

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DIGESTIBILIDADE E EXIGÊNCIA DE AMINOÁCIDOS PARA
JUVENIS DE PACU, *Piaractus mesopotamicus*

Eduardo Gianini Alimorad

Orientador: *Prof. Dr. Dalton José Carneiro*

Tese apresentada ao Centro de Aqüicultura da UNESP – Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Aqüicultura (Área de Concentração – Aqüicultura em Águas Continentais).

JABOTICABAL
São Paulo - Brasil
Maio de 2008

*Aos meus pais **Roberto** e **Maria Alice**, meu irmão
Rafael e meus avós **Geraldo** “in memoriam” e
Anna pelo incondicional Amor;*

Com orgulho, dedico.

*À minha esposa **Daniela** por todo Carinho,
Respeito e Renúncias, desde sempre;*

De coração, ofereço.

AO ORIENTADOR

Beremiz – O homem que calculava – e seu amigo Bagdalí viajavam pelo deserto quando se depararam com três homens discutindo junto a um lote de camelos.

O inteligente Beremiz logo procurou informar-se do que se tratava. Eram três irmãos que receberam como herança, 35 camelos, e segundo a vontade de vosso pai era que o filho mais velho recebesse a metade, o do meio, a terça parte e o mais novo apenas a nona parte do lote de camelos. Por entre pragas e impropérios gritavam furiosos por não saberem como proceder à divisão, pois a metade de 35 é 17 e meio e a terça e a nona parte também não são exatas.

Nesse momento Beremiz encarregou-se de fazer com justiça a divisão. Pediu a seu amigo Bagdalí, o camelo em que viajavam para juntar ao grupo de 35, formando-se assim um lote de 36 animais.

Então se dirigiu ao mais velho e disse:

--- Deverias receber a metade de 35 que é 17 e meio. Receberás então a metade de 36 e, portanto, 18. Nada tens a reclamar, pois é claro que saíste lucrando com essa divisão.

Dessa maneira procederam-se a divisão com o irmão do meio que deveria receber a terça parte de 35, a qual seria 11 e pouco, sendo que recebeu a terça parte de 36 que é 12. E o irmão mais novo também ficou satisfeito com a divisão, pois recebeu a nona parte de 36 que é 4, quando antes receberia 3 e tanto.

Assim Beremiz concluiu com segurança e serenidade:

--- Couberam 18 camelos ao primeiro, 12 ao segundo e 4 ao terceiro, o que dá um total de 34 camelos. Dos 36 animais, sobraram, portanto dois. Um pertence ao meu amigo Bagdalí o outro toca por direito a mim, por ter resolvido a contento de todos o problema da herança.

E o astucioso Beremiz – O homem que calculava – tomou logo posse de um dos mais belos camelos do grupo e disse ao seu amigo:

--- Poderá continuar a viagem no teu manso e seguro animal! Pois tenho outro, especialmente para mim.

E continuou a vossa jornada para Bagdá.

TAHAN, M. O homem que calculava. 30ª ed. Rio de Janeiro: Record, 1985, p. 19-20.

Assim é o nosso orientador. Que resolve, com segurança e humildade, parte dos nossos problemas contribuindo para nossa formação de futuros orientadores. Não deixando sobrepujar-se diante ao conhecimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela Vida e pela graça de poder desfrutá-la, com respeito, amor e esperança;

Ao amigo Prof. Dr. Dalton José Carneiro pelo apoio, disposição, confiança e incentivo;

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato pelas sugestões e principalmente pelo apreço demonstrado;

Aos membros da Banca examinadora: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya, Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura, Prof^a. Dr^a. Margarida Maria Barros e Prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati pela disponibilidade e pelas valiosas sugestões e correções deste trabalho;

À FAPESP pela bolsa de estudo e ao CNPq pelo auxílio financeiro, que muito colaboraram para o tranqüilo desenvolvimento das atividades de pesquisa;

Aos meus tios Laerte e Márcia e ao meu primo Gabriel pela torcida!

Aos pós-graduandos, Gustavo H. Squassoni (Vurto) e Gisele C. Favero (Solarga), pelo auxílio imprescindível à realização deste trabalho, dedicação e amizade;

Ao pós-graduando, Jefferson C. de Siqueira, pelo auxílio nas análises de regressão;

Aos amigos do CAUNESP, Adriana (Dri), Ana Laura e Junior, Camilo Pietro, Cristiane (Cris), Elis, Janessa, Laurindo e Michelle, Léo (Roquinho), Léo e Ana Elisa Bacarim, Luis Fernando (1/2 volts), Márcia Stech, Renatão, Rodrigo (Tigrão), Rogério (Abutre) e a todos aqueles que aqui não foram citados por falha ou absoluta falta de memória, valeu a amizade;

Aos funcionários do CAUNESP, Dona Ana, Cris, Daniel, Donizete, Elisandra, Fátima, João Batista, Márcio (Perereca), Mônica, Seu Mauro, Silvinha, Suerli, Valdecir, Vera Alice e Wilson da UAD pelo profissionalismo, amizade e auxílio á realização deste trabalho;

A todos os funcionários e pesquisadores do Pólo Regional do Noroeste Paulista/APTA, Principalmente ao Dr. Nelson Bortoletto e a Dr^a. Giane Serafim da Silva, por compreenderem e colaborarem com a execução das pesquisas;

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

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
CAPÍTULO 2. DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA, AMINOÁCIDOS E ENERGIA DIGESTÍVEL DE ALGUNS ALIMENTOS PARA O PACU <i>Piaractus mesopotamicus</i>	
Resumo.....	12
Abstract.....	13
Introdução.....	14
Matéria e Métodos.....	16
Resultados e Discussão.....	19
Referências.....	29
CAPÍTULO 3. LISINA DIGESTÍVEL E ESTIMATIVA DAS EXIGÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS PARA JUVENIS DE PACU <i>Piaractus mesopotamicus</i>	
Resumo.....	34
Abstract.....	35
Introdução.....	36
Matéria e Métodos.....	37
Resultados.....	41
Discussão.....	47
Referências.....	52
CAPÍTULO 4. SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE LISINA E/OU METIONINA NO DESEMPENHO PRODUTIVO E EXCREÇÃO DE NUTRIENTES DE JUVENIS DE PACU <i>Piaractus mesopotamicus</i> EM GAIOLAS	
Resumo.....	59
Abstract.....	60
Introdução.....	61
Matéria e Métodos.....	62
Resultados.....	67
Discussão.....	74
Referências.....	78
CAPÍTULO 5. IMPLICAÇÕES.....	82

Considerações gerais

O Brasil se destaca como um dos países de maior potencial para a expansão da aquicultura, no momento em que é crescente a demanda mundial por alimentos de origem aquática, não apenas em função da expansão populacional, mas também pela preferência por alimentos mais saudáveis (Valenti *et al.* 2000; FAO 2004). Neste sentido, a necessidade de desenvolver tecnologias que viabilizem a produção de espécies nativas tem levado os pesquisadores brasileiros a constantes estudos, principalmente no que diz respeito à alimentação e nutrição de peixes, uma vez que estes gastos podem atingir 60% do custo total de produção.

