período foram avaliados os mesmos parâmetros fisiológicos realizados ao final do período de alimentação do desempenho produtivo e, anteriormente descritos. Para esta avaliação foi utilizado o mesmo delineamento experimental, utilizando-se três peixes por aquário e dois aquários por tratamento, totalizando seis peixes por tratamento.

2.5. *Análise Estatística*

Antes da realização das análises, os dados em porcentagem foram transformados em arcoseno de forma a obedecer à distribuição normal. As variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA) ($\alpha=0,05$) e, quando detectada diferenças, foi aplicado o teste Tukey ($P=0,05$) para comparação de

médias, por meio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis Systems Institute, USA) (Zar 1999).

3. Resultados

Não houve efeito nos níveis de proteína digestível, energia digestível, colina e interações destes fatores para o ganho de peso, sobrevivência e taxa de crescimento específico. Referente ao consumo aparente de ração houve efeito do nível de energia digestível, sendo que 3500 kcal kg⁻¹ determinou o maior consumo. Houve interação significativa entre a proteína digestível e energia digestível para a conversão alimentar aparente. Este parâmetro foi, ainda, influenciado pelo nível de colina, sendo que a suplementação determinou a melhor CAA. O nível de proteína digestível determinou diferença significativa para o IHS, sendo que o nível de 32,0% diferiu de 24,0% e, ambos não diferiram dos demais. Houve ainda interação significativa do nível de proteína digestível e colina. A gordura visceral foi, igualmente, influenciada pelo nível de proteína digestível, sendo que 32,0% determinou a menor porcentagem de GV e 24,0% a maior e, ambos não diferiram dos demais. Houve também influencia da energia digestível, sendo que 3500 kcal kg⁻¹ determinou o maior acúmulo de gordura visceral (Tabela 3).

No desdobramento da interação proteína digestível e energia digestível, para variável conversão alimentar, determinou-se que para o nível de 3200 kcal kg⁻¹ de dieta, o nível de 28,0% PD determinou a pior CAA. Entretanto, para o nível de 3500 kcal ED kg⁻¹ a melhor CAA foi observada para o nível de 32,0%

de PD. Comparando-se os níveis de energia digestível, verificou-se que 3200 kcal kg⁻¹ determinou a melhor CAA para o nível de 24,0 e 30,0% PD, sendo que os demais não diferiram entre si (Tabela 4).

No desdobramento entre proteína digestível e colina para a variável IHS, a suplementação de colina resultou no menor IHS para 24,0% PD, diferentemente de 26,0% que o menor IHS foi observado nos peixes arraçados com dietas isentas de suplementação de colina (Tabela 4).

Analisando o perfil hematológico determinou-se diferenças antes e após o estresse térmico, sendo que o menor número de eritrócitos e menor taxa de hemoglobina foram observados após o estresse térmico (Tabela 5). Igualmente, a concentração de albumina foi menor após o estresse, porém a concentração de globulina e glicose foram maiores (Tabela 6).

Comparando-se os momentos, os peixes arraçados com a dieta contendo 30,0% PD e 3200 kcal ED kg⁻¹ tiveram queda significativa no número de Erit, após o estresse térmico, independente da suplementação de colina. Referente a Hb, determinou-se queda do valor após o estresse para os peixes alimentados com as dietas com 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, com a suplementação de colina e, 30,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, isenta de colina. O nível de 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, independente da suplementação de colina, determinou queda significativa da Alb após estresse. O mesmo ocorreu com os peixes alimentados com a dieta 26,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, porém suplementada de colina (Tabela 7).

Diferentemente das variáveis acima apresentadas, a Glob aumentou após o estresse térmico para os peixes arraçados com as seguintes dietas:

26,0 e 28,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, com suplementação de colina e 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, sem suplementação. Independentemente do nível de ED e Col, o nível de 24,0% PD determinou aumento da concentração de glicose após o estresse térmico. O mesmo foi observado para 28,0% PD, excetuando-se o nível ED de 3500 kcal kg⁻¹, com colina e para o nível de 30,0 e 32,0% PD, exceto para 3200 kcal ED kg⁻¹, sem colina (Tabela 7). A porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos dos peixes não foram influenciadas pelas dietas após 60 dias e estresse térmico (Tabela 8).

4. Discussão

O desenvolvimento e crescimento dos peixes são processos complexos, influenciados por vários fatores, tais como nutrição, qualidade de água, fase de desenvolvimento e genética. Em condições laboratoriais, o período experimental pode, igualmente, influenciar as respostas de desempenho. A ausência de diferenças no desempenho produtivo pode ser resultado do período experimental. Entretanto, houve tendência entre as variáveis de desempenho, indicando que o teor de 32,0% PD das dietas foi o melhor, independente da concentração de energia. Tal fato pode ser explicado pela relação ED:PD adaptado do NRC (2011), como sendo de 117, valor este próximo aos encontrados neste estudo, que foram de 100 e 110.

Diferentemente da energia e proteína, a suplementação de colina proporcionou melhores respostas de desempenho, provavelmente em função da melhora da atividade hepática, uma vez que esta vitamina é componente da

fosfatidilcolina, composto que previne a esteatose hepática. De modo oposto, Fernandes Junior *et al.* (2010a), verificaram que a suplementação de colina não determinou melhora do desempenho produtivo da tilápia-do-Nilo, também em condições laboratoriais.

A colina é doadora de radical metil para formação da metionina, principalmente em condições de insuficiência deste aminoácido (Mc Dowell 1989, Halver 1989). Desta forma, a suplementação de colina pode ter contribuído para as reações de metilação e, conseqüentemente, formação de metionina, melhorando assim a CAA. Respostas similares foram encontradas por Wilson & Poe (1988), Kasper *et al.* (2000), Michael *et al.* (2006), Mai *et al.* (2009) e Michael *et al.* (2011).

As diferenças no consumo de ração e conversão alimentar aparente para variável ED, ocorreram possivelmente em função da diferente integridade dos pellets das dietas, sendo esta, consequência da maior quantidade de óleo presente nas dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹. Desta forma, houve prejuízo no processo de alimentação, uma vez que, a pior integridade do grânulo determinou maiores concentrações de sólidos totais dissolvidos na água, dificultando a visualização de possíveis sobras. Embora ambas as dietas tenham sido extrudadas, a inclusão de óleo determinou dietas com baixa estabilidade e mais densas. Diferenças no ganho de peso e conversão alimentar, comparando-se tipos de processamento de rações foram descritos por Kleemann *et al.* (2011), sendo que a ração extrudada proporcionou melhora de 50,0% para o GP e 28,5% para a CAA. As respostas encontradas, referente à suplementação de colina e adição de lipídeo nas dietas permitem afirmar que

a adição de colina favorece respostas de desempenho produtivo, diferentemente da inclusão de lipídeo.

A presença de carboidrato na dieta também pode determinar alterações fisiológicas. As maiores concentrações de carboidratos na forma de amido estavam presentes nas rações com menores níveis de proteína e resultaram em maiores IHS e GV, ou seja, a quantidade de carboidrato das dietas foi suficiente para manter o metabolismo energético, sendo o excedente utilizado para produção de reserva, tanto na forma de GV como, possivelmente, na forma de glicogênio hepático. Respostas similares foram descritas por Brown *et al.* (1992) e Gonçalves *et al.* (2009), ambos com a tilápia-do-Nilo.

Os peixes não aproveitam toda energia proveniente do lipídeo para o crescimento, sendo que a parcela não aproveitada para funcionamento do metabolismo pode ser depositada na cavidade abdominal (Jancey & Ross 1982). Esta hipótese pode explicar o maior depósito de GV nos peixes alimentados com a dieta com alta energia. Isto explica, ainda, a maior eficiência de deposição da energia excedente oriunda de lipídios, em relação a carboidratos e proteínas, resultando em peixes mais gordos (El Dahhar & Lovell 1995; Van Der Meer *et al.* 1997).

A melhor CAA dos peixes alimentados com dietas com alta energia foi determinada juntamente com o maior nível proteico. Isto ocorreu, possivelmente, porque o nível de energia da dieta, controla a ingestão. Portanto, a dieta mais energética pode determinar o melhor atendimento da exigência proteica quando o nível de proteína for maior.

A interação entre PD e colina para variável IHS, foi influenciada pela suplementação de colina para os dois menores níveis proteicos. Para 24,0% PD, tal fato pode ser explicado pela provável melhora da atividade hepática como descrito anteriormente, sendo que o maior IHS foi apresentado pelos peixes que se alimentaram com dieta isenta de colina. Além disso, acredita-se que o alto valor de IHS possa estar relacionado com o acúmulo de gordura. Respostas semelhantes foram observadas por Craig & Gatlin III (1997), Mai *et al.* (2009), Fernandes Junior *et al.* (2010a) e Wu *et al.* (2011) para red drum (*Sciaenops ocellatus*), cobia (*Rachycentron canadum*), tilápia-do-Nilo e carpa Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian), respectivamente. Entretanto, para 26,0% PD determinou-se respostas inversas, sendo que a suplementação de colina determinou aos peixes maiores IHS. Tais respostas contrariam os dados encontrados na literatura (Ogino *et al.* 1970; Osol *et al.* 1982), não permitindo explicação biológica.

Em sistemas intensivos de criação de peixes, o estresse é inevitável. As consequências são, geralmente, redução do crescimento, ganho de peso, piora do desempenho reprodutivo e da resistência a patógenos. A somatória dessas mudanças é comumente referida como resposta ao estresse (Barton & Iwana 1991) e pode, dependendo da severidade do agente estressor, determinar alterações fisiológicas detrimenais, ou ainda, a adaptação à condição de estresse (Schreck 2000).

A elevação da temperatura da água além da faixa de conforto, pelo período de quatro dias, não alterou a eritropoiese. Os valores obtidos estão dentro da faixa de normalidade para a tilápia hígida, conforme relatado em

trabalhos realizados com esta espécie e em condições experimentais similares por Barros *et al.* (2002); Ferrari *et al.* (2004); Fernandes Junior *et al.* (2010b). Entretanto, a maior concentração de glicose e, igualmente, de albumina comprovaram o efeito estressor da temperatura. Durante o estresse a concentração de glicose aumenta em decorrência da disponibilização de energia pelas catecolaminas, por meio da glicogenólise e, pelo catabolismo do glicogênio, lipídeos e proteínas pelo cortisol (Barton *et al.* 1988; Sumpter 1997).

Pesquisas têm demonstrado que o estresse exerce efeito depressivo sobre várias respostas imunológicas em peixes, com aumento nas proteínas totais séricas (Milligan & Wood 1982; Mc Donald & Milligan 1992) e diminuição na produção de anticorpos (imunoglobulinas) (Carlson *et al.* 1993). Mudanças nos níveis de globulinas podem ser utilizadas para avaliar a adaptação ao estresse: animais adaptados possuem níveis normais, ao contrário daqueles não adaptados (González & Silva 2006). O aumento da concentração de globulina demonstra que os peixes não estavam adaptados a alta temperatura, porém o efeito estressor não foi severo para determinar exaustão fisiológica, comprovado pela ausência de mortalidade. Independente dos níveis proteicos e ou energéticos, as dietas ofertadas também podem ter determinado condições fisiológicas adequadas ao enfrentamento do estresse. A não alteração da porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos após o estresse pode, igualmente, apoiar a hipótese aventada. Pesquisas têm demonstrado após o estresse por baixa e alta temperatura há ocorrência de linfopenia (queda da porcentagem de linfócitos), neutrofilia e monocitofilia (aumento da porcentagem de neutrófilos e monócitos) como descrito por Falcon *et al.*

(2008), Barros *et al.* (2009), Fernandes Junior *et al.* (2010b) e Araújo *et al.* (2011).

O estresse térmico e, por consequência a hipóxia, provocou alterações na concentração de albumina entre os momentos. Segundo Hasegawa *et al.* (2002) e González (2000), sua síntese é influenciada pela nutrição, podendo ser afetada pelo aporte de proteína na ração, disponibilidade de aminoácidos, balanço hormonal, estado geral do fígado e estresse. Um fator que pode ter contribuído para a diminuição da albumina do grupo submetido ao estresse foi o reduzido consumo de ração em função da diminuição da concentração oxigênio dissolvido da água. De acordo com Leite (1995), uma das funções da albumina, durante ou após o estresse, é servir como transportador de aminoácidos do fígado para os tecidos periféricos.

Desta forma, dentro do maior nível proteico, os animais alimentados com alta energia, apresentaram melhor saúde quando comparado com os animais alimentados com baixa energia. Tal fato pode ser explicado pela inclusão de lipídeos na dieta, sendo que esta aumenta as reservas energéticas dos peixes melhorando a resistência ao estresse.

5. Conclusão

A dieta com 32,0% PD, 3500 kcal ED kg⁻¹ (perfazendo a relação ED:PD de 109) e com suplementação de colina determinou melhor desempenho produtivo e higidez aos peixes de 87,0 a 245,0 g.

6. Referências Bibliográficas

- AOAC. (2000) *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. 17 ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Araújo D. M., Pezzato A.C., Barros M.M., Pezzato L.E. & Nakagomi F.K. (2011) Hematologia de tilapias do nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília* **46**, 294-302.
- Barros M.M., Pezzato L.E., Kleemann G.K., Hisano H. & Rosa G.J.M. (2002) Níveis de vitamina C e ferro para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* **31**, 2149-2156.
- Barros M.M., Ranzani Paiva M.J.T., Pezzato L.E., Falcon D.R. & Guimarães I.G. (2009) Hematological response and growth performance of Nile tilapia fed diets containing folic acid. *Aquaculture Research* **40**, 895-903.
- Barton B.A. & Iwama G.K. (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of cortivosteroids, *Annual Review Fish Diseases* **1**, 3-26.
- Barton B.A., Schreck C.B. & Fowler L.G. (1988) Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile Chinook salmon. *Progress Fish Culture* **50**, 16-22.
- Bonfim M.A.D., Lanna E.A.T., Donzele J.L., Abreu M.L.T., Ribeiro F.B., Quadros M. (2008) Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para

- alevinos de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia* **37**, 1713-1720.
- Boyd C.E. (1996) *Water quality in ponds for aquaculture*. Shrimp Mart, Songkhla, Thailand.
- Brown M.L., Nematipour G.R. & Gatlin D.M. III. (1992) Dietary protein requirement of juvenile sunshine bass at different salinities. *The progress Fish Culturist* **54**,148-156.
- Carlson R.E., Anderson D.P. & Bodammer J.E. (1993) In vivo cortisol administration suppresses the in vitro primary immune response of winter flounder lymphocytes. *Fish Shellfish Immunology* **3**, 299-312.
- Collier H.B. (1944) The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Mededical Association Journal* **50**, 550-552.
- Craig S.R. & Gatlin D.M. III. (1997) Dietary Choline Requirements of Juvenile Red Drum (*Sciaenops ocellatus*). *Journal of Nutrition* **126**, 1696 – 1700.
- El-Dahhar A.A. & Lovell R.T. (1995) Effect of protein to energy ratio in purified diets on growth performance, feed utilization and body composition of mossambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture Research* **26**, 451-457.
- Falcon D.R., Barros M.M., Pezzato L.E., Solarte W.V.N. & Guimarães I.G. (2008) Leucograma da tilápia-do-Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeo submetidas a estresse por baixa temperatura. *Ciência Animal Brasileira* **9**, 543-551.
- Fernandes Junior A.C., Barros M.M., Pezzato L.E., Guimarães I.G., Santos V.G. & Padovani C.R. (2010a) Desempenho Produtivo de tilápia-do-Nilo

alimentada com níveis de colina na dieta. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* **32**, 163-167.

Fernandes Junior A.C., Pezzato L.E., Guimarães I.G., Teixeira C. P., Koch J.F.A. & Barros M. (2010b) Resposta hemática da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com níveis crescentes de colina e submetida a estímulo por baixa temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia* **39**, 1619-1625.

Ferrari J.E.C., Barros M.M., Pezzato L.E., Gonçalves G.S., Hisano, H. & Kleemann, G.K. (2004) Níveis de cobre em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum* **26**, 429-436.

Furuya W.M., Pezzato L.E., Pezzato A.C., Barros M.M. & Miranda E.C. (2001) Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) *Revista Brasileira de Zootecnia* **30**, 1125-1131.

Furuya W.M., Botaro D., Macedo R.M.G., Santos V.G., Silva L.C.R., Silva T.C., Furuya V.R.B., Sales P.J.P. (2005) Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* **34**, 1433-1441.

Goldenfard P.B., Bowyer F.P., Hall E. & Brosius E. (1971) Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology* **56**, 35-39.

Gonçalves G.S., Pezzato L.E., Barros M.M., Hisano H. & Rosa M.J.S. (2009) Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-

doniloformuladas com base no conceito de proteína ideal. *Revista Brasileira de Zootecnia* **38**, 2289-2298.

González F.H.D. & SILVA, S.C. (2006) *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 357pp.

González F.H.D. (2000) Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: *Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais* (ed. by González F.H.D., Barcellos J.O., Ospina H., Ribeiro L.A.O.) Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil.

Graciano T.S., Natali M.R.M., Vidal L.V.O., Michelato M., Righetti J.S., Furuya W.M. (2010) Desempenho e morfologia hepática de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas suplementadas com metionina e colina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **45**, 737-743.

Halver E.J. (1989) *Fish Nutrition*. Academic Press, Inc, San Diego.

Hasegawa M.Y., Fontequé J.H., Kohayagawa A. & Boretti L.P. (2002) Avaliação do perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus gallus domesticus*) da linhagem avian farm. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* **4**, 203-207.

Jain N.C. (1986) *Shalm's Veterinary Hematology*, 4 ed. Lea & Febiger, Philadelphia.

Jauncey K. & Ross B. (1982) *A guide to tilapia feed and feeding*. Institute of Aquaculture, University of Sterling, Scotland.

- Kasper C.S., White M.R. & Brown P.B. (2000) Choline is required by tilapia when methionine is not in excess. *Journal Nutrition* **130**, 238-242.
- Kleemann G.K., Silva M.D.P., Pezzato L.E., Teixeira, C.P., Padovani, C. R. & Barros M.M. (2011) Farelo de algodão como sucedâneo do farelo de soja em rações para tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* **12**, 805-818.
- Leite J.I.A. (1995) Proteínas do plasma. In: *Química fisiológica* (ed. by Vieira E.C., Figueredo, E.A., Leite, J.I.A. et al.), pp. 9-16. Atheneu 2.ed. São Paulo.
- Lovell T. (1998) *Nutrition and feeding of fish*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 267pp.
- Mai K., Xiao L., Al Q., Wang X., Xu W., Zhang W., Liufu Z. & Ren M. (2009) Dietary choline requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* **289**, 124-128.
- McDonald D.G. & Milligan C.L. (1992) Chemical properties of the blood. In: *Fish Physiology* (ed by Hoar W.S. & Randall D.J.) pp. 55-133. London: Academic Press **12**, 55-133.
- McDowell L.R. (1989) *Vitamins in animal nutrition – Comparative aspects to human nutrition*. San Diego: Academic Press, pp. 486.
- Michael F.R., Koshio S., Teshima S., Ishikawa M. & Uyan, O. (2006) Effect of Choline and Methionine as Methyl Group Donors on Juvenile Kuruma Shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* **258**, 521-528,
- Michael F.R., Teshima S., Koshio S. (2011) Interactive effect of two methyl-group sources on the growth and phospholipids content of kuruma

shrimp *Marsupenaeus japonicas* bate post-larvae. *Aquaculture Nutrition* **17**, 701-707.