O conhecimento que a proteína é o nutriente mais oneroso da dieta e seu constituinte principal para o crescimento norteia as pesquisas no sentido de se conhecer a quantidade mínima de proteína que o organismo necessita para retribuir com melhor produção (Andrighetto *et al.* 1985). Fazendo uma análise de como a proteína da dieta se transforma em tecido muscular no peixe, pode-se dizer resumidamente que a proteína é hidrolisada até aminoácidos, que são absorvidos e deslocados até as células para síntese de novas proteínas, principalmente formação de tecido muscular. Deste modo, o conceito de exigência protéica fica um pouco confuso, pois na verdade os peixes não necessitam exatamente de proteína e sim de adequado balanceamento entre os aminoácidos essenciais e não essenciais que venham a constituir uma cadeia polipeptídica (Wilson 1985), que pode ser obtida pela combinação de ingredientes e/ou pela suplementação com aminoácidos sintéticos (Storebakken *et al.* 2000).

Como consequência, os estudos de nutrição animal, dentre eles os de organismos aquáticos, começaram a utilizar novos conceitos e metodologias em que os aminoácidos passaram a ter maior atenção, já que os alimentos utilizados em rações para peixes possuem diferenças quantitativas e qualitativas no perfil de aminoácidos.

A base das rações para peixes fabricadas no Brasil é constituída por ingredientes de origem vegetal. Os peixes onívoros possuem adaptações morfológicas e fisiológicas que

possibilitam a utilização de dietas com elevadas porcentagens de ingredientes vegetais, pois utilizam melhor os carboidratos (Halver 1989) e a proteína (aminoácidos) desses alimentos (Furuya 2000), em relação aos carnívoros. Isso possibilita redução do custo com a alimentação, pois esses são menos onerosos e encontram-se em maior disponibilidade que os ingredientes de origem animal (Hanley 1987; Degani *et al.* 1997). Em geral, as fontes de proteínas de origem vegetal e organismos unicelulares (como as leveduras) possuem deficiência de aminoácidos essenciais e/ou desbalanço entre eles, além da presença de fatores antinutricionais, que podem prejudicar a disponibilidade dos nutrientes da dieta (Pezzato 2001). Daí a necessidade de se conhecer o aproveitamento dessas fontes, principalmente de seus aminoácidos para espécies onívoras cultivadas no Brasil.

Dentre as espécies nativas, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) se destaca como uma das mais cultivadas nas regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste do Brasil, apresentando alto valor comercial, visto que possui carne de excelente sabor, rápido crescimento, fácil adaptação à alimentação artificial e podendo ainda ser explorado para a pesca esportiva (Castagnolli & Zuim 1985). Esta espécie de clima tropical é encontrada nas Bacias dos Rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Saint-Paul 1986). Na natureza, utiliza alimentos bastante diversificados, variando as fontes de nutrientes em função da sazonalidade. Segundo Silva (1985), o tipo de alimento observado no estômago do pacu do Pantanal mato-grossense é constituído principalmente de folhas, frutos e resíduos vegetais, sobretudo na enchente, e ainda restos de peixes, crustáceos e/ou moluscos na vazante, mostrando que se trata de uma espécie herbívora com preferência frugívora. Ainda, o pacu tem se destacado por apresentar altos coeficientes de digestibilidade da energia e proteína dos principais alimentos utilizados pelas fábricas de rações (Abimorad & Carneiro 2004), isto está relacionado principalmente as vantagens morfológicas e histológicas de seu aparelho digestório (Logato & Menin 1996 a, 1996 b). Estudos têm demonstrado que a exigência

protéica para alevino de pacu é em torno de 26% de PB (Carneiro *et al.* 1984, 1992; Fernandes *et al.* 2000; Abimorad & Carneiro 2007); porém, poucas são as pesquisas realizadas a respeito da qualidade protéica e necessidades de aminoácidos para esta espécie (Kubitza 1990; Munõz-Ramírez & Carneiro 2002). Além disso, atualmente a SEAP-PR (Secretaria de Aquicultura e Pesca da Presidência da República Brasileira) incentiva a criação de espécies nativas em tanques-rede, principalmente o pacu, no reservatório de Itaipu, no rio Paraná (Scolese 2007).

Para expressar as exigências de aminoácidos como relações ideais, deve-se eliminar ou reduzir os efeitos dos diversos fatores que afetam a sua utilização, como por exemplo: fatores dietéticos (consumo de alimento, fatores antinutricionais, níveis de nutrientes, relação ED/PD, além das inter-relações entre os próprios aminoácidos), fatores genéticos (hábito alimentar, sexo e idade), fatores ambientais (temperatura, densidade de estocagem, etc.), além de outros fatores importantes como a diferença entre as metodologias empregadas. Segundo Halver (1989), o nível protéico “ótimo” exigido pelos peixes está intimamente relacionado ao balanço energético-protéico e a composição e digestibilidade em aminoácidos, bem como a quantidade e a qualidade da fonte de energia não protéica (lipídios e carboidratos). Uma vez determinadas as relações entre energia e proteína digestíveis para juvenis de pacu (Abimorad *et al.* 2007), será possível maximizar o aproveitamento da fração protéica da ração e expressar as exigências em aminoácidos digestíveis para esta espécie por meio do conceito de proteína ideal.

O conceito de proteína ideal se baseia no balanceamento de aminoácidos livres ou ligados a proteínas, prontamente disponíveis à digestão e metabolismo para se obter ótimo desempenho produtivo (Sakomura & Rostagno 2008). A relação entre os aminoácidos da proteína ideal teoricamente deveria ser idêntica ao perfil de aminoácidos do corpo e à exigência do animal para crescimento e manutenção das atividades metabólicas (Parsons & Baker 1994).