Milligan C.L. & Wood C.M. (1982) Intracellular and extracellular acid-base status and Hexchange with the environment after exhaustive exercise in the rainbow trout. *Journal of Experimental Biology* **123**, 92-121.

National Research Council - NRC. (1993) *Nutrient requirements of fish*. Washington, D.C. National Academic Press.: pp. 125.

National Research Council - NRC. (2011) *Nutrient requirements of fish and shrimp*. Washington, D.C. National Academic Press.: pp. 376.

Ogino C., Uki N., Watanabe T., Lida Z., Ando K. (1970) B vitamin requirements of carp. IV. Requirement for choline. *Bulletin Japanese Society Scientific Fisheries* **36**, 1140–1146.

Osol A., Chase S.W., Francis C.C., Nelhaus G., Princhard R.W., Richardson R.E., Wenger N.K. (1982) *Blakiston's pocket medical dictionary*. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, pp. 1169.

Peres H. (2011) *Protein and amino acid nutrition of marine fish species*. In Anais 4° Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes, ISSN: 2176-4077, 23 a 25 novembro, pp.87-114.

Pezzato L.E., Packer I.V., Pezzato A.C. Silveira A.C. (1986) Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetida a reversão sexual. In: Anais Simpósio Brasileiro de Aquicultura, pp. 70-71.

- Schreck C.B. (2000) Accumulation and long term affects of stress in fish. In:
The Biology of Animal Stress. (ed. by Moberg, G.P. e Mench, J.A.) pp.
 147-158. CAB International, Wallingford.
- Sumpter J.P. (1997) The endocrinology of stress. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture*, (ed. by Iwana, G.K., Pickering, J.P., Sumpter & Schreck, C.B.) pp. 95-118. University Press, Cambridge.
- Van Der Meer M.B., Zamora J.E. & Verdegem, M.C.J. (1997) Effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum*. *Aquaculture Research* **26**, 405-417.
- Wendelaar Bonga S. E. (1997) The stress response in fish. *Physiology* **77**, 591-625.
- Wilson R.P. & Poe W.E. (1988) Choline nutrition of fingerling channel catfish. *Aquaculture* **68**, 65-71.
- Wintrobe M.M. (1934) Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica, Leipzig* **51**, 32-49.
- Wu P., Feng L., Kuang, S., Liu Y., Jiang J., Hu K., Jiang W., Li S., Tang L. & Zhou, X. (2011) Effect of dietary choline on growth, intestinal enzyme activities and relative expressions of target of rapamycin and eIF4E-binding protein2 gene in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture* **317**, 107-116.
- Zar, J.H. (1999) *Biostatistical analysis*. 4^aed. New Jersey, Prentice-Hall, Inc., pp. 663.

TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e químico – bromatológica calculada das dietas experimentais

Ingrediente (%)	24%PD/3200	24%PD/3500	26%PD/3200	26%PD/3500	28%PD/3200	28%PD/3500	30%PD/3200	30%PD/3500	32%PD/3200	32%PD/3500
Farelo Soja	17,85	21,20	24,41	27,70	30,96	34,20	37,52	40,70	44,07	47,20
Farelo Trigo	22,61	7,57	20,40	5,68	18,19	3,79	15,97	1,89	13,76	0,00
F. de vísceras ¹	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Milho	36,83	44,03	32,66	39,58	28,48	35,12	24,30	30,66	20,13	26,21
L - Lisina	0,31	0,28	0,23	0,21	0,16	0,14	0,08	0,07	0,00	0,00
DL - Metionina	0,15	0,17	0,12	0,13	0,09	0,10	0,05	0,06	0,02	0,02
Triptofano	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00
Treonina	0,21	0,20	0,16	0,15	0,11	0,10	0,05	0,05	0,00	0,00
Óleo de Soja	0,00	4,50	0,00	4,51	0,00	4,53	0,00	4,54	0,00	4,55
NaCl ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix vit/min. ³	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
BHT ⁴	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Cloreto de colina	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição químico – bromatológica calculada das dietas										
ED (kcal/kg) ⁵	3202,63	3502,39	3203,41	3501,84	3202,70	3501,74	3203,16	3501,23	3203,03	3500,68
PD (%) ⁶	24,00	24,00	26,01	26,00	28,01	28,01	30,00	30,00	32,00	32,00
PB (%) ⁷	26,69	26,47	28,83	28,61	30,97	30,76	33,11	32,90	35,24	35,04
Fibra Bruta (%)	3,79	2,64	3,86	2,73	3,93	2,82	3,99	2,92	4,06	3,01
Ext. Etéreo (%) ⁸	4,68	8,84	4,62	8,79	4,56	8,75	4,50	8,70	4,43	8,65
Ca total (%) ⁹	0,89	0,87	0,90	0,89	0,91	0,90	0,92	0,91	0,93	0,92
P disponível (%) ¹⁰	0,64	0,62	0,64	0,63	0,65	0,63	0,65	0,64	0,66	0,64
Metionina (%)	0,54	0,55	0,54	0,55	0,54	0,55	0,54	0,54	0,54	0,54
AAS (%) ¹¹	0,91	0,91	0,94	0,93	0,97	0,96	1,00	0,99	1,03	1,01
Lisina (%)	1,52	1,52	1,61	1,62	1,71	1,72	1,81	1,82	1,90	1,92
Triptofano (%)	0,28	0,28	0,31	0,31	0,34	0,34	0,37	0,36	0,39	0,39
Treonina (%)	1,05	1,05	1,09	1,09	1,13	1,13	1,16	1,17	1,20	1,21
Colina (mg/kg)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
ED:PB/ED:PD ¹²	120/133	132/146	111/123	122/135	103/114	114/125	97/107	106/117	91/100	100/109
Amido (%)	32,36	32,54	29,88	29,98	27,38	27,40	24,90	24,85	22,42	22,29

¹Farinha de vísceras; ²Cloreto de sódio; ³Premix vitamínico e mineral (Mogiana Alimentos – níveis mínimos de garantia por kg de ração: Ácido Fólico: 10 mg; Cobre: 20 mg; Vit. B1: 32 mg; Vit. E: 250 UI; Vit. K3: 30 mg; Niacina: 170 mg; Manganês: 50 mg; Selênio: 0,70 mg; Vit. A: 16.000 UI; Vit. B2: 32 mg; Vita. C: 325 mg; Vit. D3: 4.500 UI; Vit. B6: 32 mg; Ferro: 150 mg; Iodo: 1 mg; Cobalto: 0,50 mg; Vit. B12: 32 mcg; Pantotenato de Cálcio: 80 mg; Zinco: 150 mg; Biotina: 10 mg); ⁴B-hidroxi tolueno – antioxidante; ⁵Energia digestível (kcal/kg); ⁶Proteína digestível (%); ⁷Proteína bruta (%); ⁸Extrato etéreo (%); ⁹Cálcio total (%); ¹⁰Fósforo disponível (%); ¹¹Aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) (%); ¹²Relação energia digestível proteína bruta / relação energia digestível proteína digestível.

Tabela 2. Análise químico-bromatológica das dietas (100% matéria seca)

Tratamentos (%PD/kcal ED/Colina)	PB (%)	EB (kcal kg ⁻¹)	FB (%)	EE (%)	Cinzas (%)	MS (%)
(24/3200/SC)	25,75	4383	4,76	2,65	8,64	93,37
(24/3200/CC)	24,78	4329	4,42	3,03	8,45	93,56
(24/3500/SC)	24,41	4651	3,71	8,25	8,51	91,61
(24/3500/CC)	25,96	4715	2,89	9,41	7,74	93,09
(26/3200/SC)	26,66	4461	5,41	2,21	9,00	92,47
(26/3200/CC)	27,57	4442	5,60	2,87	8,98	91,61
(26/3500/SC)	26,59	4798	3,17	9,38	8,36	91,29
(26/3500/CC)	25,94	4693	3,89	8,05	8,81	91,36
(28/3200/SC)	30,16	4465	5,79	3,35	9,50	90,38
(28/3200/CC)	28,16	4434	5,48	3,03	9,33	92,74
(28/3500/SC)	28,73	4570	4,96	7,93	9,27	93,27
(28/3500/CC)	29,03	4656	4,88	7,44	9,19	93,04
(30/3200/SC)	32,75	4461	7,23	1,96	9,73	92,79
(30/3200/CC)	30,37	4420	7,05	2,78	10,02	93,22
(30/3500/SC)	32,57	4680	4,77	8,33	9,38	93,06
(30/3500/CC)	30,63	4646	6,15	8,18	9,77	92,77
(32/3200/SC)	33,81	4399	8,23	2,40	10,35	93,03
(32/3200/CC)	33,74	4395	7,74	2,03	10,58	92,61
(32/3500/SC)	32,81	4668	5,47	9,53	10,06	93,62
(32/3500/CC)	31,09	4632	5,81	8,78	10,01	93,04

CC = com colina e SC = sem colina

Tabela 3 - Valores médios do ganho de peso (GP), consumo aparente de ração (CAR), conversão alimentar aparente (CAA), sobrevivência (SOB), taxa de crescimento específico (TCE), índice hepatossomático (IHS) e gordura visceral (GV) da tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias

		Variável						
		GP(g)	CAR(g)	CAA	SOB (%)	TCE (%)	IHS	GV
PD (%)	24,0	145,66	246,98	1,71	98,44	1,63	2,64 B	2,59 B
	26,0	156,13	258,15	1,66	100,00	1,70	2,42 AB	2,34 AB
	28,0	143,93	253,92	1,77	96,87	1,62	2,31 AB	2,32 AB
	30,0	151,58	248,98	1,66	100,00	1,66	2,16 AB	1,94 AB
	32,0	159,37	236,31	1,49	100,00	1,72	1,94 A	1,76 A
ED (kcal kg ⁻¹)	3200	152,72	237,27B	1,56	98,75	1,68	2,28	1,86 A
	3500	149,95	260,47A	1,75	99,37	1,66	2,30	2,52 B
colina (mg kg ⁻¹)	0	147,38	246,91	1,69B	99,37	1,64	2,26	2,14
	1000	155,29	250,82	1,63A	98,75	1,70	2,33	2,24
CV %		26,82	26,56	5,62	3,46	17,22	21,25	32,54
Probabilidade								
PD		ns	ns	<0,0001	ns	ns	0,0024	0,012
ED		ns	0,0019	<0,0001	ns	ns	ns	<0,0001
Col		ns	ns	0,0187	ns	ns	ns	ns
PB*ED		ns	ns	0,0018	ns	ns	ns	ns
PB*Col		ns	ns	ns	ns	ns	0,0146	ns
ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PB*ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns= não significativo; médias seguidas de letras distintas, maiúscula nas colunas, diferem (P<0,05) entre si

Tabela 4 - Desdobramento da interação entre proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) para a variável de conversão alimentar aparente (CAA) e da interação entre proteína digestível (PD) e colina (Col) para a variável de índice hepatossomático (IHS) da tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias

	PD (%)				
	24	26	28	30	32
*ED (kcal kg ⁻¹)					
3200	1,55±0,11aA	1,59±0,10aA	1,69±0,11bA	1,51±0,10aA	1,48±0,08aA
3500	1,87±0,11bB	1,73±0,07bA	1,86±0,10bA	1,81±0,10bB	1,50±0,14aA
**Col (mg kg ⁻¹)	24	26	28	30	32
0	2,91±0,64 B	2,10±0,36 A	2,14±0,47 A	2,17±0,41 A	1,99±0,50 A
1000	2,37±0,41 A	2,74±0,48 B	2,48±0,69 A	2,15±0,32 A	1,89±0,46 A

*médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha para o fator energia e maiúsculas na coluna para o fator proteína, diferem (P<0,05) entre si. ** médias seguidas de letras distintas diferem na coluna (P<0,05) entre si.

Tabela 5 - Valores médios do número de eritrócitos (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de tilápia-do-Nilo arraçados com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico

		Erit		Htc		Hb		VCM		CHCM	
		inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
PD (%)	24,0	2,04	1,93	35,33	32,56	7,68	7,19	174,16	169,57	21,87	21,97
	26,0	1,97	1,91	35,17	33,53	7,62	7,30	178,62	170,71	21,93	22,36
	28,0	2,01	1,90	35,25	34,37	7,58	7,38	176,12	178,69	21,61	22,21
	30,0	2,10	1,88	34,52	32,46	7,48	6,99	165,19	170,67	21,77	22,67
	32,0	2,03	1,99	34,81	33,76	7,88	7,47	171,7	166,67	22,50	22,71
ED (kcal kg ⁻¹)	3200	2,05	1,92	35,72	33,47	7,72	7,42	174,94	172,78	21,73	22,67
	3500	2,01	1,92	34,33	33,26	7,58	7,11	171,59	169,73	22,12	22,09
colina (mg kg ⁻¹)	0	2,03	1,92	35,17	32,94	7,66	7,18	173,35	166,36	21,78	22,63
	1000	2,02	1,92	34,89	33,73	7,64	7,35	173,19	175,37	22,05	22,15
CV (%)		9,63	11,96	11,13	11,86	9,75	12,05	11,07	11,14	9,99	9,67
Probabilidade											
Momento (inicial e final)		0,0001		ns		0,0002		ns		ns	
PD		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns= não significativo

Tabela 6 - Valores médios inicial e final do número de proteína plasmática (PPT), albumina (Alb), globulina (Glob), relação albumina globulina (A:G) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçados com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico

		PPT (mg dl ⁻¹)		Alb (mg dl ⁻¹)		Glob (mg dl ⁻¹)		A:G		Glic (mg dL ⁻¹)	
		inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
PD (%)	24,0	3,42	3,40	1,27	1,00	2,14	2,41	0,66	0,44	34,25	52,68
	26,0	3,40	3,52	1,09	0,96	2,31	2,59	0,50	0,37	37,84	45,38
	28,0	3,50	3,57	1,11	0,97	2,36	2,69	0,51	0,33	37,06	53,52
	30,0	3,46	3,15	1,15	1,04	2,30	2,15	0,55	0,50	31,27	52,89
	32,0	3,31	3,39	1,41	1,00	1,89	2,48	0,83	0,36	34,55	46,12
ED (kcal kg ⁻¹)	3200	3,42	3,44	1,23	1,01	2,17	2,53	0,62	0,42	33,43	48,52
	3500	3,41	3,39	1,16	0,98	2,27	2,39	0,57	0,39	36,65	51,58
colina (mg kg ⁻¹)	0	3,43	3,37	1,24	0,98	2,18	2,44	0,63	0,40	36,72	48,92
	1000	3,41	3,45	1,16	1,00	2,26	2,47	0,56	0,41	33,21	50,98
CV (%)		10,57	11,78	32,03	20,07	20,43	18,01	50,74	40,68	26,72	29,23
Probabilidade											
Momento (inicial e final)		ns		<0,0001		0,0016		ns		<0,0001	
PD		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns= não significativo

Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão quando significativo, do número de eritrócitos (Erit), taxa de hemoglobina (Hb), concentração de albumina (Alb), globulina (Glob) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçados com níveis de proteína digestível (%), energia digestível (kcal ED kg⁻¹), colina (mg kg⁻¹) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico

Variável			Eritrócito (10 ⁶ µL ⁻¹)		Hemoglobina (g dL ⁻¹)		Albumina (mg dl ⁻¹)		Globulina (mg dl ⁻¹)		Glicose (mg dL ⁻¹)	
PD	ED	Col	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
24	3200	0	2,14	1,96	7,66	7,18	1,44	1,00	2,26	2,43	32,00±8,68a	43,92±7,36b
		1000	2,11	2,08	7,94	7,77	1,31	1,07	2,03	2,74	29,37±7,88a	56,23±16,62b
24	3500	0	1,96	1,89	7,64	6,82	1,35	1,00	2,12	2,42	41,00±7,61a	62,59±13,60b
		1000	1,95	1,78	7,48	6,99	0,88	0,93	2,16	2,15	34,69±8,34a	53,44±5,06b
26	3200	0	1,94	1,84	7,91	7,36	0,97	0,91	2,51	2,62	34,47	42,47
		1000	1,92	1,92	7,74	7,31	1,06	1,14	2,22±0,33a	2,75±0,20b	34,94	39,78
26	3500	0	2,01	1,88	7,30	7,11	1,17	0,97	2,12	2,59	43,98	49,95
		1000	1,99	2,00	7,55	7,41	1,21±0,30a	0,81±0,10b	2,41	2,49	37,86	51,15
28	3200	0	1,97	1,86	7,28	7,02	1,19	1,14	2,08	2,30	30,87±6,25a	47,95±9,77b
		1000	1,97	1,99	7,84	8,15	1,16	0,90	2,23±0,24a	3,02±0,09b	34,94±7,67a	50,40±8,06b
28	3500	0	1,95	1,79	7,48	6,85	0,97	0,89	2,61	2,55	41,36±14,29a	67,90±11,87b
		1000	2,16	1,98	7,70	7,50	1,14	0,98	2,44	2,58	38,96	50,02
30	3200	0	2,18±0,15a	1,91±0,20b	7,74	7,29	1,08	0,89	2,34	2,55	33,61	43,07
		1000	2,03±0,22a	1,76±0,12b	7,09	7,15	1,10	1,16	2,36	1,97	29,39±4,42a	42,77±4,01b
30	3500	0	2,16	1,98	7,81±1,03a	6,83±1,02b	1,31	0,96	1,87	2,14	32,27±3,55a	47,48±3,79b
		1000	2,02	1,89	7,30	6,67	1,16	1,09	2,69	2,09	29,80±4,93a	48,69±9,43b
32	3200	0	1,99	1,98	7,96	7,90	1,81±0,26a	1,04±0,36b	1,34±0,19a	2,83±0,30b	42,60	44,77
		1000	2,21	1,90	8,06±0,94a	7,06±1,30b	1,25±0,26a	0,85±0,15b	2,08	2,32	34,92±6,84a	47,98±5,79b
32	3500	0	2,02	2,14	7,84	7,40	1,20	1,06	2,06	2,36	31,88±0,87a	48,52±9,73b
		1000	1,88	1,92	7,67	7,50	1,32	1,07	2,04	2,70	28,12±6,69a	41,80±0,99b

Médias seguidas de letras distintas diferem entre os momentos (P<0,05)

Tabela 8 - Valores médios da porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos de tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 60 dias e submetidas a estresse térmico

		Linfócito (%)		Neutrófilo (%)		Monócito (%)	
		inicial	final	inicial	final	inicial	final
PD (%)	24,0	92,16	91,94	5,63	6,94	2,22	1,13
	26,0	90,56	92,41	7,09	6,41	2,34	1,19
	28,0	93,91	92,94	4,78	5,84	1,31	1,22
	30,0	93,48	91,56	4,59	7,09	1,97	1,34
	32,0	91,06	94,28	6,63	4,66	2,31	1,03
ED (kcal kg ⁻¹)	3200	91,45	92,58	6,31	6,21	2,24	1,20
	3500	93,00	92,68	5,18	6,16	1,83	1,16
colina (mg kg ⁻¹)	0	91,91	91,89	6,18	6,93	1,95	1,18
	1000	92,54	93,36	5,35	5,45	2,11	1,19
CV (%)		5,24	5,42	69,69	75,11	58,40	68,20
Probabilidade							
Momento (inicial e final)		ns		ns		ns	
PD		ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns
Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns= não significativo

Capítulo III

Desempenho e respostas fisiológicas em tilápias-do-Nilo alimentadas com níveis de proteína e energia digestíveis e colina em tanques-rede e submetidas a estresse por classificação

Desempenho e respostas fisiológicas em tilápias-do-Nilo alimentadas com níveis de proteína e energia digestíveis e colina em tanques-rede e submetidas a estresse por classificação

Resumo: A exigência em proteína e energia digestíveis e colina não foram determinadas em sistema intensivo. Este estudo avaliou as respostas fisiológicas e de desempenho produtivo da tilápia-do-Nilo alimentadas com níveis de proteína e energia digestíveis e colina durante 119 dias. Juvenis com peso médio inicial de $147,0 \pm 15,0$ g, distribuídos em 80 tanques-rede (TR) de $1,0 \text{ m}^3$, na densidade de 150 peixes TR^{-1} . O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 tratamentos em esquema fatorial $5 \times 2 \times 2$ com quatro repetições. Os tratamentos foram 24,0; 26,0; 28,0; 30,0 e 32,0% proteína digestível (PD); 3200 e 3500 kcal kg^{-1} energia digestível (ED) e 0,0 e 1000 mg colina kg^{-1} . Foram determinados os parâmetros de desempenho produtivo e respostas fisiológicas antes e após o manejo por classificação, além da análise econômica. Observou-se efeito poupador da proteína, em função do nível energético; as dietas com maiores teores de proteína determinaram maior rendimento de filé; a colina melhorou a eritropoiese após estresse; os peixes alimentados com dietas com 24,0% PD determinou maior porcentagem de extrato etéreo no fígado, independentemente da dieta os peixes apresentaram degeneração dos hepatócitos e 28% PD/3200 kcal kg^{-1} determinou melhor custo para produção de peixe inteiro e 30% PD/3200 kcal kg^{-1} para produção de filé. Avaliando a higidez, desempenho e índices econômicos de produção dos peixes, recomenda-se a utilização de dietas suplementadas com colina e formuladas com 28,74% PD/3200 kcal ED kg^{-1} ; e para melhor rendimento de filé 30,0% PD/3200 kcal ED kg^{-1} . Considerando-se a energia de 3500 kcal ED kg^{-1} o melhor nível proteico para desempenho e a higidez dos peixes é de 27,25% PD.