As metodologias tradicionais utilizadas para a determinação das exigências nutricionais para os diferentes aminoácidos em rações para peixes, baseavam-se em ensaios dose-resposta para cada aminoácido (Wilson 1989), o que levava à realização de pesquisas com alto custo e longo tempo de duração (Small & Soares 1998). No entanto, com o conceito de proteína ideal, proposto na nutrição de monogástricos, todos os aminoácidos essenciais são expressos como taxas ideais ou porcentagens de um aminoácido referência, normalmente o mais limitante. Assim, determinada a exigência do aminoácido mais limitante, por exemplo: a lisina para o pacu (Munõz-Ramírez & Carneiro 2002), a exigência dietética para todos os outros aminoácidos pode ser estimada por meio do perfil de aminoácidos apresentados no músculo dos peixes de acordo com a metodologia descrita por Tacon (1987). Pois, o perfil de aminoácidos da proteína do músculo esquelético é o mais utilizado nas pesquisas para melhor representar as exigências nutricionais em aminoácidos, por ser o tecido substancialmente formado durante o crescimento (Wilson & Cowey 1985; Wilson & Poe 1985; Kaushik 1998; Kim & Lall 2000).

Muito embora as exigências nutricionais dos aminoácidos, estimadas por este conceito, possam não estar de acordo com os valores obtidos num estudo de crescimento, é possível inferir que esta metodologia apresenta resultados rápidos e com menor custo, sem, contudo, levar a grandes erros na determinação das exigências protéicas e de aminoácidos em peixes. Sendo assim, apesar das exigências de aminoácidos mudarem por diversas razões (temperatura da água, tamanho do peixe, taxa de arraçoamento, qualidade da proteína e participação das fontes energéticas não protéicas), as proporções entre os aminoácidos permanecem bastante estáveis, não havendo a necessidade da realização de experimentos individualizados para os 10 aminoácidos essenciais, e sim apenas para um ou mais aminoácidos limitantes para a espécie estudada (Wilson & Cowey 1985). A vantagem do uso deste conceito é que o mesmo pode ser adaptado facilmente a diferentes situações, principalmente na formulação de rações nutricionalmente completas, sendo que as

relações ideais mantêm-se relativamente estáveis, independente das trocas de alimentos no plano nutricional.

Diante disso, é relevante lembrar que os alimentos podem apresentar elevados conteúdos de nutrientes de pouco valor biológico. Assim, além de conhecermos a digestibilidade dos nutrientes e da energia dos alimentos, estes somente poderão ser utilizados com eficiência quando a digestibilidade de todos os aminoácidos que os compõem for conhecida (Köprücü & Özdemir 2005). A determinação da digestibilidade de aminoácidos dos principais ingredientes utilizados em rações apresenta fundamental importância. Ainda que exista correlação entre os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e aminoácidos (Hossain & Jauncey 1989), é importante distinguir a digestibilidade individual dos aminoácidos, pois a digestibilidade da proteína não reflete a disponibilidade de alguns aminoácidos essenciais (Wilson *et al.* 1981; Masumoto *et al.* 1996; De Silva *et al.* 2000).

Atualmente, existem poucas informações sobre a digestibilidade dos aminoácidos presentes nos alimentos utilizados em rações para peixes e sobre o emprego de aminoácidos sintéticos. As indústrias de ração estão cada vez mais utilizando aminoácidos sintéticos para suplementação de dietas confeccionadas com ingredientes de baixa qualidade ou que apresentam desbalanço de aminoácidos. No entanto, os estudos relacionados ao aproveitamento de aminoácidos podem proporcionar respostas aos nutricionistas para obtenção de dietas completas que atendam as exigências nutricionais das espécies eleitas, pela suplementação com aminoácidos sintéticos e/ou pela combinação de ingredientes.

Twibell *et al.* (2003) relataram que as taxas de crescimento em peixes alimentados com dietas contendo aminoácidos livres são geralmente inferiores às aquelas em peixes alimentados com dietas contendo aminoácidos ligados a proteína. Em fato, os aminoácidos

adicionados nas rações em grande quantidade podem ser perdidos na água por lixiviação ou não serem assimilados pelos animais, devido à hipótese de que os aminoácidos livres sobrecarregam os sítios de absorção passando direto pelo trato gastrointestinal. Mas quando absorvidos, os aminoácidos presentes no plasma (derivados da proteína dietética e da degradação de proteína intracelular) são usados como fontes de energia ou como precursores para síntese protéica. Neste sentido, cada vez mais pesquisas tem sido feitas para reduzir o nível de proteína das dietas, bem como, substituir a farinha de peixe por fontes protéicas de origem vegetal. No entanto, ingredientes vegetais podem apresentar algumas características indesejáveis como a diminuição da disponibilidade de minerais, especialmente o fósforo, a presença de fatores antinutricionais e a falta de balanceamento entre os aminoácidos (Lovell 1989), havendo a necessidade de suplementação de aminoácidos e outros nutrientes como fontes de fósforo.

Lisina e metionina são os aminoácidos mais limitantes em dietas para peixes de águas quentes. A suplementação desses aminoácidos em dietas deficientes tem melhorado o crescimento de várias espécies de peixes como a carpa comum (Viola & Lahav 1991), bagre do canal (Robinson & Li 1994) e a tilápia do Nilo (El-Saidy & Gaber 2002). Entretanto, quando não utilizados com eficiência sua suplementação pode tornar-se inviável (Li & Robinson 1998; Webster *et al.* 2000; Hansen *et al.* 2007).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar os valores digestíveis dos aminoácidos de alguns alimentos selecionados para juvenis de pacu, estimar a exigência em aminoácidos digestíveis para esta espécie, por meio do conceito de proteína ideal, e avaliar o desempenho produtivo deste peixe alimentado com rações suplementadas com aminoácidos sintéticos em ensaio de campo, além de avaliar as taxas de excreção de nitrogênio e fósforo na água.

Referências

- Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2004) Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **33**, 1101-1109.
- Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2007) Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles-fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*, **13**, 1-9.
- Abimorad, E.G., Carneiro, D.J. & Urbinati, E.C. (2007) Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*, **38**, 36-44.
- Andriguetto, J. M.; Perly, L.; Minardi, I.; Flemming, J. S.; Gemael, A.; Souza, G. A.; Bona Filho, A. (1985) *Nutrição animal*. 4.ed. São Paulo: Nobel, v.1, p.71-79, 110-134.
- Borghetti, J.R. & Canzi, C. (1993) The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. *Aquaculture*, **114**, 93-101.
- Carneiro, D.J., Castagnolli, N., Machado, C.R. & Verardino, M. (1984) Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). I – Níveis de proteína dietária. In: Anais do III Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, ABRAQ, pp.105-123. São Carlos, SP, Brasil.
- Carneiro, D.J., Wagner, P.M. & Dias, T.C.R. (1992) Efeito da densidade de estocagem e do nível de proteína bruta na dieta, no desempenho de produção de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: Anais do VII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, ABRAQ, pp. 52-61, Peruíbe, SP, Brasil.
- Castagnolli, N. & Zuim, S.M.F. (1985) *Consolidação do conhecimento adquirido sobre o pacu Colossoma mitrei* (BERG, 1895), pp. 26. FCAV/UNESP. Jaboticabal, SP, Brazil.
- De Silva, S.S., Gunasekara, R.M. & Gooley, G. (2000) Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) and Australian shortfin eel *Anguilla australis* Richardson. *Aquaculture Research*, **31**, 195-205.