Palavra chave: hematologia, manejo, nutrição e saúde, *Oreochromis niloticus*, cloreto de colina, sistema intensivo

Performance and physiological responses of Nile tilapia fed with digestible protein and energy and choline in net cages and submitted to size classification-stress

Abstract: Digestible protein, energy and choline requirements have not been determined in intensive by Nile tilapia. This study evaluates physiological responses and growth of Nile tilapia fed increasing levels of digestible protein, digestible energy and choline. Juvenile Nile tilapia (147.0 ± 15.0 g) were randomly distributed into 80 1m^3 cages (150 fish per cage), and fed diets containing 24.0; 26.0; 28.0; 30.0 and 32.0% digestible protein (DP), 3200 and 3500 kcal kg^{-1} digestible energy (DE) and 0.0 and 1000 $\text{mg choline kg}^{-1}$ diet in a totally randomized design trial ($n=4$), $5 \times 2 \times 2$ factorial arrangement. Growth performance and physiological responses before and after size fish classification, and costs of production were evaluated. Fish fed the highest energy level showed a sparing effect of protein; fish fed diets with the highest protein level had the highest fillet yield; dietary choline supplementation improve erythropoiesis after stress; fish fed diets with 24.0% DP had the highest ether extract in liver; independently of the treatment all fish showed hepatocytes degeneration; 28.0% DP/3200 kcal DE kg^{-1} determined the best cost for fish production and 30% DP/3200 kcal DE kg^{-1} for fillet production. Considering health, growth performance and economic indices it is recommended a diet with 28.74% DP/3200 kcal DE kg^{-1} supplemented with choline, and for the highest fillet yield 30.0% PD/3200 kcal DE kg^{-1} . For a 3500 kcal DE kg^{-1} diet the best protein level for growth performance and health is 27.25% DP.

Keys-words: hematology, manage, nutrition and health, *Oreochromis niloticus*, choline chloride, intensive system

1. Introdução

A nutrição de peixes necessita ainda estabelecer padrões de exigências, principalmente em saúde, que possam ser utilizadas pelos nutricionistas. Vários fatores interferem na determinação da exigência dos peixes, como: serem organismos aquáticos, fatores ambientais, fase de vida, saúde e dieta. Ainda, as informações obtidas de experimentos laboratoriais, possivelmente não refletem a real resposta dos peixes em sistemas de criação.

Na busca do ótimo biológico pelos nutricionistas, deve-se considerar o ótimo econômico, pois não necessariamente, a melhor resposta de desempenho proporciona o menor custo de produção; a mesma conotação pode ser utilizada para higidez. A proteína é o componente mais caro da dieta, assim como fontes de lipídeos, portanto, determinar a real exigência de proteína digestível e energia digestível é importante para melhora de desempenho, saúde e maior rentabilidade ao produtor, além de impactar menos o ambiente. A maioria dos produtores têm utilizado dietas com 32,0% de proteína bruta durante todo o ciclo de produção, nível este acima do recomendado por alguns autores (Pezzato et al. 1986; Furuya et al. 2005; Bonfim et al. 2008). Em relação ao teor energético, ainda não é bem elucidado para tilápia-do-Nilo em sistema intensivo de produção (tanques-rede), uma vez que, esse componente pode poupar proteína, desta forma a exigência proteica poderia ser menor, diminuindo a excreção de nitrogênio ao ambiente.

As proteínas correspondem aos nutrientes de máxima importância, pois são os componentes constituintes do organismo animal em crescimento e o perfil aminoacídico é decisivo para a sua qualidade e determina seu valor como componente da dieta (Pezzato, 1999). A alimentação é responsável pela maior parte do custo de produção na tilapicultura (50 a 70%). Este fato se deve principalmente aos altos níveis de proteína bruta (PB) utilizados nas rações. Para que não sejam fornecidos níveis excessivos desse nutriente, torna-se de fundamental importância determinar as exigências protéicas dos animais para cada fase de criação (Furuya et al. 1996), para formulação de uma ração bem balanceada e de menor custo (Shiau and Lan, 1996).

É de fundamental importância o fornecimento de ração com adequado teor de proteína digestível e balanço aminoacídico, pois a porção protéica que não for digerida e absorvida será excretada. O suprimento dietário de proteína é um dos principais fatores que influenciam a produtividade dos peixes e a produção de resíduos nitrogenados que são excretados na água (Tibbetts et al. 2000), que pode resultar em

redução no desempenho dos animais e poluição do ambiente de criação e dos corpos d'água que receberem os efluentes. Segundo Mires et al. (1990), verifica-se atualmente que a principal fonte de poluição em sistemas intensivos de cultivo de peixes é proveniente do fornecimento de alimentos ricos em proteína.

Um dos problemas que tem sido observado, nos peixes, é a esteatose hepática, causado possivelmente pelo excesso de proteína, energia, carboidrato e/ou a inadequada relação entre esses componentes. Várias pesquisas demonstraram que a colina pode melhorar o estado do fígado (Ogino et al. 1970; Osol et al. 1982; Wilson and Poe 1988; Graciano et al. 2010), porém ainda faltam estudos para melhor esclarecimento deste fenômeno.

Em um sistema de produção intensivo de peixes existem muitos fatores estressores. Dentre eles destacam-se a temperatura da água, que pode sofrer alterações abruptas, principalmente durante épocas de inverno e verão, altas densidades de estocagem e ainda os diferentes manejos exigidos neste sistema como classificação, despesca e transporte. De modo geral os animais quando bem nutridos podem suportar o estresse por um período finito sem afetar a saúde, porém há diminuição do crescimento e da reprodução para manutenção da homeostase. Entretanto quando o período é prolongado a condição geral de saúde dos animais é prejudicada (Barton and Iwama, 1991).

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as respostas fisiológicas e de desempenho da tilápia-do-Nilo em piscicultura de tanques-rede e alimentadas com níveis de proteína e energia digestíveis e colina, submetidas ao estresse por classificação e ainda, uma avaliação econômica produtiva da dieta.

2. Material e métodos

2.1. Peixes e procedimento experimental

Foram utilizados juvenis de tilápia Tailandesa, linhagem Supreme, proveniente da Piscicultura Fernandes – São Manuel/SP. Os juvenis foram transportados para Piscicultura Fernandes II (latitude 22°56'41,47", longitude 50°10'39,06"), na cidade de Palmital/SP, onde o experimento foi desenvolvido. Os peixes foram alojados em tanques-rede (TR) de 6,0m³ na densidade de 2300 por TR, onde permaneceram por 25 dias, para adaptação. Após a montagem do experimento, a reposição de animais foi efetuada pelo período de dez dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2x2, sendo compostos os tratamentos por cinco níveis de proteína digestível (PD) (24,0; 26,0; 28,0; 30,0 e 32,0% de PD), dois níveis de energia digestível (ED) (3200 e 3500 kca ED kg⁻¹ de dieta) e dois níveis de colina (Col) (0,0 e 1000 mg kg⁻¹ de dieta), Os tratamentos foram distribuídos completamente ao acaso entre os tanques-rede, sendo quatro tanques rede por tratamento e 150 peixes/m³.

Após o período de adaptação, juvenis com 147,0 ± 15,0 g foram distribuídos em 80 tanques-rede de 1,0 m³. O experimento foi desenvolvido no período de 09 de março à 05 julho de 2011, totalizando 119 dias experimentais. No início a temperatura da água foi de 24,0 °C, e diminuiu gradativamente, atingindo 21,0 °C no dia 04 de maio e 18,0 °C em 04 de junho. A partir desta data a temperatura manteve-se entre 17,0 e 18,0 °C.

O arraçoamento foi efetuado inicialmente de acordo com tabela adaptada de alimentação para peixes de uma indústria de ração e dividida em três porções ao longo do dia (08:00; 13:00 e 17:00 horas), até a temperatura atingir 21,0 °C (Tabela 1). Posteriormente, o número de alimentações foram reduzido para duas (10:30 e 16:30 horas) e, a quantidade de ração foi ajustada de acordo com a temperatura e comportamento dos peixes na hora da alimentação, sendo observado se havia sobras de ração 30 minutos após o arraçoamento. Em função de problemas meteorológicos, dos 119 dias experimentais, em oito não foi possível executar a alimentação. Neste período, foi fornecido 133,62 kg de ração TR⁻¹.

Diariamente foi medida a temperatura da água e, semanalmente, o pH, o teor de oxigênio dissolvido, saturação de oxigênio dissolvido, sólidos totais dissolvidos e a amônia total utilizando-se sonda YSI 556®. Os resultados obtidos de qualidade de água foram 20,5±3,5°C; 7,25±0,2; 7,23±0,2 mg L⁻¹; 76,0±5,0%; 0,63±0,6 mg L⁻¹; 0,06±0,00 mg L⁻¹, respectivamente. Determinou-se ainda, no Laboratório de Química da Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA os parâmetros: alcalinidade total, clorofila, condutividade, dureza total, fosfato total, matéria orgânica, nitrato e nitrito, obtendo-se os seguintes resultados: 20,6 ppm CaCO₃ L⁻¹; < 0,1 ppb; 10,38 µS cm⁻¹; 27,8 ppm; 0,1ppm P – PO₄; 35,76 ppm; 0,4 ppm e 0 ppm, respectivamente, sendo considerados adequados para a espécie estudada (Boyd, 1996).

Ao final de 119 dias, foram determinados os resultados de desempenho produtivo: Biomassa Final (BF); Peso médio final (PMF); Ganho de peso do lote (GPL); Ganho de peso médio (GPM); Conversão alimentar aparente (CAA); Taxa de sobrevivência (SOB); Taxa de crescimento específico (TCE); Taxa de eficiência

proteica (TEP); Gordura visceral (GV); Índice hepatossomático (IHS) e Rendimento de filé (RF).

Sendo:

BF (g) = peso de todos os animais do lote ao final do experimento;

PMF (g) = BF / número de animais;

GPL (g) = biomassa final (g) – biomassa inicial (g);

GPM (g) = GPL / número de animais;

CAA = quantidade de ração fornecida (g) / ganho de peso (g);

SOB = % animais vivos;

TCE = ((log peso final – log peso inicial)/tempo) x 100;

TEP = [ganho de peso (g)/proteína consumida (g)];

GV = (peso gordura (g)/peso corporal (g)) x 100;

IHS = (peso fígado (g)/peso corporal (g)) x 100;

RF (%) = (peso do filé (g)/peso do peixe(g)) x 100;

O rendimento de filé foi efetuado por mão de obra especializada e as análises químico-bromatológicas destes foram realizadas conforme metodologia da AOAC (2000). Foram coletados cinco fígados por tratamento para análises de extrato etéreo. Para esta análise os fígados foram liofilizados e posteriormente foi utilizada a metodologia de lavagem sucessiva da amostra com o solvente éter de petróleo, em aquecedor Cibelin e conjunto extrator de Soxhlet (AOAC, 2000).

2.2. Dietas

Foram formuladas as rações com 24,0 e 32,0% PD com 3200 e 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta, o restante foi obtido pelo método de diluição. Estas apresentam níveis de aminoácidos (Tabela 2) conforme determinado por Furuya et al. (2001) e demais nutrientes segundo NRC (1993).

Composição das demais dietas:

26,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ = 75% de 24,0% PD/3200 + 25% 32,0% PD/3200

26,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹ = 75% de 24,0% PD/3500 + 25% 32,0% PD/3500

28,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ = 50% de 24,0% PD/3200 + 50% 32,0% PD/3200

28,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹ = 50% de 24,0% PD/3500 + 50% 32,0% PD/3500

30,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ = 25% de 24,0% PD/3200 + 75% 32,0% PD/3200

30,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹ = 25% de 24,0% PD/3500 + 75% 32,0% PD/3500

As dietas experimentais (20 tratamentos) foram compostas pelas dez fórmulas apresentadas, sendo que cada uma compõem dois tratamentos: com adição ou sem adição de colina. As dietas foram confeccionadas na fábrica de ração Leben Alimentos®, localizada no município de Macatuba/SP. Os ingredientes foram moídos de forma a apresentar partículas com diâmetro inferior a 1,00 mm (DGM) e homogeneizados com auxílio de misturador horizontal. Posteriormente foram extrudadas a 70,0 – 90,0 °C em extrusora Tecnal® industrial de rosca simples com capacidade de produção de 1500 kg hora⁻¹, apresentando grânulos próximos a 5,0 mm (DGM). As rações foram secas em secador de esteira Tecnal® à 180 °C por 15 minutos. Após este processo as dietas estavam com umidade inferior a 12%, em seguida as dietas com 3500 kcal ED kg⁻¹ recebiam banho de óleo de vísceras de aves a 55,0 °C para melhor incorporação, posteriormente as rações seguiam para o resfriador para depois serem identificadas e embaladas em sacos de rafia.

Os preços dos ingredientes utilizados nos cálculos do custo das dietas foram fornecidos pela Indústria LEBEN Alimentos®, Macatuba-SP, Brasil, tendo como base o preço de compra dos produtos pela fábrica. Os seguintes valores foram utilizados no cálculo do custo das dietas experimentais (R\$ kg⁻¹, cotação em março/2012): farelo de soja: R\$ 0,75; Farelo de trigo: 0,44; Farinha de vísceras de aves: 1,00; Milho: 0,50; Óleo de vísceras de aves: 2,10; Sal comum: 0,38; Premix vitamínico/mineral: 5,00; Moldzap: 4,70; Banox: 8,36; L-Lisina: 5,60; DL-Metionina: 11,00; L-Triptofano: 49,70; L-Treonina: 7,00. O custo do processamento e da sacaria foi incluído no preço da ração, com os valores de R\$ 0,25 kg⁻¹ de dieta e R\$ 0,25 saco⁻¹, respectivamente. O valor do frete adicionado ao produto final foi de R\$ 50,00 tonelada⁻¹ de ração. As análises químico-bromatológicas das dietas foram realizadas conforme metodologia proposta pela AOAC (2000) e executadas no Laboratório de Bromatologia do

Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ, UNESP, Câmpus de Botucatu (Tabela 3).

2.3. *Respostas fisiológicas*

A avaliação dos parâmetros fisiológicos antes do estresse foi realizada anteriormente à determinação dos parâmetros de desempenho produtivo. Para avaliação dos parâmetros hematológicos foram retirados, aleatoriamente, sete peixes por tratamento. Os peixes primeiramente foram anestesiados com benzocaína, na concentração $0,1 \text{ g L}^{-1}$ (1,5 g do anestésico em 15,0 L de água), e após a completa dessensibilização, foi coletado sangue por meio de punção do vaso caudal com auxílio de seringa de 1,0 mL, banhada com anticoagulante (EDTA 3,0%). A contagem do número de eritrócitos (Erit) foi realizada pelo método do hemocitômetro em câmara de Neubauer, utilizando-se como diluente e corante a solução azul de toluidina a 0,01%. Este foi colocado em ependorf na diluição 200:1 (azul de toluidina:sangue) com auxílio de pipeta automática. A diferenciação dos leucócitos foi realizada em extensão sanguínea, corada com May-Grünwald Giemsa. A taxa de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina utilizando-se kit comercial Analisa Diagnóstica[®], para determinação colorimétrica, segundo Collier (1944). A porcentagem de hematócrito (Htc) foi determinada pelo método do microhematócrito, segundo Goldenfarb et al. (1971). A proteína plasmática total (PPT) foi mensurada por meio do uso de refratômetro manual de Goldberg, pela quebra do tubo de microhematócrito logo acima da camada de leucócitos, após a leitura do hematócrito. A análise de albumina sérica (Alb) foi efetuada utilizando-se kit de análise (Analisa Diagnóstica[®]) e as globulinas (Glob) foram determinadas por cálculo diferencial ($\text{Glob} = \text{PPT} - \text{Alb}$). Após a determinação das concentrações de albumina e globulina foi calculada a relação albumina: globulina (A:G) (Jain, 1986). As análises de glicose (Glic) foram realizadas utilizando-se o kit comercial Analisa Diagnóstica[®]. Posteriormente a essas análises, foram calculados os índices hematimétricos volume corpuscular médio [$\text{VCM} = (\text{Htc} \times 10) / \text{eritrócitos}$] e concentração de hemoglobina corpuscular média [$\text{CHCM} = (\text{Hb} \times \text{Htc}) \times 100$], segundo Wintrobe (1934).

2.4. *Estresse por manejos*

Após a avaliação dos parâmetros fisiológicos, foram determinados os resultados de desempenho produtivo durante três dias. Posteriormente os peixes foram submetidos ao manejo de classificação durante dois dias. No dia subsequente foram avaliados os mesmos parâmetros fisiológicos anteriormente descritos sendo igualmente utilizados sete peixes por tratamento.

2.5. *Análise histopatológica do fígado*

Os fígados foram coletados imediatamente após o abate dos peixes, para tal, utilizou-se solução alcoólica concentrada de benzocaína ($3,0 \text{ g } 15\text{L}^{-1}$). Posteriormente três fígados por tratamento foram fixados em solução tamponada de formol a 10% e processados para inclusão em parafina. Foram confeccionados cortes histológicos em micrótomo rotativo de $5\mu\text{m}$ e corados por Hematoxilina e Eosina (HE).

Para avaliação histológica foi realizada somente análise descritiva que constituía da graduação da degeneração celular em escores, sendo que: 1 = equivale de 0 a 25% de hepatócitos degenerados; 2 = 26 a 50% de hepatócitos degenerados; 3 = 51 a 75% de hepatócitos degenerados e 4 = mais que 76% de hepatócitos degenerados. Essa avaliação foi realizada, simultaneamente, por três técnicos treinados. As lâminas receberam código, ao invés da identificação por tratamento, evitando análise tendenciosa.

2.6. *Análise econômica*

Para o cálculo da análise econômica foram utilizadas as seguintes variáveis:

1. Consumo de ração: Total de ração fornecida;
2. Biomassa final (kg): Σ peso dos peixes do tanque-rede ao término da pesquisa;
3. Rendimento de filé (%): $(\Sigma \text{ peso dos filés} / \Sigma \text{ peso animais}) \times 100$;
4. Quantidade de filé (kg): Rendimento de filé x biomassa final;

Considerou-se, ainda, as seguintes informações: custo de aquisição dos juvenis para engorda, preço da ração, custo de filetagem, preço de venda do peixe inteiro e preço de venda do filé. A partir deste conjunto de dados foram estimados os

indicadores econômicos, para a comercialização de peixes inteiros e filés, apresentados em R\$/tanque-rede (TR):

Receita Bruta de peixe inteiro (RBp) = preço de venda do peixe x biomassa final;

Receita Bruta do filé (RBf) = preço de venda do filé x quantidade de filés;

Custo de Produção de peixe inteiro (CPp): (custo de aquisição do juvenil para engorda) + (consumo de ração x preço da ração);

Custo de Produção de filé (CPf) = (custo de aquisição do juvenil para engorda) + (consumo de ração x preço da ração) + (quantidade de filé x custo de filetagem);

Foram calculados ainda:

Relação Benefício/Custo de peixe inteiro (RBCp) = RBp / CPp;

Relação Benefício/Custo de filé (RBCf) = RBf / CPf;

Os preços de compra dos juvenis (R\$ 700,00 milheiro⁻¹), venda de peixes inteiros (R\$ 3,60 kg⁻¹) e filés (R\$ 16,00 kg⁻¹), bem como o custo de beneficiamento dos filés incluindo mão-de-obra, gelo e embalagem (R\$ 2,00 kg⁻¹) foram indicados pela indústria de processamento, com base nos valores vigentes em março de 2012.

2.7. *Análise estatística*

Antes da realização das análises, os dados em porcentagem foram transformados em arco-seno de forma a obedecer à distribuição normal. As variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA) ($\alpha=0,05$) e, quando detectada diferenças significativas, foi aplicado o teste Tukey ($P=0,05$) de comparação de médias, e quando houve possibilidade, foi realizado a análise de regressão por meio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis Systems Institute, USA) (Zar, 1999).

3. Resultados

Houve interação significativa entre nível de PD e ED para: biomassa final, ganho de peso do lote, peso médio final, ganho de peso médio, conversão alimentar aparente e rendimento de filé. Houve interação significativa entre PD, ED e colina para TEP. Para a GV houve efeito significativo, em função da ED, sendo que 3500 kcal kg⁻¹ determinou a maior deposição de gordura nas vísceras. Houve ainda, interação significativa para PD e Col. A dieta com 24,0% PD determinou maior extrato etéreo no

fígado dos peixes. Para variável matéria seca dos filés, a dieta com 24% PD determinou maior valor em relação a dieta com 32% PD (Tabelas 4 e 5).

Quanto ao desdobramento da interação PD e ED para biomassa final observou-se que 3500 kcal ED kg⁻¹ determinou maior BF, tanto para 24,0, como para 26,0% PD. Comparando-se os níveis de PD observou-se que 28,0 e 30,0% PD determinaram maior BF quando comparado com 24,0%PD, com as dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹. Para 3500 kcal ED kg⁻¹, os níveis de 26,0; 28,0 e 30,0% PD determinaram os maiores níveis de BF, quando comparados a 32,0% PD (Tabela 6).

Para o desdobramento da interação proteína digestível e energia digestível observou-se que o nível de 3500 kcal ED kg⁻¹ determinou maior GPL para os níveis de 24,0 e 26,0% PD comparando-se com 3200 kcal kg⁻¹. Para 3200 kcal ED kg⁻¹, o maior GPL foi determinado para os peixes arraçoados com 28,0% PD, o qual diferiu de 24,0; 26,0 e 32,0% PD, sendo que o menor GPL foi com 24,0% PD. Para 3500 kcal ED kg⁻¹ o melhor resultado foi para 28,0 e 30,0% PD, os quais diferiram de 32,0% PD, sendo que ambos não diferiram dos demais (Tabela 6).

Para as variáveis PMF e GMP, observou-se desdobramento da interação entre PD e ED, demonstrando que o nível de 3500 kcal ED kg⁻¹ determinou o maior peso para os peixes alimentados com a dieta com 24,0% PD, quando comparado com 3200 kcal ED kg⁻¹. Comparando-se os níveis de PD determinou-se que, para 3200 kcal ED kg⁻¹ o maior PMF foi com 28,0 e 30,0% PD, os quais diferem de 24,0% (Tabela 6).

Referente a CAA, no desdobramento da interação PD e ED, observou-se que 24,0 e 26,0% PD diferiram entre os teores energéticos, sendo que 3500 kcal kg⁻¹ determinou o melhor aproveitamento da dieta. Para o nível de 3200 kcal ED/kg, 28,0% PD resultou em melhor CAA diferindo de 24,0; 26,0 e 32,0%. Para 3500 kcal kg⁻¹ o melhor CAA foi igualmente proporcionado pelo nível de 28,0% PD, porém não diferindo de 30,0% PD, sendo que ambos diferem de 32,0% (Tabela 6).

Houve efeito quadrático ($P < 0,05$) para as variáveis BF, GPL, PMF, GPM e CAA, sendo que os melhores níveis de proteína para 3200 kcal kg⁻¹ foram 28,68; 28,74; 29,18; 29,15 e 28,76% PD, respectivamente; utilizando-se 3500 kcal kg⁻¹ determinaram-se como melhores níveis, 27,29; 27,35; 27,32; 27,41 e 27,25% PD, respectivamente (Figuras 1 a 10).

Quando se desdobrou a interação PD, ED e colina em relação a TEP o nível proteico foi inversamente proporcional a TEP, e o maior nível energético determinou maior TEP em relação ao menor (Tabela 7). Para o rendimento de filé, o desdobramento da interação PD e ED mostrou que a dieta formulada com 32,0% PD e

3200 kcal ED kg⁻¹ determinou o melhor rendimento, porém não diferiu de 30,0%; os níveis de 24,0; 26,0 e 28,0% PD determinaram os menores valores RF. Para 3500 kcal ED kg⁻¹ o nível de 30,0% PD foi o que determinou maior valor, não diferindo, igualmente, de 32,0%, o qual também não diferiu de 24,0; 26,0 e 28,0% (Tabela 6). Com aumento dos níveis de proteína observou-se efeito linear ($P < 0,05$) para variável RF, sendo que o aumento desta foi diretamente proporcional ao aumento de proteína, não sendo afetada pelo nível energético (Figuras 11 e 12).

Já para GV, o desdobramento da interação proteína digestível e colina resultou em diferenças significativas somente para dietas formuladas com suplementação de colina, sendo que 30,0% PD foi a que resultou em maior acúmulo de gordura visceral, porém não diferiu de 24,0; 26,0 e 32,0% (Tabela 8). Igualmente ao acúmulo de gordura visceral foram observadas alterações no fígado dos peixes, tanto macroscópica, como microscopicamente. A avaliação macroscópica dos fígados dos peixes alimentados com dietas de 26 a 32% PD, após 119 dias, revelou cor, consistência e tamanho considerados normais. Embora dentro da normalidade, foi possível observar descréscimo gradativo da qualidade dos fígados à medida que se diminuiu o nível de proteína das rações. Peixes alimentados com dietas contendo 24% PD apresentaram anormalidade na cor, indicando aspecto gorduroso dos fígados (Figuras 13 a 17). Entretanto, as análises histológicas dos fígados demonstraram que, independentemente da dieta os animais tiveram algum grau de degeneração dos hepatócitos (Tabela 15 e Figuras 18 a 21). Não observou-se outra lesão hepatocelular digna de nota, somente a degeneração hidrópica e gordurosa.

Houve efeito de momento para Erit, VCM, Alb, relação A:G e glicose (Tabelas 9, 10 e 11). Observou-se que houve queda na síntese de Erit após o estresse por classificação e, que esses apresentaram, nesta condição, maior VCM. Essa resposta pode ser observada para os peixes alimentados com as dietas: 24,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ e 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, ambas sem a suplementação de colina. Por outro lado, os peixes alimentados com a dieta 26,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ e ausente de colina tiveram queda somente no Erit e, os alimentados com 26,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, com suplementação de colina somente aumento do VCM (Tabela 11).

Com relação a Alb o estresse determinou aumento da concentração nos peixes alimentados com 24,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, independente da suplementação de colina; 26,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, com suplementação de colina; 28,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, independente do nível de colina e 28,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, com colina; 30,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, sem colina e 30,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹,

independente da suplementação de colina; 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, com colina e 32,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, sem colina (Tabela 11).

O aumento da relação A:G ocorreu para os peixes arraçoados com as dietas: 24,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, independente da suplementação de colina; 26,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, com colina; 28,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, com e sem colina e 28,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, com colina; 30,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ sem colina e 30,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, com colina; 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, independente da suplementação de colina (Tabela 11).

Para a glicose houve aumento na concentração após estresse para os peixes alimentados com as dietas 26,0% PD/3200 kcal/kg, com e sem colina e 3500 kcal ED kg⁻¹, com colina; 28,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ e 28,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹, ambos com suplementação de colina; 30,0% PD, independentemente do nível energético e da suplementação de colina e 32,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, com e sem suplementação de colina (Tabela 11).

A avaliação individual dos momentos demonstrou efeito significativo do nível de PD para Alb e A:G antes do estresse de manejo, sendo que os maiores valores de Alb foram determinados para os peixes alimentados com as dietas com 26,0 e 28,0% PD, que não diferiram de 30,0%. Para a relação A:G os maiores valores foram determinados para os peixes alimentados com as dietas formuladas com 26,0 e 28,0% PD, que na diferiram de 32,0% (Tabela 10).

Referente a diferenciação de leucócitos, determinou-se que a porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos dos peixes não foram influenciadas pelas dietas após 119 dias e pelo estresse de classificação. Entretanto quando comparou-se os momentos, o período após o estresse, determinou linfopenia, neutrofilia e monocitofilia.

Para as análises econômicas, as melhores respostas para produção de peixe inteiro foram determinadas com a dieta 28,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, tendo a RBCp de 1,52. Já, para produção de filé a melhor dieta foi com 30,0% PD/3200 kcal ED, perfazendo RBCf de 1,85 (Tabela 13 e 14).

4. Discussão

A ingestão regular de proteínas é necessária, pois os aminoácidos são exigidos continuamente pelos peixes, tanto para síntese de novas proteínas (crescimento e reprodução) quanto para a reposição de proteínas degradadas para as funções de

manutenção de tecidos e órgãos. A utilização de dietas com quantidades insuficientes de proteína ou composição inadequada de aminoácidos podem causar redução no crescimento, piora da eficiência alimentar e perda de peso devido à mobilização de proteínas de alguns tecidos para manutenção das funções vitais. Entretanto, se há excesso de proteína em relação a exigência do peixe, somente parte desta será utilizada para formação de tecido muscular e crescimento, sendo que o restante será catabolizado para formação de energia e o excesso de nitrogênio será liberado no ambiente podendo provocar problemas ambientais, além de causar possíveis problemas fisiológicos aos peixes (Millward, 1989; Wilson, 1989; Peres, 2011).

Para que as dietas com baixa proteína sejam eficientes, necessitam estar energeticamente balanceadas, com lipídeo como fonte de energia, determinando, desta forma, que a proteína seja utilizada somente para síntese de novas proteínas. Diferentemente, no menor nível proteico sem suplementação energética, a fração proteína foi insuficiente para manutenção e síntese. Oposto a isso, o excesso não determinou o melhor desempenho. Os resultados descritos, corroboram a hipótese de De-Silva et al. (1992), Meyer and Fracalossi (2004), NRC (2011) os quais enfatizaram que a suplementação de lipídeos pode poupar a utilização de proteína da dieta como fonte de energia. As melhores respostas, foram determinadas utilizando-se as relações ED:PD próximas da exigência apresentada pelo NRC (2011), como sendo de 117, com 29,0% PD e 3400 kcal ED kg⁻¹ de dieta. Quanto mais distante deste valor, piores foram os resultados.

Tal fato pôde ser comprovado também pela análise econômica, cuja maior RBCp foi determinada com a dieta 28,0% PD/3200 kcal ED. Quanto mais distante dessa relação, menor RBCp. Em geral as dietas com 3500 kcal ED, se mostraram menos lucrativas em função do custo do óleo. A ração é considerada o agente direcionador do custo variável de produção, destacando-se como importante componente dos custos operacionais. Os valores desses itens oscilam consideravelmente, acompanhando os movimentos dos produtos agrícolas, principalmente soja e milho, que são as matérias-primas básicas (Andrade et al., 2005).

O aumento da TEP com a diminuição do nível proteico demonstra que o aminoácido sintético da dieta foi eficientemente aproveitado pelos peixes, e que, o lipídeo atua como poupador de proteína. Respostas semelhantes foram descritas por Daniels e Robinson (1986), Rojas e Verddegem (1994), Furuya et al. (2005) e Botaro et al. (2007).

Segundo Furuya et al. (2005) existe relação positiva entre rendimento de carne magra e quantidade de lisina e ou treonina nas dietas de animais monogástricos. Neste estudo, o maior nível proteico com menor suplementação sintética de aminoácidos determinou melhor RF. Essa resposta possivelmente foi obtida em função dos níveis de lisina e treonina nas dietas com maiores concentrações proteicas. Respostas semelhantes foram obtidas por Botaro et al. (2007) e Gonçalves et al. (2009). Tal fato, pode explicar também a maior RBCf para a dieta com 30,0% PD/3200 kcal ED, resposta esta diferente do recomendado para desempenho com 28% PD/3200 kcal ED.

A composição química do filé da tilápia pode variar de acordo com fatores como: época do ano, quantidade e qualidade da dieta, estágio de maturação sexual, idade e parte do corpo analisada (Castagnolli, 1979). Desta forma, existem grandes variações entre as resposta encontradas. Comparando-se com a composição dos filés dos peixes neste estudo, menores resultados de MS foram encontrados por Hisano et al. (2007), e maiores EE foram determinados por Graciano et al. (2010), sendo que os valores médios encontrados foram de 5,10% de EE, classificando-os como filé semi-gordo, uma vez que filés com mais que 10,0% de lipídeos são classificados com gordo; de 2,5 a 10,0% de lipídeos são semi-gordo e menos que 2,5%, magro. Desta forma, dietas com altos níveis enegéticos e proteicos, podem apresentar características que não comprometam a qualidade do filé. Os filés deste estudos foram classificados como magros, o que provavelmente torna esse produto de maior aceitação no mercado, além de aumentar a vida útil do mesmo. Resultados semelhantes foram encontrados por El-Sayed e Gaber (2005) e Gonçalves et al. (2009).

A alta concentração de carboidratos na dieta determinou maior porcentagem de extrato etéreo no fígado, característica esta observada tanto macroscópica, como histologicamente e, ainda maior GV pela alta relação ED:PD. Os peixes não aproveitam toda energia do lipídeo para o crescimento e, portanto, deslocam a parcela do lipídeo não aproveitada para ser depositada na cavidade abdominal (Jancey and Ross, 1982; Brown et al., 1992; Gonçalves et al., 2009). Alguns estudos determinaram valores de extrato etéreo no fígado da tilápia-do-Nilo, variando de 8,45 a 18,89% (Vieira et al., 2001; Falcon et al., 2007; Gonçalves et al., 2009), sendo esses valores menores do que os observados nesta pesquisa 24,32 a 44,16%. Independentemente da dieta utilizada, tal resposta pode explicar o alto grau de degeneração dos fígados dos peixes, sendo que 60% desses apresentavam mais que 76% de degeneração dos

hepatócitos e 27% apresentavam entre 51 e 75% de degeneração hepática. Resultados histológicos similares foram observados por Kasper et al. (2000) e Kasper et al. (2002) que determinaram extrato etéreo do fígado entre 38,2 e 70,8%.

Os efeitos do estresse nas respostas fisiológicas dependem da duração e severidade dos agentes estressores, da frequência e do número de exposições ao agente estressor (Schreck, 2000). Os peixes podem se adaptar a situações de estresse e, ainda, se tornarem condicionados ou habituados, em função de mudanças comportamentais e fisiológicas, quando os níveis de cortisol e catecolaminas retornam próximos aos do período pré-estresse, podem permanecer desta maneira durante dias ou até meses (Schreck, 2000). Entretanto, há custo energético para esta compensação o que pode determinar efeitos deletérios no desenvolvimento, reprodução e resistência a doenças.

A temperatura abaixo da zona de conforto, aliada a alta densidade pode ter determinado estresse, porém não refletiu no perfil hematológico, provavelmente em função do condicionamento proporcionado pela gradual queda da temperatura. Os valores estão próximos aos determinados em trabalhos realizados com esta espécie, porém, em condições experimentais laboratoriais (Barros et al., 2002; Ferrari et al., 2004; Fernandes Junior et al., 2010). Entretanto, o prejuízo na eritropoiese determinado pelo estresse agudo de classificação resultou no aumento da concentração de hemoglobina e da liberação de células imaturas, demonstrando a busca pela homeostase. Embora, segundo Feldman et al. (2000), num primeiro momento do estresse as glândulas hipófise, adrenal e tireóide participam da regulação da eritropoiese por meio de efeitos metabólicos e que os hormônios adrenocorticotrófico (ACTH), crescimento (GH), epinefrina e norepinefrina, os quais determinam aumento da eritropoetina, estimulando a síntese de eritrócitos, porém o estresse sofrido pode ter dificultado a manutenção da eritropoiese. A ausência de colina e da suplementação de óleo nas dietas pode ainda ter favorecido esta resposta, uma vez que a colina é componente da fosfatidilcolina, importante fosfolípideos de membrana.

Em sistemas intensivos de criação de peixes, o estresse é inevitável. Vários estudos têm demonstrado que o estresse exerce efeito depressivo sobre respostas imunológicas em peixes, como aumento nas proteínas totais séricas (Milligan and Wood, 1982; Mc Donald and Milligan, 1992) e diminuição na produção de anticorpos (imunoglobulinas - IgM) (Carlson et al., 1993). O aumento da PPT e queda da globulina reforçam a hipótese de que, independente das dietas experimentais, o

estresse agudo sofrido pelos peixes não permitiu o retorno à homeostase após quatro dias. O estresse pode ainda ser avaliado pela alteração na concentração de albumina (Hasegawa et al., 2002). O aumento da albumina pode estar relacionado com transporte de ácidos graxos livres exigidos durante o estresse, a serem utilizados como fonte de energia, especialmente pelo fígado e músculo (Kaneko, 1997). Outro parâmetro avaliativo do estresse é a concentração de glicose sanguínea. Igualmente aos parâmetros anteriormente apresentados a glicose aumentou após o estresse sofrido, independente da dieta experimental. Este aumento é consequência da ação das catecolaminas que disponibilizam energia num período curto por meio da glicogenólise (Sumpter, 1997). Resultados semelhantes foram descritos por Peters et al. (1980), Carneiro e Urbinati (2002), Gomes et al. (2003), Urbinati e Carneiro (2004), Merigue et al. (2004) e Evans et al. (2006).