- Degani, G.; Viola, S.; Yehuda, Y. (1997) Apparent digestibility of protein and carbohydrate in feed ingredients for adult tilapia (*Oreochromis aureus* x *O. niloticus*). *The Israeli Journal of Aquaculture*. **49**, n. 3, p. 115-123.
- El-Saidy, D.M.S.D & Gaber, M.M.A. (2002) Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lisylne supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *The Journal of the World Aquaculture Society*, **33**, 297-306.
- FAO. Food and Agricultural Organization. (2004) *The state of world fisheries and aquaculture: 2004*. Rome: FAO, 168p.
- Fernandes, J.B.K., Carneiro, D.J. & Sakomura, N.K. (2000) Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **29**, 646-653.
- Furuya, W.M. (2000) *Digestibilidade aparente de aminoácidos e substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína do farelo de soja com base no conceito de proteína ideal em rações para a tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. Botucatu, Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- Halver, J.E. (1989). *Fish Nutrition*. San Diego, California USA. 798 p.
- Hanley, F. (1987) The digestibility of foodstuffs in the effects of feeding selectivity on digestibility determination in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, **66**, 163-179.
- Hansen, A.C., Rosenlund, G., Karlsen, Ø, Koppe, W. & Hemre, G.I. (2007) Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I – Effects on growth and protein retention. *Aquaculture*, **272**, 599-611.
- Hossain, M.A. & Jauncey, K. (1989) Studies on the protein, energy and amino acids digestibility of fish meal, mustard oilcake, linseed and sesame meal for common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, **83**, 59-72.
- Kaushik, S.J. (1998) Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. *Aquatic Living Resources*, **11**, 355-358.

- Kim, J.D. & Lall, S.P. (2000) Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellow-tail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, **187**, 367-373.
- Köprücü, K. & Özdemir, Y. (2005) Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, **250**, 308-316.
- Kubitza, F. (1990) Substituição total da farinha de peixe pelo farelo de soja em rações para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), suplementadas com metionina. Dissertação. Produção Animal, USP, Piracicaba, SP, Brasil.
- Li, M.H. & Robinson, E.H. (1998) Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **163**, 297-307.
- Logato, P.V.R. & Menin, E. (1996 a) Anatomia funcional do aparelho digestivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1889. In: Anais do IX Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, ABRAQ, p. 35, Sete Lagoas, SP, Brasil.
- Logato, P.V.R. & Menin, E. (1996 b) Histologia funcional do aparelho digestivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1889. In: Anais do IX Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, ABRAQ, p. 36, Sete Lagoas, SP, Brasil.
- Lovell, R.T. (1989) *Nutrition and feeding of fish*. Van Nostrand Reinhold, New York, NY, USA.
- Masumoto, T., Ruchimat, T., Ito, Y., Hosokawa, H. & Shimeno, S. (1996) Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, **146**, 109-119.
- Merola, N. & Souza, H. (1988) Preliminary studies on the culture of the pacu, *Colossoma mitrei*, in floating cages: Effect of stocking density and feeding rate on growth performance. *Aquaculture*, **68**, 243-248.
- Muñoz-Ramírez, A.P. & Carneiro, D.J. (2002) Lysine and methionine supplementation in diets with low protein level for the initial growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). *Acta Scientiarum*, **24**, 909-916.

- Parsons, C.M.; Baker, D.H. (1994) The concept and use of ideal protein in the feeding of nonruminants. In: *Simpósio Internacional de Produção de Não Ruminantes*, EDUEM, p. 119-128, Maringá, PR, Brasil.
- Pezzato, L.E. (2001) *Digestibilidade em peixes*. Botucatu, 82p. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- Robinson, E.H. & Li, M.H. (1994) Use of plant protein in catfish feeds: replacement of soybean meal with cottonseed meal and replacement fish meal with soybean meal and cottonseed meal. *The Journal of the World Aquaculture Society*, **25**, 271-276.
- Saint-Paul, U. (1986) Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, **54**, 205-240.
- Sakomura, N.K. & Rostagno, H.S. (2007) Método dose-resposta para determinar exigências nutricionais. In: *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos*, pp. 156-194. Funep, Jaboticabal, SP, Brazil.
- Scolese, E. (2007) Governo vai licitar lagos e rios para o cultivo de peixes. *Folha de São Paulo*, São Paulo, Brazil, 19 nov. p.B3.
- Silva, A.J. (1985) Regime alimentar do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895) no Pantanal de Mato Grosso em relação à flutuação do nível da água. In: Anais do XII Congresso Brasileiro de Zoologia, UNICAMP, p.179. Campinas, SP, Brasil.
- Small, B.C. & Soares Jr, J.H. (1998) Estimating the quantitative essential amino acid requirements of striped bass *Morone saxatilis*, using fillet A/E ratios. *Aquaculture Nutrition*, **4**, 225-232.
- Storebakken, T., Shearer, K.D., Baeverfjord, G., Nielsen, B.G., Åsgård, T., Scott, T. & De Laporte, A. (2000) Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture*, **184**, 115-132.
- Tacon, A.G.J. (1987) The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – training manual. I. The essential nutrients. FAO, pp. 117. Brasilia, DF, Brazil.
- Twibell, R.G., Griffin, M.E., Martin, J., Price, J. & Brown, P.B. (2003) Predicting dietary essential amino acid requirements for hybrid striped bass. *Aquaculture Nutrition*, **9**, 373-381.

- Valenti, W.C.; Poli, C.R.; Pereira, J.A.; Borghetti, J.R. (2000) *Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília: CNPq, 399 p.
- Viola, S. & Lahav, E. (1991) Effects of lysine supplementation in practical carp feeds on total protein sparing and reduction of pollution. *The Israeli Journal of Aquaculture*, **43**, 112-118.
- Webster, C.D., Tiu, L.G., Morgan, A.M. & Gannam, A.L. (2000) Differences in growth in blue catfish *Ictalurus furcatus* and channel catfish *I. punctatus* fed low-protein diets with and without supplemental methionine and/or lysine. *The Journal of the World Aquaculture Society*, **31**, 195-205.
- Wilson, R.P. & Cowey, C.B. (1985) Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, **48**, 373-376.
- Wilson, R.P. & Poe, W.E. (1985) Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, **80B**, 385-388.
- Wilson, R.P. (1985) Amino acid and protein requirements of fish. In: El-Sayed E Teshima, C.B.; Mackie, A.M.; Bell, J.G. *Nutrition and feeding of fish*. Academic Press, London, p.1-16.
- Wilson, R.P. (1989) Amino acids and proteins. In: Halver, J.E. *Fish Nutrition*. Academic Press, London, cap.3, p.111-151.
- Wilson, R.P., Robinson, E.H. & Poe, W.E. (1981) Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for channel catfish. *The Journal of Nutrition*, **111**, 923-929.