O aumento da susceptibilidade dos peixes a doenças é decorrente da provável imunossupressão causada pelo estresse. O manejo de classificação, principalmente durante épocas de inverno, é considerado uns dos principais fatores estressores aos peixes. Como consequência, pode-se relatar ainda o aumento da suscetibilidade a patógenos oportunistas. A porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos dos peixes neste estudo, após o manejo de classificação, suporta esta hipótese.

A linfopenia nos peixes após estresse foi anteriormente reportada por Barton e Iwana (1991). Este quadro foi também observado neste estudo, ainda com aumento na produção de neutrófilos (neutrofilia) e monócitos (monocitofilia). Resultados semelhantes foram observados por Falcon et al. (2008), Barros et al. (2009), Fernandes Junior et al. (2010) e Araújo et al. (2011). Em situações de estresse, a liberação de catecolaminas e cortisol pode causar constrição esplênica, aumento do fluxo sanguíneo e migração dos leucócitos e, ainda, diminuição do número de células brancas totais e de linfócitos, juntamente com prejuízo nas funções fagocitárias das células (Barton and Iwana, 1991; McDonald and Milligan, 1992). Segundo Pickering e Pottinger (1985), a redução do número de linfócitos circulantes pode representar importante ligação entre a resposta ao estresse e o surgimento de doenças devido a elevação do nível plasmático de cortisol. Igualmente, Pickering (1986) relatou que a queda do número de linfócitos pode estar relacionada com a capacidade do peixe de se defender contra agentes patógenos. Independente da dieta, a avaliação do leucograma mostrou que após o manejo por classificação no período de inverno ocorreu maior produção de células fagocíticas, relacionadas à eliminação de microorganismos invasores, tais como, neutrófilos e monócitos.

5. Conclusão

Considerando-se a higidez, desempenho e índices econômicos de produção dos peixes, recomenda-se a utilização de dietas suplementadas com colina e formuladas com 28,74% PD/3200 kcal ED kg⁻¹, perfazendo a relação ED:PD de 111. Entretanto, a dieta com 30,0% PD/3200 kcal ED kg⁻¹ proporcionou melhor rendimento de filé aos peixes. No entanto para a dieta com 3500 kcal ED kg⁻¹, o melhor nível proteico para desempenho e a higidez dos peixes é de 27,25% PD.

6. Referências bibliográficas

- Andrade, R.L.B., Wagner, R. L., Mahl, I., Martins, R. S., 2005. Custo de produção de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em um modelo de propriedade da região oeste do Estado do Paraná, Brasil. *Ciência Rural* 35, 198-203.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2000. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 17th edition. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- Araújo, D. M., Pezzato, A.C., Barros, M.M., Pezzato, L.E., Nakagomi, F.K., 2011. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46, 294-302.
- Barros, M.M., Pezzato, L.E., Kleemann, G.K., Hisano, H., Rosa, G.J.M., 2002. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 31, 2149-2156.
- Barros, M.M., Ranzani Paiva, M.J.T., Pezzato, L.E., Falcon, D.R., Guimarães, I.G., 2009. Hematological response and growth performance of Nile tilapia fed diets containing folic acid. *Aquaculture Research* 40, 895-903.
- Barton, B.A., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids, *Annual Review Fish Diseases* 1, 3-26.
- Bonfim, M.A.D., Lanna, E.A.T., Donzele, J.L., Abreu, M.L.T., Ribeiro, F.B., Quadros, M., 2008. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 1713-1720.
- Botaro, D., Furuya, W.M., Silva, L.C.R., Santos, L.D., Silva, T.S.C.S., Santos, L.D., 2007. Redução da proteína, com base no conceito de proteína ideal, para a

- tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), criada em tanques - rede. Revista Brasileira de Zootecnia 36, 517-525.
- Boyd, C.E., 1996. Water quality in ponds for aquaculture. Shrimp Mart, Songkhla, Thailand.
- Brown, M.L., Nematipour, G.R., Gatlin, D.M. III, 1992. Dietary protein requirement of juvenile sunshine bass at different salinities. The progress Fish Culturist 54, 148-156.
- Carlson, R.E., Anderson, D.P., Bodammer, J.E., 1993. In vivo cortisol administration suppresses the in vitro primary immune response of winter flounder lymphocytes. Fish Shellfish Immunology 3, 299-312.
- Carneiro, P.C.F., Urbinati, E.C., 2002. Transport stress in matrinxã, *Brycon cephalus* (*Teleostei: Characidae*), at different densities. Aquaculture International 10, 221-229.
- Castagnolli, N., 1979. Fatores que influenciam a absorção de energia nos peixes. In: Fundamentos da nutrição de peixes. São Paulo: Livroceres.
- Collier, H.B., 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. Canadian Med. Assist. J. 50, 550-552.
- Daniels, W.H., Robinson, E.H., 1986. Protein and energy requirement of red drum. Aquaculture 53, 232-243.
- De-Silva, S.S., Gunasekera, R.M., Shim, K.F., 1992. Interactions of varying dietary-protein and lipid-levels in young red tilapia - evidence of protein sparing. Aquaculture 95, 305-318.
- El-Sayed, D.M.S.D. e Gaber, M.M.A., 2005. Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), cultured in concrete tanks. Aquaculture Research 36, 163-171.
- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Brill, G.C., Klesius, P.H., 2006. Un-ionized ammonia exposure in Nile Tilapia: toxicity, stress response, and susceptibility to *Streptococcus agalactiae*. North American Journal of Aquaculture 68, 23-33.
- Falcon, D.R., Barros, M.M., Pezzato, L.E., Sampaio, F.G., Hisano, H., 2007. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C and lipid diets and submitted to low temperature stress. Journal of the World Aquaculture Society 38, 287-295.
- Falcon, D.R., Barros, M.M., Pezzato, L.E., Solarte, W.V.N., Guimarães, I.G., 2008. Leucograma da tilápia-do-Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis

- de vitamina C e lipídeo submetidas a estresse por baixa temperatura. *Ciência Animal Brasileira* 9, 543-551.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C., 2000. *Shalm's Veterinary Hematology*, 5 ed. Lippincott Willian & Wilkins, Philadelphia.
- Fernandes Junior, A.C., Pezzato, L.E., Guimarães I.G., Teixeira, C.P., Koch, J.F.A., Barros, M., 2010. Resposta hemática da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com níveis crescentes de colina e submetida a estímulo por baixa temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 1619-1625.
- Ferrari J.E.C., Barros M.M., Pezzato L.E., Gonçalves G.S., Hisano, H., Kleemann, G.K., 2004. Níveis de cobre em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum* 26, 429-436.
- Furuya, W.M., Hayashi, C., Furuya, V.R.B., 1996. Exigência de proteína para machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), na fase juvenil. *Revista UNIMAR* 18, 307-319.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Pezzato, A.C., Barros, M.M., Miranda, E.C., 2001. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 30, 1125-1131.
- Furuya, W.M., Botaro, D., Macedo, R.M.G., Santos, V.G., Silva, L.C.R., Silva, T.C., Furuya, V.R.B., Sales, P.J.P., 2005. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 34, 1433-1441.
- Goldenfard, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosius, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Amer. J. Clinic Path*, Baltimore 56, 35-39.
- Gomes, L.C., Araujo-Lima, C.A.R.M., Roubach, R.; Urbinati, E.C., 2003. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. *Pesquisa. Agropecuária. Brasileira* 38, 283-290.
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Hisano, H., Rosa, M.J.S., 2009. Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do-nilo formuladas com base no conceito de proteína ideal. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38, 2289-2298.
- Graciano, T.S.; Natali, M.R.M.; Vidal, L.V.O.; Michelato, M.; Righetti, J.S.; Furuya, W.M., 2010. Desempenho e morfologia hepática de juvenis de tilápia-do-Nilo

- alimentados com dietas suplementadas com metionina e colina. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45, 737-743.
- Hasegawa, M.Y., Fonteque, J.H., Kohayagawa, A., Boretti, L.P. 2002. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus gallus domesticus*) da linhagem avian farm. Revista Brasileira de Ciência Avícola 4, 203-207.
- Hisano, H., Narváez-Solarte, W. V., Barros, M.M., Pezzato, L.E., 2007. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentadas com levedura e derivados. Pesquisa Agropecuária Brasileira 42, 1035-1042.
- Jain, N.C., 1986. Shalm's Veterinary Hematology, 4 ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jauncey, K., Ross, B., 1982. A guide to tilapia feed and feeding. Institute of Aquaculture, University of Sterling, Scotland.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 1997. (Eds.). Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. New York: Academic Press, 932pp.
- Kasper, C.S., White, M.R., Brown, P.B., 2000. Choline is required by tilapia when methionine is not in excess. Journal Nutrition 130, 238-242.
- Kasper, C.S., White, M.R., BROWN, P.B., 2002. Betaine can Replace Choline in Diets for Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 205, 119-126.
- McDonald, D.G., Milligan, C.L., 1992. Chemical properties of the blood. In: (Hoar, W.S., Randall, D.J.) Fish Fisiology. London: Academic Press, 12A, 55-133.
- Merighe, G.K.F., Pereira-da-Silva, E.M., Negrão, J.A., Ribeiro, S., 2004. Efeito da Cor do Ambiente sobre o Estresse Social em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Revista Brasileira de Zootecnia 33, 828-837.
- Meyer, G., Fracalossi, D.M., 2004. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. Aquaculture, 240, 331- 343.
- Milligan, C.L., Wood, C.M., 1982. Intracellular and extracellular acid-base status and Hexchange with the enviroment after exhaustive exescice in the rainbow trout. J. Exper. Biol. 123, 92-121.
- Millward, D. J., 1989. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. Aquaculture 79, 1-28.
- Mires, D., Amit, Y., Avnimelech, S., 1990. Water quality in a recycled intensive fish culture system under field conditions. The Israeli Journal of Aquaculture 42, 110-121.
- NRC (National Research Council), 1993. Nutrient requirements of fish. Washington, DC. National Academic Press.: 125pp.

- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL), 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, D.C. National Academic Press.: 376pp.
- Ogino, C., Uki, N., Watanabe, T., Lida, Z., Ando, K., 1970. B vitamin requirements of carp. IV. Requirement for choline. Bulletin Japanese Society Scientific Fisheries 36, 1140–1146.
- Osol, A., Chase, S.W., Francis, C.C., Nelhaus, G., Princhard, R.W., Richardson, R.E., Wenger, N.K., 1982. Blakiston's pocket medical dictionary. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, pp. 1169.
- Peres, H., 2011. Protein and amino acid nutrition of marine fish species. In *Anais 4º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes*, ISSN: 2176-4077, 23 a 25 novembro, 87-114,
- Peters, G., Delventhal, H., Klinger, H., 1980. Physiological and morfological effects of social stress in the eel (*Anguilla anguilla* L.). Archiv Fuer Fischerei Wissenschaft 30, 157-180.
- Pezzato, L.E., Packer, I.V., Pezzato, A.C. Silveira, A.C., 1986. Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetida a reversão sexual. In: *Anais Simpósio Brasileiro de Aquicultura*, pp. 70-71.
- Pezzato, L.E., 1999. Alimentação de peixes - Relação custo e benefício. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia* 34, 109-118.
- Pickering, A.D., Pottinger, T.G., 1985. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout, *Salmo trutta*, to disease without reducing the white blood cell count. *Journal of fish biology* 27, 611-619.
- Pickering, A.D., 1986. Changes in blood cell composition of the brow trout, *Salmo trutta* L., during the spawning season. *Journal of Fish Biology* 29, 335-347.
- Rojas, J.B.U., Verdegem, M.C.J., 1994. Effects of the protein:energy ratio in isocaloric diets on the growth of *Cichlasoma managuense* (Gunther 1869). *Aquaculture* 25, 631-637.
- Schreck, C.B., 2000. Accumulation and long term affects of stress in fish. In: *The Biology of Animal Stress*. pp. 147-158. Ed. Moberg, G.P. e Mench, J.A. CAB International, Wallingford.
- Shiau, S.Y., Lan, C.W., 1996. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 145, 259-266.

- Sumpter, J.P., 1997. The endocrinology of stress. In: Fish Stress and Health in Aquaculture, pp. 95-118. Ed. Iwana, G.K., Pickering, J.P., Sumpter e Schreck, C.B. University Press, Cambridge.
- Tibbetts, S.M., Call, S.P., Anderson, D.M., 2000. Dietary protein requirement of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) fed practical diets. Aquaculture 186, 145-155.
- Urbinati, E.C., Carneiro, P.C.F., 2004. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 171-193.
- Viera, I., Cyrino, J.E.P., Pezzato, L.E., 2001. Colina e betaína em rações purificadas na nutrição da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis Niloticus*). Scientia Agrícola 58, 675-680.
- Wilson, R.P. and Poe W.E., 1988. Choline nutrition of fingerling channel catfish. Aquaculture 68, 65-71.
- Wilson, R.P., 1989. Amino acids and proteins. pp 111–151 In: J.E. Halver, ed. Fish Nutrition. Academic.press, Inc. San Diego, Ca, USA.
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica, Leipzig 51, 32-49.
- Zar, J.H., 1999 Biostatistical analysis. 4thed. New Jersey, Prentice-Hall, Inc., 663pp.

TABELAS

Tabela 1 – Quantidade diária de ração fornecida inicialmente em função do peso vivo médio dos peixes (adaptada da indústria de ração)

Peso do Peixe (g)		Semanas de Criação	Alimentação Diária (% do Peso Vivo)
De	Até		
45,0	60,0	1 ^a	5,0
60,0	80,0	2 ^a	5,0
80,0	110,0	3 ^a	4,0
110,0	150,0	4 ^a	4,0
150,0	200,0	5 ^a	4,0
200,0	250,0	6 ^a	3,5
250,0	300,0	7 ^a	3,5
300,0	350,0	8 ^a	3,0
350,0	400,0	9 ^a	3,0

Tabela 2 – Composição percentual e químico – bromatológica calculada das dietas experimentais

Ingrediente (%)	24%PD/3200	24%PD/3500	26%PD/3200	26%PD/3500	28%PD/3200	28%PD/3500	30%PD/3200	30%PD/3500	32%PD/3200	32%PD/3500
Farelo Soja	17,85	21,20	24,41	27,70	30,96	34,20	37,52	40,70	44,07	47,20
Farelo Trigo	22,51	7,47	20,30	5,58	18,09	3,69	15,87	1,79	13,66	0,00
F. de vísceras ¹	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Milho	36,83	44,03	32,66	39,58	28,48	35,12	24,30	30,66	20,13	26,11
L - Lisina	0,31	0,28	0,23	0,21	0,16	0,14	0,08	0,07	0,00	0,00
DL - Metionina	0,15	0,17	0,12	0,13	0,09	0,10	0,05	0,06	0,02	0,02
Triptofano	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00
Treonina	0,21	0,20	0,16	0,15	0,11	0,10	0,05	0,05	0,00	0,00
Óleo de vísceras	0,00	4,50	0,00	4,51	0,00	4,53	0,00	4,54	0,00	4,55
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix vit/min. ²	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Banox ³	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Moldzap ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Cloreto de colina	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição químico – bromatológica calculada das dietas										
ED (kcal kg ⁻¹) ⁵	3202,63	3502,39	3203,41	3501,84	3202,70	3501,74	3203,16	3501,23	3203,03	3500,68
PD (%) ⁶	24,00	24,00	26,01	26,00	28,01	28,01	30,00	30,00	32,00	32,00
PB (%) ⁷	26,69	26,47	28,83	28,61	30,97	30,76	33,11	32,90	35,24	35,04
Fibra Bruta (%)	3,79	2,64	3,86	2,73	3,93	2,82	3,99	2,92	4,06	3,01
Ext. Etéreo (%) ⁸	4,68	8,84	4,62	8,79	4,56	8,75	4,50	8,70	4,43	8,65
Ca total (%) ⁹	0,89	0,87	0,90	0,89	0,91	0,90	0,92	0,91	0,93	0,92
P disponível (%) ¹⁰	0,64	0,62	0,64	0,63	0,65	0,63	0,65	0,64	0,66	0,64
Metionina (%)	0,54	0,55	0,54	0,55	0,54	0,55	0,54	0,54	0,54	0,54
AAS (%) ¹¹	0,91	0,91	0,94	0,93	0,97	0,96	1,00	0,99	1,03	1,01
Lisina (%)	1,52	1,52	1,61	1,62	1,71	1,72	1,81	1,82	1,90	1,92
Triptofano (%)	0,28	0,28	0,31	0,31	0,34	0,34	0,37	0,36	0,39	0,39
Treonina (%)	1,05	1,05	1,09	1,09	1,13	1,13	1,16	1,17	1,20	1,21
Colina (mg/kg)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
ED:PB/ED:PD ¹²	120/133	132/146	111/123	122/135	103/114	114/125	97/107	106/117	91/100	100/109
Amido (%)	32,36	32,54	29,88	29,98	27,38	27,40	24,90	24,85	22,42	22,29
Custo kg ⁻¹ (R\$) ¹³	1,061	1,155	1,066	1,159	1,070	1,162	1,075	1,165	1,079	1,168

¹Farinha de vísceras; ²Premix vitamínico e mineral (Mogiana Alimentos – níveis mínimos de garantia por kg de ração: Ácido Fólico: 10 mg; Cobre: 20 mg; Vit. B1: 32 mg; Vit. E: 250 UI; Vit. K3: 30 mg; Niacina: 170 mg; Manganês: 50 mg; Selênio: 0,70 mg; Vit. A: 16.000 UI; Vit. B2: 32 mg; Vita. C: 325 mg; Vit. D3: 4.500 UI; Vit. B6: 32 mg; Ferro: 150 mg; Iodo: 1 mg; Cobalto: 0,50 mg; Vit. B12: 32 mcg; Pantotenato de Cálcio: 80 mg; Zinco: 150 mg; Biotina: 10 mg); ³Antioxidante; ⁴Antifúngico; ⁵Energia digestível (kcal kg⁻¹); ⁶Proteína digestível (%); ⁷Proteína bruta (%); ⁸Extrato etéreo (%); ⁹Cálcio total (%); ¹⁰Fósforo disponível (%); ¹¹Aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) (%); ¹²Relação energia digestível e proteína bruta / relação energia digestível e proteína digestível; ¹³Custo por quilo de dieta (R\$).