Digestibilidade de proteína, aminoácidos e energia digestível de alguns alimentos para o pacu *Piaractus mesopotamicus*

Eduardo Gianini Abimorad^{1,2}, Gustavo Henrique Squassoni¹, Dalton José Carneiro¹

¹ UNESP - Universidade Estadual Paulista/CAUNESP - Centro de Aquicultura, Jaboticabal, SP, Brasil. ² APTA/SAA-SP - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios/Pólo Regional Noroeste Paulista, Votuporanga, SP, Brasil.

Resumo - Neste estudo foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos (AA), proteína e energia de seis alimentos utilizados em dietas para o pacu. Os ingredientes apresentaram altos valores de digestibilidade para todos os aminoácidos e diferenças foram detectadas entre os CDA individuais dos aminoácidos dos alimentos ($P < 0,01$). O glúten de milho, o farelo de soja e a farinha de peixe foram os alimentos que apresentaram os maiores CDA para os aminoácidos, mas seus CDA da proteína não devem ser usados como indicativo para a digestibilidade médias dos AA. Dentre os alimentos, o glúten de milho apresentou alto CDA da energia. O escore químico dos alimentos mostrou que a lisina é o primeiro aminoácido limitante para a farinha de peixe, glúten de milho, farelo de trigo e milho e o segundo limitante para o farelo de soja. A metionina apresentou-se como primeiro limitante para o farelo de soja e a levedura. No entanto, o farelo de soja revelou-se a fonte de proteína de melhor qualidade por apresentar o maior índice de aminoácidos essenciais digestíveis (133,1). Os resultados deste estudo demonstraram que os valores de aminoácidos digestíveis podem ser utilizados na formulação de rações balanceadas para o pacu.

Palavras chave: *Piaractus mesopotamicus*, aminoácidos digestíveis, escore químico, ingredientes, qualidade da proteína.

Apparent digestibility of protein, amino acids and energy in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*

Abstract - The apparent digestibility coefficients (ADCs) of amino acids (AA), protein, and energy in six feed ingredients (Brazilian fish meal, soybean meal, corn gluten meal, yeast, corn, and wheat middling) were evaluated for pacu juveniles. In general, all ingredients showed high digestibility values for all AA, and differences among ADCs of individual amino acid were detected ($P<0.01$). Corn gluten, soybean, and fish meals had the highest ADCs of AA. The ADCs of protein in fish meal, yeast, and corn gluten meal should not be used as AA digestibility indicators, because those showed differences up to 6.7% between the ADCs of protein and AA. All ingredients had lower ADCs of energy than corn gluten meal ($P<0.01$). Lysine was the first limiting amino acid in fish meal, corn gluten meal, wheat middling, and corn, and the second limiting amino acid in soybean meal, as methionine was the first limiting amino acid in soybean meal and yeast. However, the soybean meal was the best quality protein source, as it had the highest digestible essential amino acid index. This demonstrated that digestible amino acid values can be used to formulate practical diets for pacu, preventing potential deficiencies or excess that might cause environmental and economic losses.

Key Words: *Piaractus mesopotamicus*, digestible amino acids, feed ingredients, chemical score, protein quality.

Introdução

A composição química de um alimento pode dar a impressão deste ser excelente fonte de nutrientes para compor uma dieta, mas será de baixo valor nutritivo se seus nutrientes não forem bem digeridos e absorvidos no trato gastrointestinal da espécie alvo (Köprücü & Özdemir 2005). Além do conhecimento dos coeficientes de digestibilidade de seus nutrientes e energia, um ingrediente somente poderá ser utilizado com eficiência quando a digestibilidade dos aminoácidos que o compõem for conhecida; ainda que exista correlação entre os coeficientes de digestibilidade da proteína e dos aminoácidos (Hossain & Jauncey 1989), é importante distinguir a digestibilidade individual dos aminoácidos, pois somente o teor de proteína digestível não reflete a disponibilidade de alguns aminoácidos essenciais (Wilson *et al.* 1981; Masumoto *et al.* 1996; De Silva *et al.* 2000).

Existem poucas informações sobre a biodisponibilidade dos aminoácidos presentes nos alimentos utilizados em rações para peixes, principalmente para as espécies de água quente. O pacu *Piaractus mesopotamicus* é uma das espécies de clima tropical mais cultivada no Brasil devido ao domínio na produção de alevinos, rápido crescimento e excelente sabor da carne, além de ser bastante procurado para a pesca esportiva (Castagnolli & Zuim 1985; Jomori *et al.* 2003). O pacu tem se destacado por apresentar altos coeficientes de digestibilidade da energia e proteína de vários ingredientes utilizados pelas fábricas de rações (Abimorad & Carneiro 2004). Isto está relacionado principalmente com as vantagens morfológicas e histológicas de seu sistema digestório (Logato & Menin 1996 a, 1996 b) e ao seu hábito alimentar frugívoro-herbívoro (Silva 1985). Estudos têm demonstrado que o nível adequado de proteína em dietas para juvenis de pacu é em torno de 25-26% (Carneiro *et al.* 1984, 1992; Fernandes *et al.* 2000; Abimorad & Carneiro 2007); porém, poucas são as pesquisas realizadas a respeito da qualidade protéica e a

necessidades de aminoácidos para esta espécie (Kubitza 1990; Munõz-Ramírez & Carneiro 2002).

Alguns ingredientes disponíveis em fábricas de rações foram selecionados para serem avaliados para juvenis de pacu. A farinha de peixe é historicamente considerada ingrediente padrão em dietas para organismos aquáticos, podendo apresentar diferenças significativas na quantidade e qualidade de seus nutrientes devido à origem da matéria-prima e ao processo empregado para sua obtenção (Allan *et al.* 2000). O farelo de soja é o primeiro ingrediente de origem vegetal a substituir a farinha de peixe, apresentando equilibrado perfil de aminoácidos e disponibilidade no mercado a um baixo preço (Carter & Hauler 2000). O glúten de milho apresenta alto teor protéico e baixo níveis de fatores antinutricionais, mas com balanço não adequado entre os aminoácidos (Pereira & Oliveira-Teles 2003). A levedura é fonte de proteína unicelular muito utilizada como aglutinante e fonte de vitaminas do complexo B. Embora seu uso seja limitado devido à alta concentração de ácidos nucléicos (Rumsey *et al.* 1991), sua disponibilidade se apresenta como atrativo econômico para alimentação animal. O milho e o farelo de trigo são as fontes energéticas mais utilizadas e contribuem com até 25% da proteína de dietas para espécies onívoras.