Tabela 3 – Análise químico-bromatológica das dietas (100% matéria seca)

Tratamentos (%PD/kcal ED/Colina)	PB (%)	FB (%)	EE (%)	Cinzas (%)	MS (%)
(24/3200/SC)	29,75	4,71	2,20	6,76	90,33
(24/3200/CC)	28,45	4,26	2,31	5,66	89,39
(24/3500/SC)	28,52	4,02	11,34	6,98	89,31
(24/3500/CC)	30,07	4,00	10,67	6,91	90,15
(26/3200/SC)	32,55	4,93	2,39	7,33	88,54
(26/3200/CC)	30,42	5,23	1,61	7,55	88,33
(26/3500/SC)	29,56	4,53	5,62	6,77	88,67
(26/3500/CC)	31,75	4,17	10,81	6,71	88,50
(28/3200/SC)	34,25	5,06	2,36	7,55	88,38
(28/3200/CC)	33,92	4,79	2,02	7,79	88,31
(28/3500/SC)	34,04	4,25	5,54	7,79	87,91
(28/3500/CC)	33,20	4,60	6,65	7,10	89,14
(30/3200/SC)	35,14	4,24	2,82	8,08	88,29
(30/3200/CC)	35,90	4,33	2,24	8,34	88,79
(30/3500/SC)	34,55	4,71	4,91	7,62	88,06
(30/3500/CC)	34,47	4,18	7,46	6,75	87,33
(32/3200/SC)	36,50	5,08	3,45	7,84	88,54
(32/3200/CC)	38,16	5,39	2,41	8,05	88,18
(32/3500/SC)	36,83	4,96	8,65	7,24	89,76
(32/3500/CC)	37,82	4,66	5,56	7,46	87,82

CC = com colina e SC = sem colina

Tabela 4 – Valores médios da biomassa inicial (BI), peso médio inicial (PMI), biomassa final (BF), ganho peso por lote (GPL), peso médio final (PMF), ganho peso médio (GPM), conversão alimentar aparente (CAA), sobrevivência (SOB), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência protéica (TEP) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias

Variável										
PD (%)	BI (g)	PMI (g)	BF (g)	GPL (g)	PMF (g)	GPM (g)	CAA	SOB (%)	TCE (%)	TEP
24	21.965	146,31	98.800	76.835	680,15	528,94	1,74	96,83	1,29	1,97
26	22.746	151,46	101.448	78.701	691,69	536,58	1,70	97,79	1,28	1,90
28	22.232	147,49	104.858	82.626	704,51	555,13	1,62	99,25	1,31	1,83
30	22.031	146,87	103.306	81.274	709,03	557,86	1,65	97,17	1,32	1,74
32	21.910	146,07	98.419	76.509	688,24	535,11	1,75	95,37	1,30	1,53
ED (kcal ED kg ⁻¹)										
3200	22.162	147,55	100.425	78.263	688,51	536,55	1,71	97,25	1,29	1,76
3500	22.192	147,78	102.307	80.115	700,94	548,89	1,67	97,32	1,31	1,83
Col (mg kg ⁻¹)										
0	22.271	148,33	101.506	79.235	694,88	542,43	1,69	97,40	1,30	1,80
1000	22.083	147,00	101.226	79.143	694,57	543,01	1,69	97,17	1,30	1,79
CV (%)	5,00	5,01	3,31	3,98	3,47	4,26	3,87	2,22	3,64	3,91
Probabilidade										
PD	ns	ns	<0,0001	< 0,0001	0,0073	0,0015	<0,0001	ns	ns	<0,0001
ED	ns	ns	0,0149	0,0108	0,0247	0,0201	<0,0068	ns	ns	<0,0001
Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED	ns	ns	0,0095	0,0086	0,0477	0,0446	0,0024	ns	ns	0,0033
PD*Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,0059
ED*Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,0477

CV = coeficiente de variação; ns = não significativo; médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P<0,05)

Tabela 5 – Valores médios do rendimento de filé (RF), índice hepáticossomático (IHS), gordura visceral (GV), extrato etéreo do fígado (EE Fígado) e composição química do filé na matéria natural (MS – matéria seca, EE – extrato etéreo e MM – matéria mineral) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias

Variáveis							
PD (%)	RF (%)	IHS	GV (%)	EE Fígado (%)	MS filé (%)	EE filé (%)	MM filé (%)
24	34,71	2,22	5,27	44,16 b	26,31 a	0,63	1,22
26	35,43	2,16	4,73	27,65 a	26,06 ab	0,58	1,21
28	35,16	2,09	4,32	24,32 a	25,25 ab	0,55	1,16
30	36,61	2,22	4,82	26,29 a	25,54 ab	0,53	1,21
32	36,47	2,09	4,26	26,32 a	24,80 b	0,43	1,17
ED (kcal ED kg ⁻¹)							
3200	35,68	2,24	4,34 b	30,12	25,59	0,55	1,20
3500	35,68	2,07	5,02 a	29,37	25,59	0,54	1,19
Col (mg kg ⁻¹)							
0	35,89	2,10	4,61	28,63	25,36	0,54	1,20
1000	35,46	2,21	4,75	30,87	25,82	0,55	1,19
CV (%)	2,48	20,58	25,00	24,40	4,44	32,07	5,24
Probabilidade							
PD	<0,0001	ns	ns	<0,0001	0,0165	ns	ns
ED	ns	ns	0,0045	ns	ns	ns	ns
Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED	0,0469	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*Col	ns	ns	0,006	ns	ns	ns	ns
ED*Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns = não significativo; médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P<0,05)

Tabela 6 – Desdobramento das interações proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) para biomassa final (BF), ganho de peso lote (GPL), peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), conversão alimentar aparente (CAA) e rendimento de filé (RF)

ED (kcal kg ⁻¹)		PD (%)			
BF	24	26	28	30	32
3200	95.470 bB	99.695 abB	104.550 aA	103.245 aA	99.164 abA
3500	102.130 abA	103.200 aA	105.166 aA	103.366 aA	97.675 bA
GPL	24	26	28	30	32
3200	73.730 cB	76.815 bcB	82.335 aA	81.365 abA	77.069 bcA
3500	79.940 abA	80.587 abA	82.916 aA	81.184 aA	75.950 bA
PMF	24	26	28	30	32
3200	657,81 bB	683,70 abA	703,03 aA	709,06 aA	688,94 abA
3500	702,48 A	699,69 A	705,99 A	709,00 A	687,53 A
GPM	24	26	28	30	32
3200	508,00 bB	526,77 abA	553,64 aA	558,79 aA	535,57 abA
3500	549,88 A	546,39 A	556,61 A	556,94 A	534,65 A
CAA	24	26	28	30	32
3200	1,82 cB	1,74 bcB	1,63 aA	1,64 abA	1,74 bcA
3500	1,67 abA	1,66 abA	1,62 aA	1,65 aA	1,76 bA
RF	24	26	28	30	32
3200	34,71 c	35,49 bc	34,94 bc	36,24 ab	37,04 a
3500	34,72 b	35,38 b	35,38 b	36,99 a	35,91 ab

médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha para o fator energia e maiúsculas na coluna para o fator proteína, diferem (P<0,05) entre si

Tabela 7 – Desdobramento da interação proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina para taxa de eficiência proteica

PD (%)	ED (kcal kg ⁻¹)	Colina (mg kg ⁻¹)	
		0	1000
24	3200	1,92 cAα	1,87bcAα
24	3500	2,09cAα	1,99cAα
26	3200	1,75acBα	1,90cAα
26	3500	2,01cAα	1,93cAα
28	3200	1,78bcAα	1,84bcAα
28	3500	1,79bAα	1,90bcAα
30	3200	1,73abAα	1,69bAα
30	3500	1,79bAα	1,73bAα
32	3200	1,59aAα	1,51aAα
32	3500	1,55aAα	1,49aAα

médias seguidas de letras distintas, minúsculas na coluna para o fator proteína digestível, maiúsculas na coluna para o fator energia digestível e gregas na linha para o fator colina, diferem ($P < 0,05$) entre si

Tabela 8 – Desdobramento da interação proteína digestível (PD) e colina (Col) para gordura visceral

Col (mg kg ⁻¹)	PD (%)				
	24	26	28	30	32
0	5,40	4,21	4,97	4,20	4,25
1000	5,14 ab	5,25 ab	3,67 b	5,44 a	4,27 ab

médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha para o fator energia e maiúsculas na coluna para o fator proteína, diferem (P<0,05) entre si

Tabela 9 – Valores médios do número de eritrócitos (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias e submetida a estresse por classificação

		Erit ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$)		Htc (%)		Hb (g dL ⁻¹)		VCM (fL)		CHCM (%)	
		inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
PD (%)	24	2,16	1,93	25,96	26,30	6,88	7,45	122,44	138,39	26,49	28,24
	26	2,11	1,95	25,73	26,19	6,86	6,93	123,82	134,00	26,73	26,63
	28	2,05	1,91	24,93	24,80	6,56	7,02	124,16	131,65	26,33	28,24
	30	2,09	1,79	24,15	23,98	6,44	6,73	119,65	136,14	26,37	28,24
	32	1,96	1,82	23,73	24,54	6,28	6,72	124,14	136,11	26,54	27,40
ED (kcal kg ⁻¹)	3200	2,10	1,85	25,15	24,92	6,71	6,92	121,64	135,39	26,69	27,85
	3500	2,05	1,91	24,67	25,36	6,50	7,02	124,13	135,11	26,30	27,67
Colina (mg kg ⁻¹)	0	2,10	1,87	25,24	25,00	6,64	6,97	122,69	135,02	26,27	27,96
	1000	2,05	1,89	24,60	25,28	6,57	6,97	123,08	135,49	26,71	27,56
CV (%)		19,12	13,76	13,87	11,93	15,99	13,77	16,64	13,23	9,65	9,44
Probabilidade											
Momento (inicial e final)		0,0001		ns		ns		<0,0001		ns	
PD		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns= não significativo

Tabela 10 – Valores médios de proteína plasmática (PPT), albumina (Alb), globulina (Glob), relação albumina:globulina (A:G) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçoada com níveis de proteína digestível (PD), energia digestível (ED) e colina (Col) durante 119 dias e submetidas a estresse por classificação

		PPT (mg dl ⁻¹)		Alb (mg dl ⁻¹)		Glob (mg dl ⁻¹)		A:G		Glic (mg dL ⁻¹)	
		inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
PD (%)	24	3,67	3,83	0,73A	1,05	2,90	2,77	0,26AB	0,40	37,70	63,89
	26	3,77	3,98	0,93B	1,12	2,85	2,86	0,34B	0,38	36,90	69,68
	28	3,73	3,77	0,92B	1,33	2,81	2,51	0,34B	0,55	32,35	89,24
	30	3,42	3,85	0,82AB	1,26	2,65	2,60	0,32AB	0,50	28,33	78,24
	32	3,61	3,68	0,69A	1,11	2,96	2,61	0,24A	0,43	31,69	91,82
ED (kcal kg ⁻¹)	3200	3,66	3,76	0,84	1,12	2,89	2,64	0,30	0,44	32,81	80,49
	3500	3,62	3,88	0,81	1,24	2,78	2,72	0,30	0,47	34,14	74,47
colina (mg kg ⁻¹)	0	3,67	3,81	0,84	1,21	2,84	2,71	0,31	0,45	32,72	71,82
	1000	3,62	3,83	0,80	1,14	2,83	2,65	0,29	0,45	34,28	82,40
CV (%)		13,14	13,16	25,75	24,97	15,56	16,57	33,67	32,20	41,64	58,37
Probabilidade											
Momento (inicial e final)		ns		<0,0001		ns		<0,0001		<0,0001	
PD		ns	ns	0,0001	ns	ns	ns	0,0001	ns	ns	ns
ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PD*ED*Col		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CV = coeficiente de variação; ns = não significativo; médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P<0,05)

Tabela 11 – Valores médios e desvio padrão, quando significativo, do número de eritrócitos (Erit), volume corpuscular médio (VCM), concentração de albumina (Alb), relação albumina:globulina (A:G) e glicose (Glic) da tilápia-do-Nilo arraçoados com níveis de proteína digestível (%), energia digestível (kcal ED kg⁻¹) e colina (mg kg⁻¹) durante 119 dias e submetidas a estresse por classificação

Variável			Erit (10 ⁶ µL ⁻¹)		VCM (fL)		Alb (mg dL ⁻¹)		A:G		Glicose (mg dL ⁻¹)	
Proteína	Energia	Colina	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
24	3200	0	2,25±0,36a	1,76±0,22b	119,16±22,71a	146,61±13,39b	0,75	1,06	0,07	0,41	33,08	32,87
24	3200	1000	2,10	1,96	124,24	133,59	0,88	0,78	0,16	0,38	42,36	67,34
24	3500	0	2,05	1,90	127,57	140,89	0,68±0,19a	1,34±0,39b	0,24±0,10a	0,53±0,14b	35,98	64,60
24	3500	1000	2,24	2,10	118,78	131,49	0,64±0,33a	1,10±0,26b	0,21±0,08a	0,36±0,07b	39,70	73,32
26	3200	0	2,22±0,37a	1,83±0,20b	124,47	125,61	0,92	1,12	0,36	0,37	23,37±8,20a	66,81±19,41b
26	3200	1000	2,07	1,96	116,47±18,19a	138,81±17,43b	1,02	0,94	0,38	0,31	40,11±13,79a	67,91±13,97b
26	3500	0	2,08	1,98	130,48	139,62	0,95	1,17	0,32	0,41	48,41	66,70
26	3500	1000	2,07	2,02	123,86	130,2	0,85±0,22a	1,26±0,34b	0,29±0,05a	0,47±0,12b	35,90±17,26a	77,87±35,88b
28	3200	0	2,02	1,99	127,50	134,84	0,96±0,15a	1,32±0,27b	0,35±0,13a	0,51±0,17b	35,12	68,87
28	3200	1000	2,09	1,91	126,40	126,95	0,96±0,25a	1,44±0,21b	0,31±0,12a	0,63±0,21b	29,73±6,26a	95,96±61,46b
28	3500	0	2,11	1,86	120,23	137,07	1,00	1,14	0,42	0,41	32,90	86,65
28	3500	1000	1,97	1,88	122,51	127,73	0,80±0,15a	1,27±0,36b	0,29±0,11a	0,54±0,19b	31,38±7,91a	102,57±66,13b
30	3200	0	2,07	1,74	118,12	128,92	0,81±0,18a	1,10±0,04b	0,29±0,09a	0,48±0,15b	38,25±12,11a	76,12±30,48b
30	3200	1000	2,10	1,85	122,77	135,14	0,83	1,19	0,29	0,43	29,78±8,59a	82,82±40,96b
30	3500	0	2,21	1,85	110,95	130,38	0,87±0,20a	1,40±0,40b	0,34	0,47	27,90±8,69a	66,38±32,05b
30	3500	1000	1,94	1,71	128,93	150,12	0,80±0,26a	1,46±0,35b	0,33±0,13a	0,61±0,18b	24,46±6,76a	82,87±26,79b
32	3200	0	2,13±0,17a	1,78±0,25b	117,48±18,87a	139,86±15,94b	0,75	1,21	0,25±0,09a	0,48±0,13b	25,01±5,48a	144,04±64,28b
32	3200	1000	1,96	1,71	119,34	142,21	0,48±0,09a	1,06±0,22b	0,16±0,08a	0,43±0,12b	31,74±7,64a	100,91±41,80b
32	3500	0	1,84	2,01	132,28	125,07	0,71±0,09a	1,18±0,45b	0,24	0,42	33,76	37,66±4,51
32	3500	1000	1,92	1,78	127,47	137,30	0,78	1,07	0,28	0,40	41,24	68,38±21,56

médias seguidas de letras distintas diferem entre os momentos (P<0,05)

Tabela 12 – Valores médios da porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos de tilápia-do-Nilo arraçadas com níveis de proteína digestível (%), energia digestível (kcal ED kg⁻¹) e colina (mg kg⁻¹) durante 119 dias e submetidas a estresse por classificação

Variável			Linfócito (%)		Neutrófilo (%)		Monócito (%)	
Proteína	Energia	Colina	inicial	final	inicial	final	inicial	final
24	3200	0	95,13 a	81,88 b	2,75 a	15,50 b	2,13 a	2,63 a
24	3200	1000	95,75 a	84,00 b	2,50 a	12,88 b	1,75 a	3,13 a
24	3500	0	97,88 a	75,13 b	1,00 a	22,13 b	1,13 a	2,75 a
24	3500	1000	97,25 a	71,75 b	1,38 a	23,25 b	1,38 a	5,00 b
26	3200	0	97,88 a	76,88 b	0,63 a	17,13 b	1,50 a	3,50 a
26	3200	1000	95,63 a	73,50 b	2,13 a	21,88 b	2,25 a	4,63 a
26	3500	0	97,25 a	75,88 b	1,38 a	21,38 b	1,38 a	2,75 a
26	3500	1000	96,75 a	71,00 b	1,88 a	25,88 b	1,38 a	3,13 a
28	3200	0	97,00 a	78,88 b	1,50 a	18,00 b	1,50 a	3,13 b
28	3200	1000	96,38 a	73,13 b	1,63 a	23,13 b	2,00 a	3,75 b
28	3500	0	96,38 a	77,75 b	1,38 a	18,63 b	2,25 a	3,63 b
28	3500	1000	98,88 a	73,13 b	0,63 a	25,00 b	0,50 a	1,88 b
30	3200	0	96,75 a	76,75 b	1,25 a	18,00 b	2,00 a	5,25 b
30	3200	1000	98,00 a	81,38 b	0,88 a	13,75 b	1,13 a	4,63 b
30	3500	0	96,75 a	75,38 b	2,00 a	20,75 b	1,25 a	3,88 b
30	3500	1000	96,25 a	74,50 b	1,88 a	22,25 b	1,88 a	3,25 a
32	3200	0	96,38 a	71,38 b	2,13 a	25,86 b	1,50 a	2,75 a
32	3200	1000	98,13 a	73,88 b	0,88 a	22,00 b	1,00 a	4,13 b
32	3500	0	97,88 a	76,50 b	1,00 a	20,38 b	1,13 a	3,13 b
32	3500	1000	98,00 a	83,88 b	0,88 a	13,25 b	1,13 a	2,88 a

médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre os momentos (P<0,05)

Tabela 13 – Indicadores econômicos da produção de tilápia-do-Nilo criadas em tanques-rede (TR) e arraçadas por 119 dias com as dietas experimentais

Dietas	Biomassa TR ⁻¹ (kg TR ⁻¹) ¹	CPp (R\$ TR ⁻¹) ²	RBp (R\$ TR ⁻¹) ³	RBCp ⁴
24/3200	95.470	246,79	343,69	1,39
24/3500	102.130	259,38	367,67	1,42
26/3200	99.695	247,39	358,90	1,45
26/3500	103.200	259,80	371,52	1,43
28/3200	104.550	247,98	376,38	1,52
28/3500	105.166	260,22	378,60	1,45
30/3200	103.245	248,58	371,68	1,50
30/3500	103.366	260,64	372,12	1,43
32/3200	99.164	249,18	356,99	1,43
32/3500	97.675	261,06	351,63	1,35

¹ Peso dos peixes do tanque-rede (quilo tanque-rede⁻¹); ² custo de produção dos peixes (R\$ tanque-rede⁻¹); ³ receita bruta dos peixes (R\$ tanque-rede⁻¹); ⁴ relação benefício custo do peixes inteiro.

Tabela 14 – Indicadores econômicos da produção de filés de tilápia-do-Nilo criadas em tanques-rede (TR) e arraçadas por 119 dias com as dietas experimentais

Dietas	Qt file TR ⁻¹ (kg TR ⁻¹) ¹	CPf (R\$ TR ⁻¹) ²	RBf (R\$ TR ⁻¹) ³	RBCf ⁴
24/3200	33,14	313,06	530,18	1,69
24/3500	35,46	330,31	567,41	1,72
26/3200	35,37	318,13	565,96	1,78
26/3500	36,51	332,81	584,09	1,75
28/3200	36,52	321,03	584,36	1,82
28/3500	37,21	334,64	595,36	1,78
30/3200	37,42	323,42	598,73	1,85
30/3500	38,24	337,11	611,78	1,81
32/3200	36,72	322,63	587,59	1,82
32/3500	35,08	331,22	561,26	1,69

¹ Quantidade de filé produzido pelos peixes do tanque-rede (quilo tanque-rede⁻¹); ² custo de produção do filé (R\$ tanque-rede⁻¹); ³ receita bruta do filé (R\$ tanque-rede⁻¹); ⁴ relação benefício custo do filé.