Diante disto, o objetivo deste estudo foi determinar os coeficientes de digestibilidade aparente de energia, proteína e aminoácidos de seis ingredientes utilizados em rações para peixes (farinha de peixe brasileira, farelo de soja, glúten de milho, levedura, milho e farelo de trigo), confirmar os aminoácidos digestíveis limitantes para cada ingrediente, por meio da relação entre seus valores de aminoácidos e os do músculo do pacu, assim como avaliar a qualidade da proteína e a digestibilidade dos aminoácidos para juvenis de pacu.

Material e métodos

Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade foi adotado o método de coleta parcial de fezes, que utiliza o óxido de cromo-III (Cr_2O_3) como indicador inerte, de acordo com a metodologia descrita por Nose (1960).

Uma dieta de referência para o pacu foi elaborada com os alimentos estudados, de modo a conter aproximadamente 23% de proteína digestível (PD), 4% de lipídio e 46% de carboidratos, de acordo com as observações de Abimorad & Carneiro (2007) (Tabela 1). As dietas-teste foram constituídas em 70% da dieta referência, 30% do ingrediente testado, adicionado de 1% de Cr_2O_3 , segundo a metodologia de Cho & Slinger (1979). Os coeficientes de digestibilidade foram calculados de acordo com a fórmula sugerida por Forster (1999), que considera a proporção do nutriente oriundo do ingrediente testado presente na dieta de referência. Os ingredientes foram finamente moídos, misturados e as rações foram extrusadas (extrusora Extrutech) em grânulos de aproximadamente 4 mm de diâmetro.

Foram utilizados 180 juvenis de pacu com peso médio inicial de $34,2 \pm 13,8\text{g}$, distribuídos em 18 caixas de fibrocimento (100L). Estas caixas, chamadas de alimentação, eram abastecidas continuamente por água proveniente de poço artesiano, com temperatura média de $29,18 \pm 0,26^\circ\text{C}$ e taxa de renovação de aproximadamente dez vezes ao dia. Para coleta de fezes foi utilizado o sistema de Guelph modificado, que consiste em aquários cilíndricos de fundo cônico (80L), com um tubo de ensaio acoplado por um pedaço de mangueira de silicone em sua extremidade inferior, onde, após a decantação das fezes dos peixes, um registro de esfera localizado acima do tubo de ensaio era fechado e as fezes coletadas.

Tabela 1 Dieta de referência

Ingrediente (%)	Dieta de referência
Farinha de peixe	6,7
Farelo de soja	12,2
Glúten de milho	14,2
Levedura	6,6
Milho	29,5
Farelo de trigo	25,0
Óleo de soja	2,4
Celulose microfina	2,4
Suplemento vit. e min.*	1,0
<i>Composição analisada</i>	
Matéria seca (%)	91,1
Proteína bruta (%)	26,3
Proteína digestível (%)	22,9
Extrato etéreo (%)	4,9
Fibra bruta (%)	7,8
Matéria mineral (%)	5,6
Extrato não nitrogenado (%)	46,4
Energia bruta (kcal/kg)	4241,4
Energia digestível (kcal/kg)	3200,1

* ROVIMIX PEIXE® (Hoffman La Roche, Switzerland) ingrediente/kg suplemento: Vitaminas A=5000.000 UI, D3=200.000 UI, E=5.000 UI, K3=1.000,0 mg, B1(tiamina)=1.500,0 mg, B2(riboflavina)=1.500,0 mg, B6(piridoxina)=1.500,0 mg, B12=4.000,0 mcg, C=15.000,0 mg, Ácido Fólico=500,0 mg, Ácido pantotênico=4.000,0 mg, B.H.T.=12,25 g, Biotina=50,0 mg, Inositol=1.000,0 mg, Nicotinamida=7.000,0 mg, Colina=40,0 g, Cobalto=10,0 mg, Cobre=500,0 mg, Ferro=5000,0 mg, Iodo=50,0 mg, Manganês=1.500,0 mg, Selênio=10,0 mg, Zinco=5.000,0 mg, Veículo q.s.p.=1.000,0 g

Os peixes foram alimentados com as dietas-teste duas vezes por dia (8:30 e 17:30

h) durante uma semana e depois transferidos para os aquários de coleta. As fezes foram repetidamente coletadas em intervalos de 30 minutos para evitar a lixiviação de nutrientes, e armazenadas em refrigerador, até completar-se a quantidade necessária para as análises. Após o término das coletas, as amostras de fezes foram secas em estufa com circulação de ar forçada a 55°C por 72 h.

Após a realização da análise quantitativa do Cr₂O₃ e dos nutrientes nas dietas-teste e nas fezes, a digestibilidade foi calculada por meio da seguinte fórmula:

$$CDA(\%) = 100 - 100 \times \left(\frac{\%Cr_2O_3_{dieta}}{\%Cr_2O_3_{fezes}} \right) \times \left(\frac{\%Nutrientes\ ou\ energia_{fezes}}{\%Nutrientes\ ou\ energia_{dieta}} \right);$$

Os valores dos CDA da energia, proteína e aminoácidos dos ingredientes foram calculados de acordo com a fórmula descrita por Forster (1999).

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

Onde: a = Proporção de proteína, aminoácidos ou energia oriunda do ingrediente na dieta de referência, multiplicado por 70%; b = Proporção de proteína, aminoácidos ou energia do ingrediente, multiplicado 30%.

As análises de proteína e energia bruta dos ingredientes, das rações e das fezes, foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do CAUNESP (LANOA) e no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal, de acordo com as normas da AOAC (2000). As análises de aminoácidos totais foram realizadas por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC), no Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada ITAL/Campinas. As concentrações de Cr_2O_3 das fezes e das rações foram determinadas por digestão nitro-perclórica, de acordo com a metodologia descrita por Furukawa & Tsukahara (1966).

A qualidade da proteína dos ingredientes foi avaliada pelo método do escore químico (EQ) e por meio do índice de aminoácidos essenciais (IAAE). Ambos os métodos comparam os valores dos aminoácidos digestíveis dos alimentos em relação ao perfil de aminoácidos do tecido muscular de juvenis de pacu (Hepher 1988). Para isso, seis peixes da mesma população dos utilizados no experimento foram sacrificados por imersão em gelo e amostras do músculo branco foram retiradas para as análises de aminoácidos.

O aminoácido essencial que apresentou o menor valor do EQ foi considerado como o primeiro limitante para cada ingrediente.

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

O índice de aminoácidos essenciais (IAAE) é um cálculo mais apurado, dado pela média geométrica da taxa de todos os aminoácidos essenciais obtidos anteriormente pelo escore químico, considerando que a proteína de melhor qualidade é a que apresenta o maior valor do IAAE.

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

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

Um delineamento inteiramente casualizado foi utilizado para comparar os resultados dos coeficientes de digestibilidade da proteína, da energia e dos aminoácidos dos seis ingredientes estudados. Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analyses System SAS® v.8 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), por meio de análise de variância (ANOVA). Quando apresentou significância estatística, foi aplicado o teste de Tukey ($P < 0,05$), para comparação das médias.

Resultados e discussão

Os resultados dos CDA dos aminoácidos, da proteína e energia dos ingredientes estão apresentados na Tabela 2. Os ingredientes avaliados apresentaram altos valores de digestibilidade para todos os aminoácidos, e diferenças foram detectadas entre os CDA individuais dos aminoácidos dos ingredientes ($P < 0,01$).

Tabela 2 Coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos, proteína e energia dos ingredientes avaliados para o pacu

Aminoácidos	Coeficiente de digestibilidade aparente (%)							ANOVA Valores de P
	FP	FS	LV	GM	FT	ML		
AAE								
Arginina	94,8 ± 0,5 ^{ab}	95,7 ± 0,2 ^a	93,7 ± 1,1 ^{ab}	95,7 ± 0,2 ^a	94,3 ± 0,8 ^{ab}	92,5 ± 2,0 ^b	0,0023	
Histidina	93,5 ± 0,6 ^{abc}	94,2 ± 0,3 ^{ab}	92,2 ± 1,2 ^{bc}	94,4 ± 0,2 ^a	92,6 ± 1,0 ^{abc}	91,8 ± 1,7 ^c	0,0057	
Isoleucina	88,0 ± 1,0 ^a	88,8 ± 0,6 ^a	85,6 ± 1,7 ^{ab}	88,9 ± 0,4 ^a	83,8 ± 3,0 ^{ab}	80,9 ± 4,9 ^b	0,0012	
Leucina	92,6 ± 0,9 ^{ab}	93,3 ± 0,5 ^a	90,9 ± 1,8 ^{ab}	94,1 ± 0,2 ^a	89,4 ± 2,7 ^b	91,1 ± 1,8 ^{ab}	0,0040	
Lisina	89,3 ± 0,7 ^a	90,0 ± 0,5 ^a	88,3 ± 1,0 ^a	88,7 ± 0,9 ^a	86,7 ± 1,9 ^{ab}	81,7 ± 5,3 ^b	0,0014	
Metionina	89,8 ± 0,7 ^a	89,3 ± 1,0 ^a	85,1 ± 2,5 ^{ab}	90,4 ± 0,3 ^a	82,8 ± 4,3 ^{ab}	79,8 ± 6,6 ^b	0,0014	
Fenilalanina	92,6 ± 0,8 ^{abc}	93,6 ± 0,4 ^{ab}	91,1 ± 1,5 ^{abc}	94,1 ± 0,2 ^a	90,6 ± 1,9 ^{bc}	90,2 ± 2,3 ^c	0,0035	
Treonina	87,5 ± 1,0 ^a	88,1 ± 0,6 ^a	84,3 ± 1,7 ^{ab}	88,6 ± 0,5 ^a	83,9 ± 2,6 ^b	81,1 ± 4,4 ^b	0,0009	
Valina	87,5 ± 1,0 ^a	88,1 ± 0,7 ^a	85,3 ± 1,7 ^{ab}	88,5 ± 0,4 ^a	84,2 ± 2,5 ^{ab}	81,3 ± 4,3 ^b	0,0015	
<i>Média AAE</i>	90,6 ± 0,8 ^a	91,2 ± 0,5 ^a	88,5 ± 1,5 ^{ab}	91,5 ± 0,4 ^a	87,6 ± 2,3 ^{ab}	85,6 ± 3,7 ^b	0,0021	
AAANE								
A. Aspártico	91,0 ± 0,8 ^a	92,3 ± 0,3 ^a	89,7 ± 1,2 ^{ab}	92,2 ± 0,3 ^a	88,7 ± 1,9 ^b	86,3 ± 3,7 ^b	0,0014	
A. Glutâmico	94,1 ± 0,8 ^{abc}	95,4 ± 0,3 ^{ab}	92,8 ± 1,6 ^c	95,8 ± 0,2 ^a	93,6 ± 1,1 ^{abc}	93,2 ± 1,5 ^{bc}	0,0041	
Alanina	88,2 ± 1,0 ^{ab}	88,7 ± 0,8 ^{ab}	85,1 ± 2,3 ^{ab}	89,6 ± 0,3 ^a	84,2 ± 3,1 ^b	83,8 ± 3,5 ^b	0,0035	
Cistina	91,6 ± 0,9 ^{ab}	92,4 ± 0,4 ^a	83,8 ± 4,8 ^c	91,3 ± 0,3 ^{ab}	89,3 ± 1,5 ^{ab}	86,4 ± 2,9 ^{bc}	0,0005	
Glicina	85,8 ± 0,9 ^a	86,2 ± 0,8 ^a	81,8 ± 2,6 ^{ab}	86,0 ± 0,8 ^a	83,4 ± 2,0 ^{ab}	77,8 ± 5,6 ^b	0,0019	
Serina	91,4 ± 0,9 ^{abc}	92,5 ± 0,4 ^{ab}	89,7 ± 1,4 ^{abc}	93,0 ± 0,3 ^a	89,4 ± 1,9 ^{bc}	88,3 ± 2,7 ^c	0,0017	
Prolina	91,8 ± 0,9 ^{ab}	92,9 ± 0,5 ^a	88,7 ± 2,7 ^b	93,5 ± 0,2 ^a	90,8 ± 1,6 ^{ab}	90,6 ± 1,7 ^{ab}	0,0033	
Tirosina	93,5 ± 0,7 ^{ab}	94,2 ± 0,3 ^a	91,7 ± 1,4 ^{ab}	94,8 ± 0,2 ^a	90,9 ± 2,1 ^b	90,6 ± 2,4 ^b	0,0016	
<i>Média AAANE</i>	90,9 ± 0,8 ^{abc}	91,8 ± 0,5 ^{ab}	87,9 ± 2,2 ^{bc}	92,0 ± 0,3 ^a	88,8 ± 1,9 ^{abc}	87,1 ± 3,0 ^c	0,0024	
<i>Média AA Totais</i>								
Proteína	90,8 ± 0,8 ^a	91,5 ± 0,5 ^a	88,2 ± 1,9 ^{ab}	91,7 ± 0,3 ^a	88,2 ± 2,1 ^{ab}	86,3 ± 3,4 ^b	0,0024	
Energia	84,6 ± 4,9 ^{ab}	90,6 ± 4,2 ^{ab}	81,5 ± 6,5 ^b	95,6 ± 2,0 ^a	87,7 ± 4,4 ^{ab}	85,8 ± 1,0 ^{ab}	0,0209	
	74,5 ± 2,6 ^b	78,1 ± 3,5 ^b	73,0 ± 2,0 ^b	86,0 ± 3,1 ^a	74,4 ± 2,3 ^b	75,8 ± 0,8 ^b	0,0004	