Tabela 15 – Degeneração gordurosa ou hidrópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas com níveis de PD, ED e colina

Dietas	Grau de degeneração (escore = 1 – 4)*			
	Fígados (n = 3)			
	A	B	C	
24/3200/SC	2	4	4	
24/3200/CC	4	4	4	
24/3500/SC	3	4	4	
24/3500/CC	4	3	3	
26/3200/SC	4	4	3	
26/3200/CC	4	4	4	
26/3500/SC	3	4	4	
26/3500/CC	2	2	4	
28/3200/SC	2	2	4	
28/3200/CC	4	4	3	
28/3500/SC	2	2	4	
28/3500/CC	3	4	4	
30/3200/SC	3	3	4	
30/3200/CC	1	4	4	
30/3500/SC	3	4	3	
30/3500/CC	4	3	4	
32/3200/SC	3	3	4	
32/3200/CC	4	4	3	
32/3500/SC	4	4	4	
32/3500/CC	4	3	4	

Variável	Degeneração gordurosa			
	Escore			
	1	2	3	4
PD (%)	Número de identificados (fígado) (n = 12)			
24	0	1	3	8
26	0	2	2	8
28	0	4	2	6
30	1	0	5	6
32	0	0	4	8
ED (kcal kg ⁻¹)	(n = 30)			
3200	1	3	7	19
3500	0	4	9	17
Col (mg kg ⁻¹)	(n = 30)			
0	1	2	7	20
1000	0	5	9	16

* Grau de degeneração do fígado (escore = 1 – 4), sendo: 1 de 0 a 25% dos hepatócitos degenerados; 2 de 26 a 50% dos hepatócitos degenerados; 3 de 51 a 75% dos hepatócitos degenerados e 4 de 76 a 100% dos hepatócitos degenerados

FIGURAS

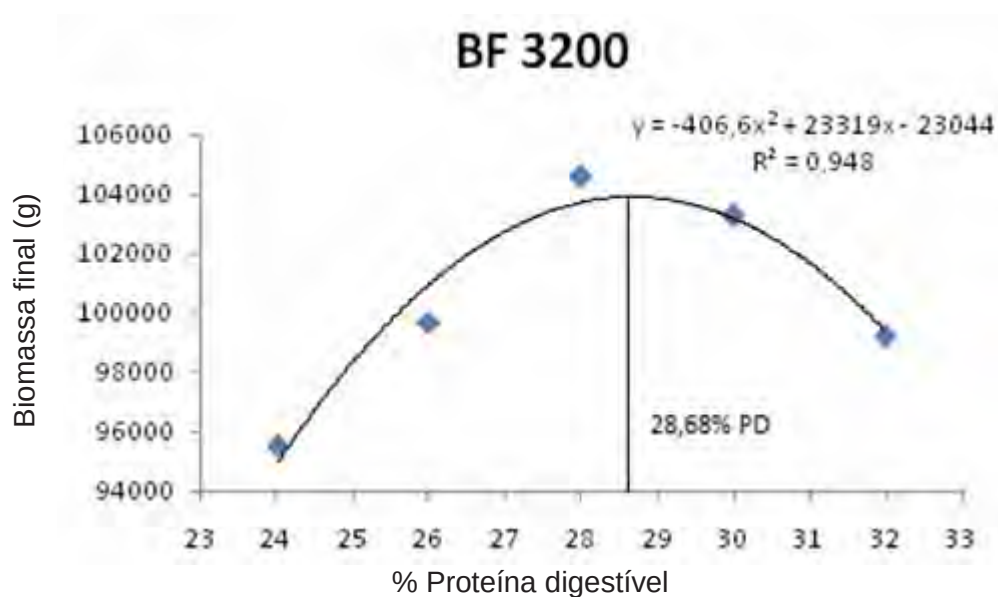


Figura 1. Biomassa final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

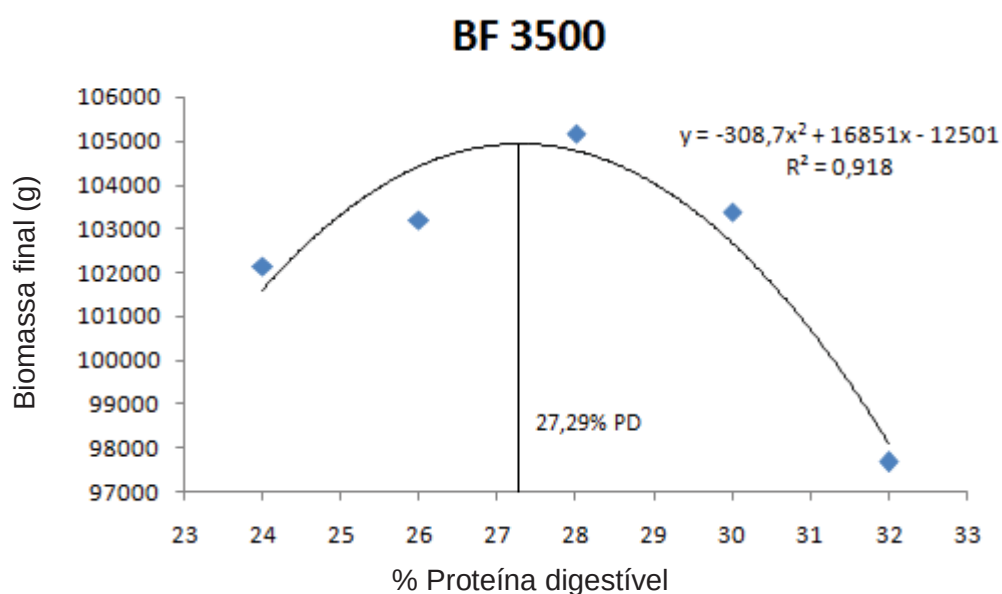


Figura 2. Biomassa final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

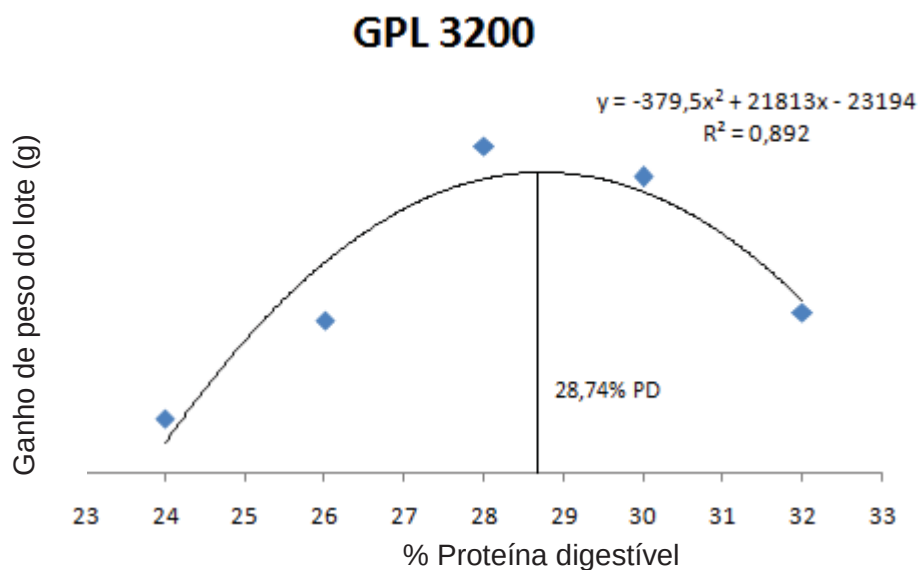


Figura 3. Ganho de peso do lote das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

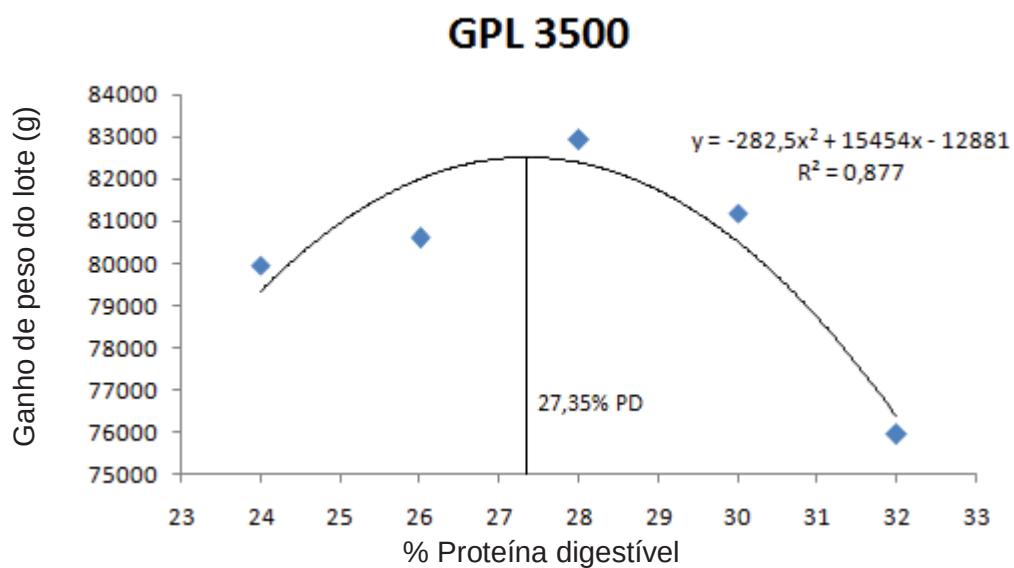


Figura 4. Ganho de peso do lote das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

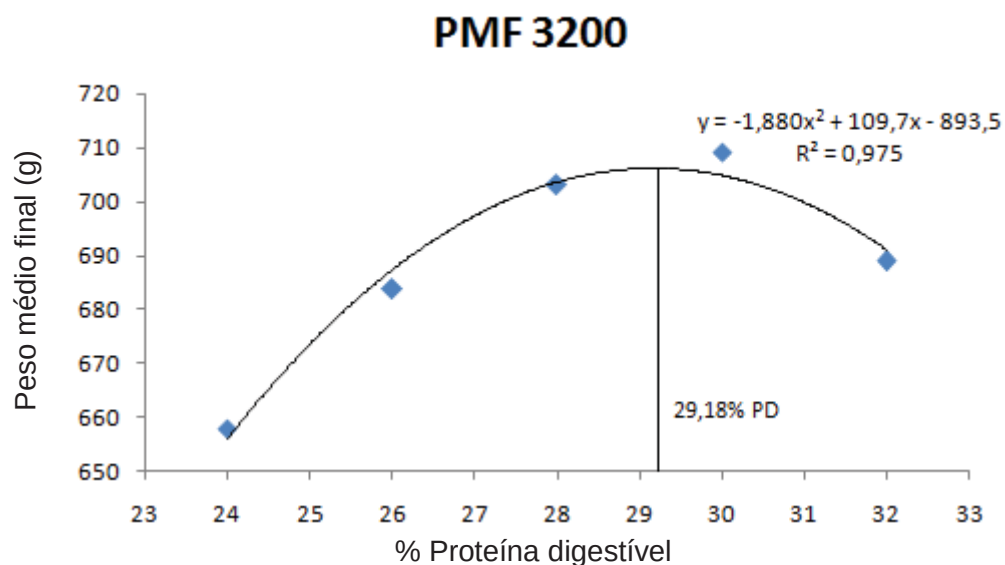


Figura 5. Peso médio final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

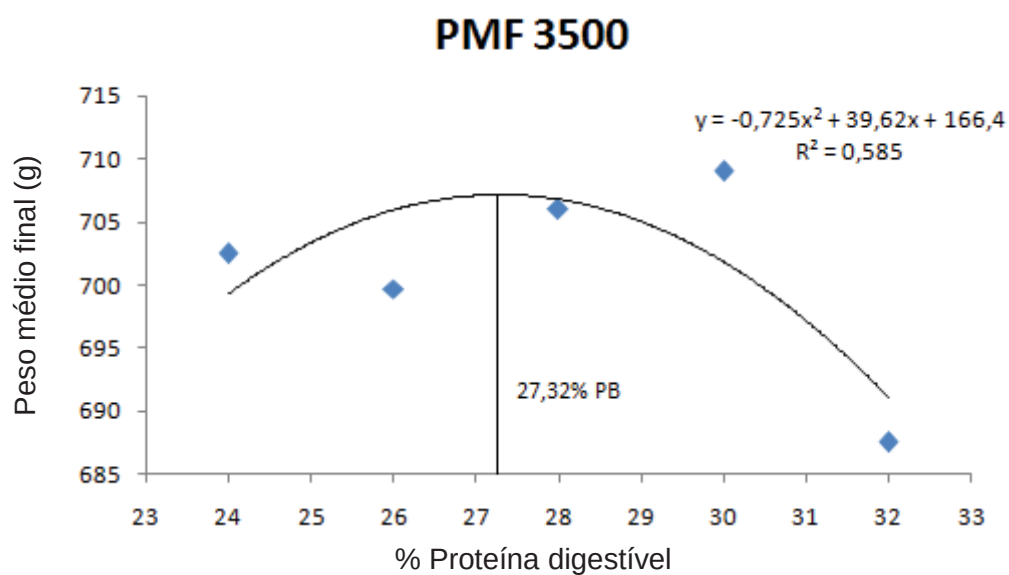


Figura 6. Peso médio final das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

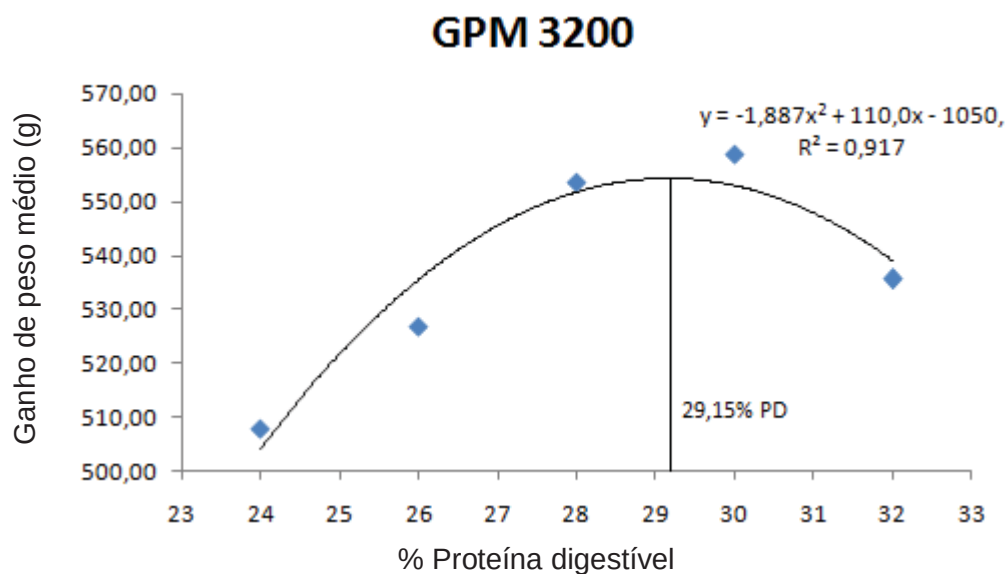


Figura 7. Ganho de peso médio das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

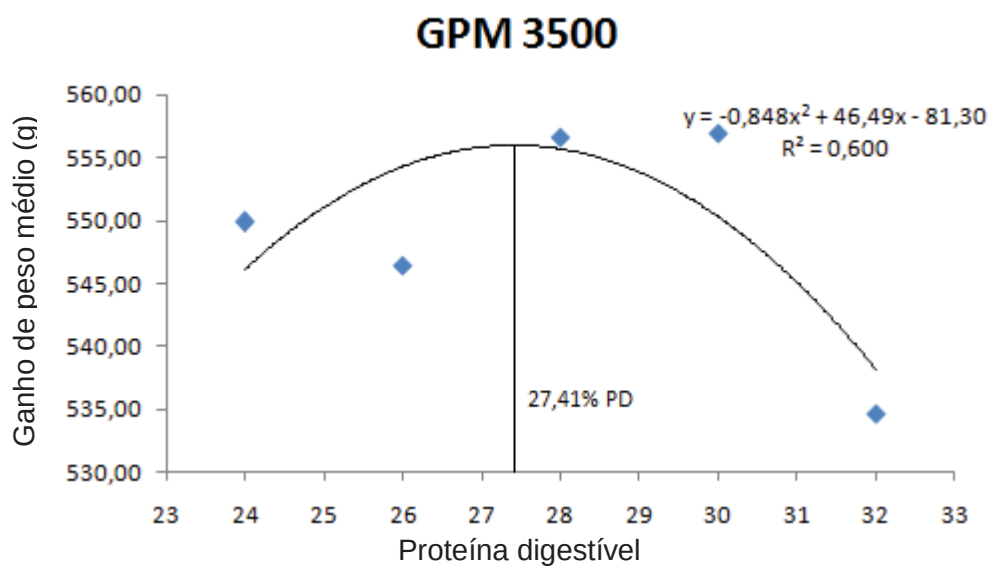


Figura 8. Ganho de peso médio das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

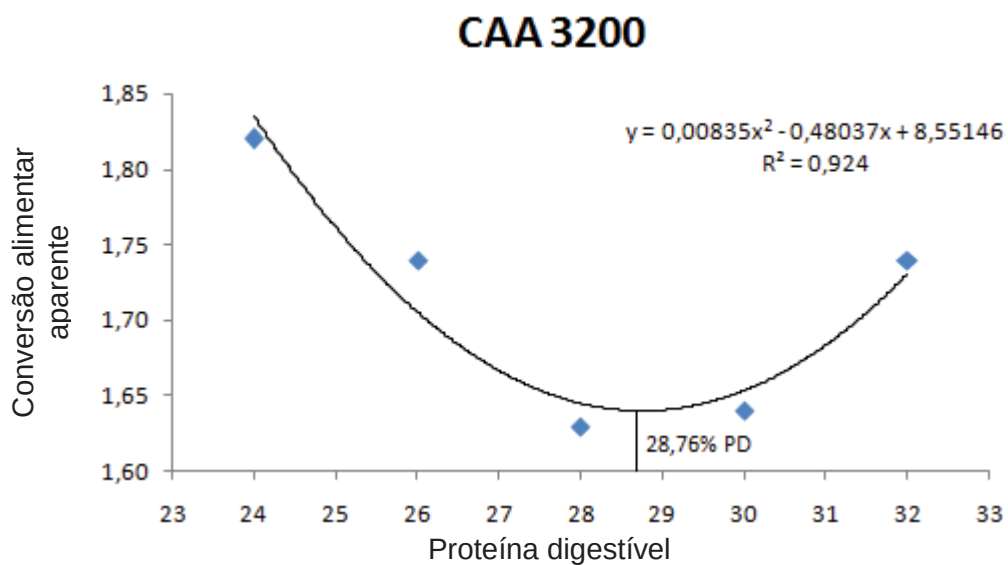


Figura 9. Conversão alimentar aparente das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

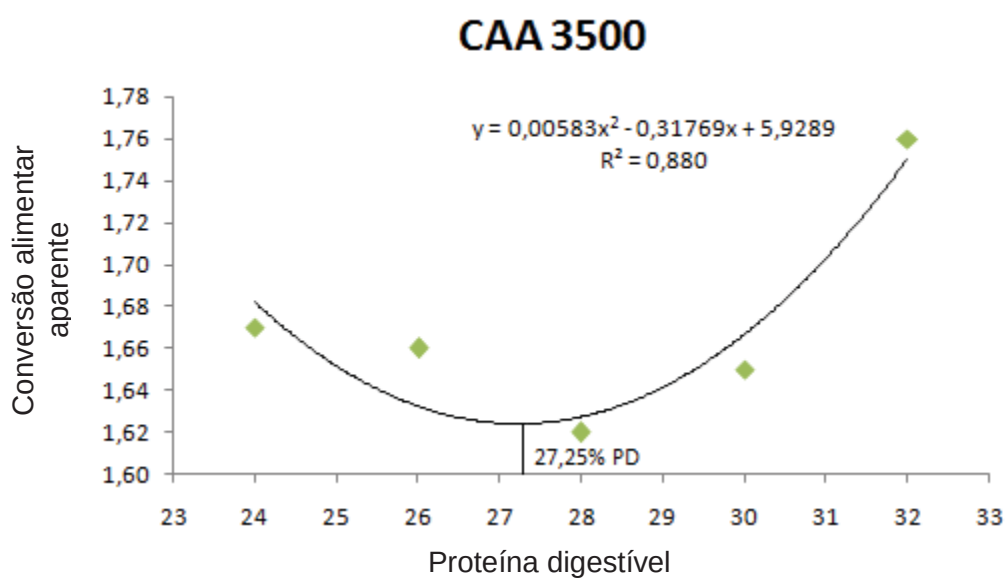


Figura 10. Conversão alimentar aparente das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

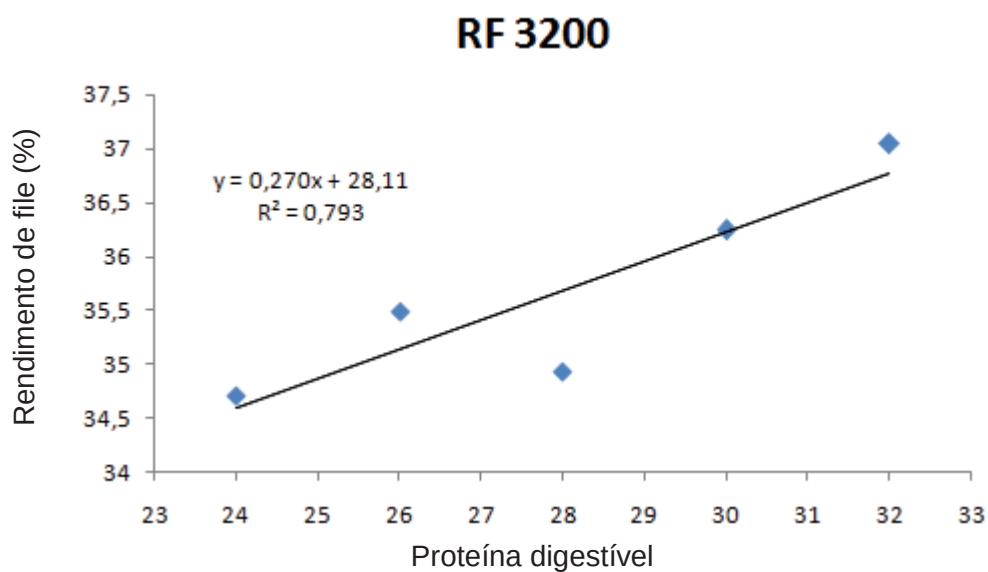


Figura 11. Rendimento de filé das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3200 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

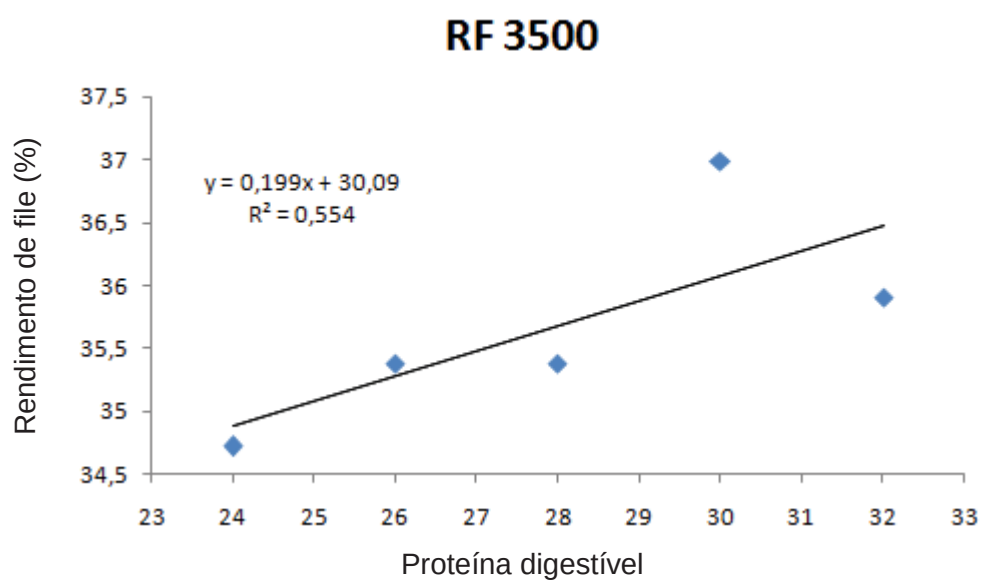


Figura 12. Rendimento de filé das tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas formuladas com 3500 kcal ED kg⁻¹ de dieta e níveis de proteína digestível.

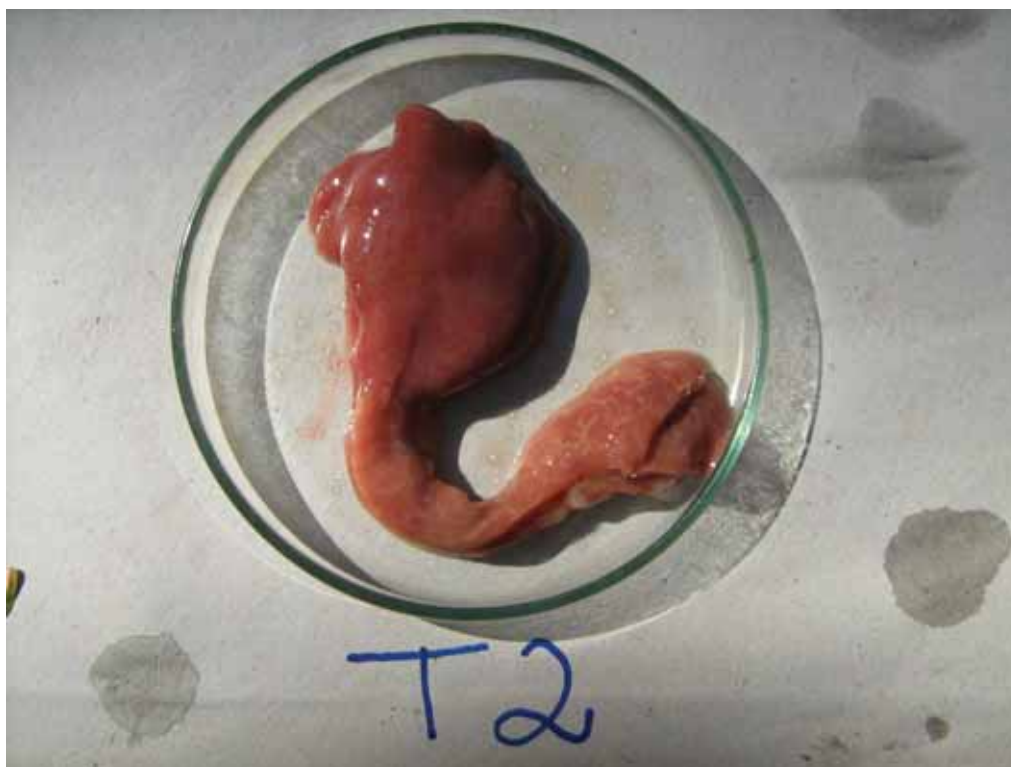


Figura 13. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 32,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹/sem colina



Figura 14. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 30,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹/sem colina



Figura 15. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 28,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹/sem colina



Figura 16. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 26,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹/com colina



Figura 17. Análise macroscópica do fígado da tilápia-do-Nilo alimentada com dieta de 24,0% PD/3500 kcal ED kg⁻¹/com colina

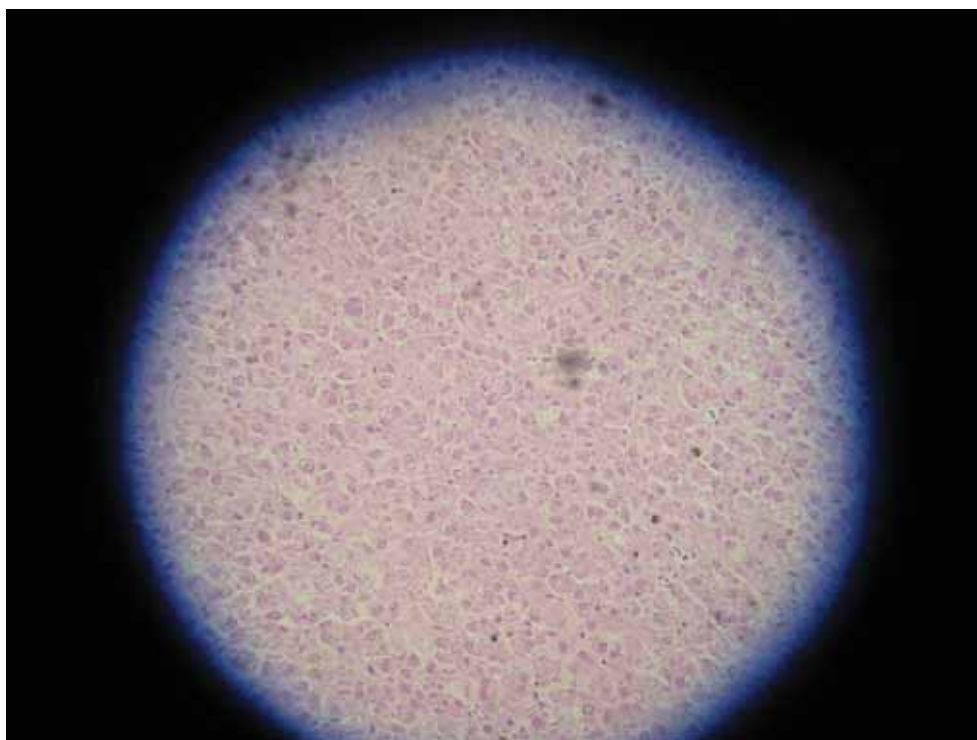


Figura 18. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 1, 0 a 25% de degeneração dos hepatócitos.

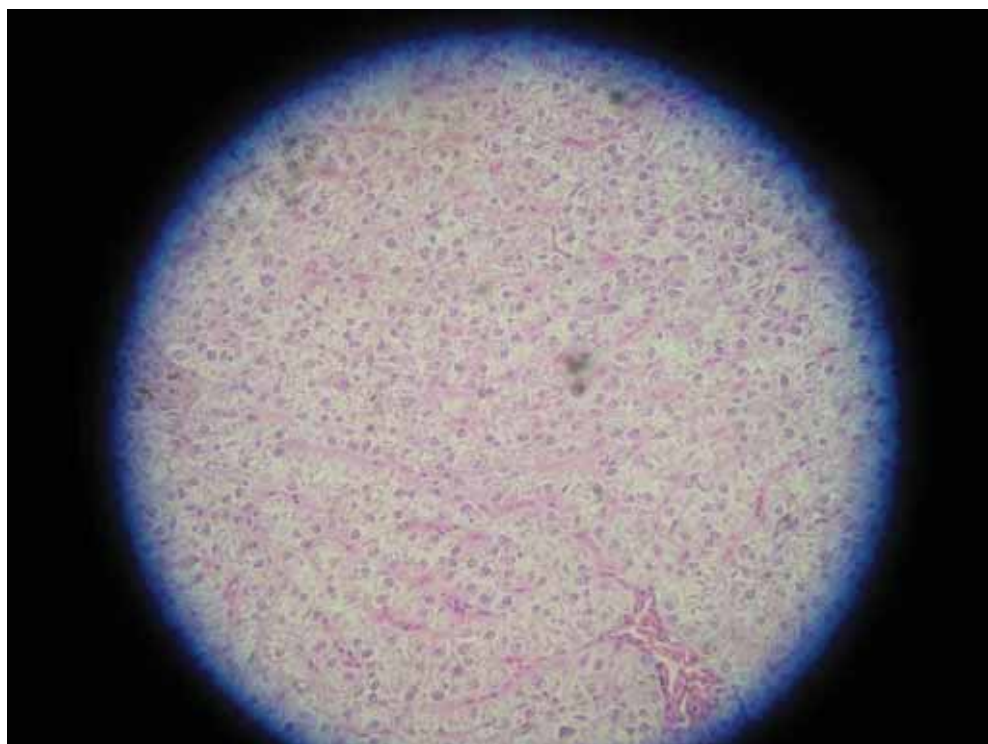


Figura 19. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 2, 26 a 50% de degeneração dos hepatócitos.

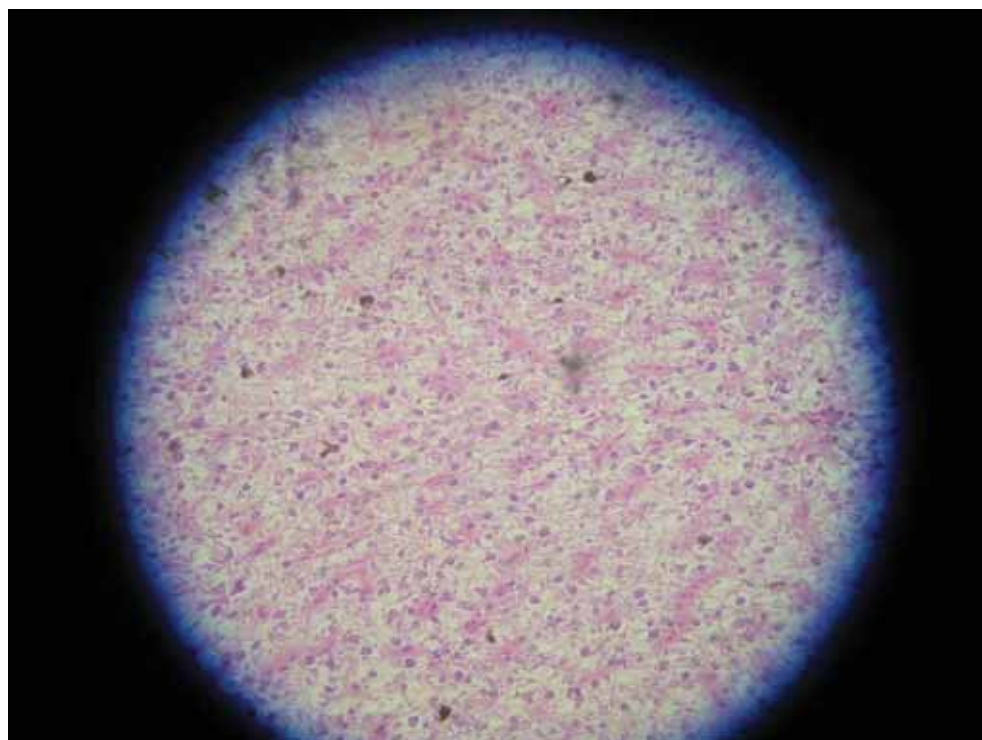


Figura 20. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 3, 51 a 75% de degeneração dos hepatócitos.

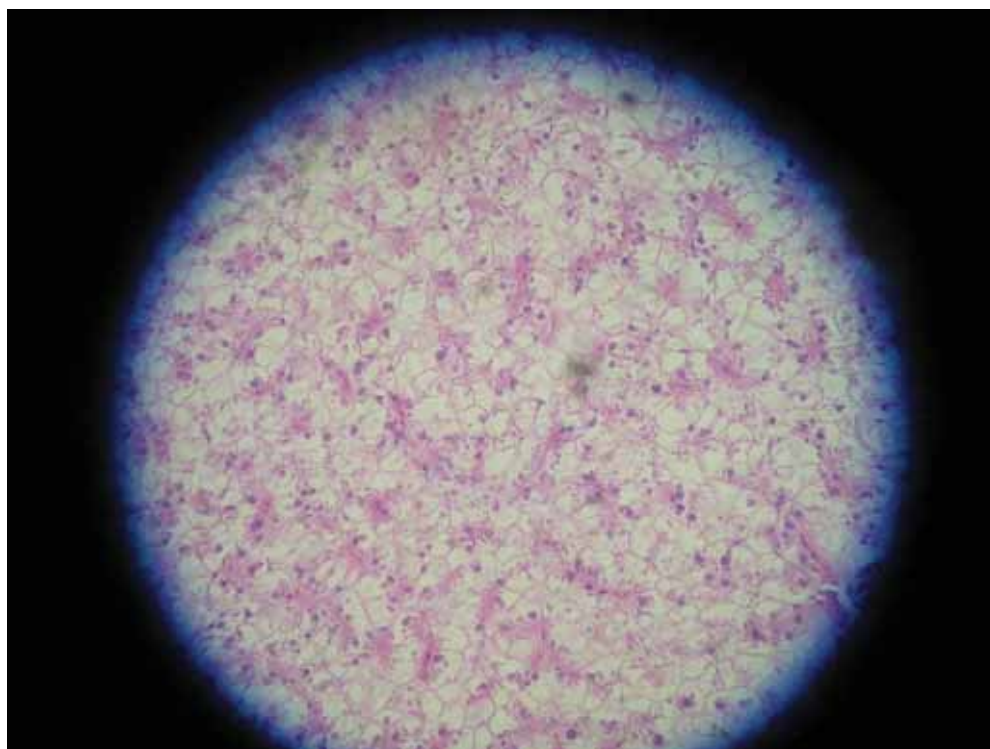


Figura 21. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-Nilo aos 119 dias. H/E, 40X, score 4, 76 a 100% de degeneração dos hepatócitos.

Capítulo IV

Implicações

Implicações

Este estudo suscitou as seguintes implicações:

1. A aquicultura está em ascensão, sendo a produção de tilápias em tanques-rede a principal responsável. Atualmente, o setor produtivo carece de informações e dietas para peixes, principalmente se considerarem, espécie específico, fase de desenvolvimento e ainda, condições ambientais como temperatura da água. Esses fatores devem ser considerados, pois alteram as exigências nutricionais dos peixes. Além disso, nos trabalhos em campo é necessário avaliar qual dieta determina o menor custo de produção e menor impacto ambiental, uma vez que são fornecidos aos peixes durante o processo de alimentação grande quantidades de rações, sendo que parte desta acaba não sendo aproveitada e é perdida por lixiviação, além da porção excretada pelos peixes. Desta forma, considerando o exposto acima, faltam estudos voltados para determinação da exigência em proteína e energia para a tilápia-do-Nilo em sistema intensivo e que abranjam aspectos econômicos e ambientais.
2. Trabalhos em campo possuem altos custos, são de difícil condução e obtenção de locais para execução, principalmente em função da “distância” entre academia e setor produtivo. Entretanto esses elos são de fundamental importância para o desenvolvimento da atividade, sendo necessária a proximidade destas para o entendimento dos problemas existentes na produção e possíveis resoluções pela academia.
3. A hematologia é uma ferramenta que nos auxilia na determinação da exigência dos peixes, avaliando não só o desempenho do animal, mas também a saúde e resposta deste frente a um agente estressor. Esta ferramenta se torna importante principalmente pelo sistema intensivo de produção utilizado.