Médias (n=3) ± desvio padrão; Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem estatisticamente (Tukey P > 0,01).

FP – Farinha de peixe; FS – Farelo de soja; LV – Levedura; GM – Glúten de milho; FT – Farelo de milho; ML – Milho

Os CDA de isoleucina, metionina e valina para todos os alimentos avaliados apresentaram a mesma tendência das médias dos CDA dos AAE, apresentando os maiores valores para o glúten de milho (91,5%), farelo de soja (91,2%) e a farinha de peixe (90,6%), seguido da levedura (88,5%), farelo de trigo (87,6%) e do milho (85,6%), que apresentou o menor CDA ($P<0,01$). Os CDA da arginina, histidina, leucina e fenilalanina apresentaram-se maiores em relação às médias dos CDA dos AAE para todos os ingredientes avaliados, mostrando que esses aminoácidos, independente da fonte, são altamente disponíveis para o pacu. Portz & Cyrino (2004) encontraram resultados semelhantes dos CDA da arginina e histidina para o farelo de soja, glúten de milho e a farinha de vísceras de frango pelo “largemouth bass”, *Micropterus salmoides*. Por outro lado, Furuya *et al.* (2001) encontraram baixos valores de digestibilidade para histidina da farinha de peixe (73,5%) e farelo de trigo (68,7%) pela tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*.

O glúten de milho, farelo de soja e a farinha de peixe apresentaram as maiores médias dos CDA dos aminoácidos totais. Por outro lado, o valor do CDA da fração protéica da farinha de peixe foi 6% menor que o do farelo de soja e 11% menor que o do glúten, embora não estatisticamente diferentes (Tabela 2). As médias dos CDA dos aminoácidos totais para os farelos de soja, de trigo e milho seguiram tendência similar aos CDA da proteína. As médias dos CDA dos aminoácidos totais para a farinha de peixe e a levedura foram maiores que as da fração protéica, enquanto que o glúten de milho apresentou menor valor da média dos CDA dos aminoácidos (91,7%) em relação ao da proteína (95,6%). Isto sugere que os CDA da proteína de alguns alimentos não podem ser usados como indicativo da digestibilidade média dos aminoácidos, como relatado por Wilson *et al.* (1981); Masumoto *et al.* (1996) e De Silva *et al.* (2000).

O glúten de milho foi o ingrediente que apresentou os maiores CDA de todos AAE, apesar de ser da mesma origem do milho que, em contradição, apresentou os menores CDA dos AAE, com exceção da leucina ($P<0,01$). Os menores CDA da proteína e aminoácidos do milho, em relação aos demais ingredientes avaliados estão relacionados com elevados teores de amido e polissacarídeos não amiláceos (Cho & Slinger 1979; McGoogan & Reig 1996; Furuya *et al.* 2001) que podem interferir na digestão ácida e na ação de proteases, resultando em baixa disponibilidade de aminoácidos para os peixes (Falge *et al.* 1978; Anderson *et al.* 1992). Estes resultados foram semelhantes aos relatados para o bagre do canal, *Ictalurus punctatus* (Wilson *et al.* 1981), para tilápia do Nilo (Furuya *et al.* 2001) e para o salmão do Atlântico, *Salmo salar* (Storebakken *et al.* 2000). Outra hipótese para explicar os baixos CDA da proteína e aminoácidos do milho é que, durante o processo de extrusão, a grande quantidade de carboidratos desse alimento pode ligar-se a proteína formando complexos indigestíveis, de acordo com Cheng & Hardy (2003) e Amirkolaie *et al.* (2006).

Os CDA da energia e os valores de energia digestíveis para os diferentes ingredientes avaliados estão apresentados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. O maior CDA da energia bruta foi obtido com o glúten de milho ($P<0,01$).

Em outra pesquisa com pacu, Abimorad & Carneiro (2004) encontraram maiores CDA da energia para o farelo de trigo (81,2%) e milho (86,7%) e menores coeficientes para o farelo de soja (63,7%) e levedura (45,8%), se forem comparados com os resultados do presente estudo, em que as dietas foram extrusadas. O maior valor de energia digestível para o glúten (4330 kcal/kg) deve-se tanto ao elevado conteúdo de sua energia bruta (5035 kcal/kg), quanto ao seu CDA (86%). Provavelmente este elevado valor de energia tem como origem sua fração protéica, pois o glúten é pobre em lipídios e carboidratos, não

sendo utilizado como fonte energética, pois os nutricionistas procuram direcionar esses nutrientes para poupar proteína a ser utilizada na formação de tecido muscular.

Dentre os ingredientes protéicos, o glúten mostrou-se como a maior fonte de metionina depois da farinha de peixes, apresentando CDA médio de 90,4% para este aminoácido. O milho apresentou CDA da metionina 10,6% menor que o glúten ($P<0,01$). Além disso, o glúten de milho apresentou o maior nível de cistina digestível (0,58%) dentre os ingredientes avaliados. Alguns AAE podem estar inter-relacionados com outros análogos correspondentes, dentro de um mesmo grupo, como é caso da metionina e cistina, que fazem parte da série dos aminoácidos sulfurados. O fornecimento de cistina dietética em quantidade adequada pode evitar a transulfuração de metionina e poupá-la para outras vias metabólicas (Lovell 1989; Gatlin 1999).

Tabela 3 Composição bromatológica e valores de aminoácidos brutos e digestíveis dos alimentos para o pacu.

Composição (%)	FP	FS	LV	GM	FT	ML
Matéria Seca	92,9	90,0	90,1	89,8	88,6	88,6
Proteína Bruta	50,0	44,8	22,0	62,3	14,8	8,4
Proteína Digestível	42,3	40,6	18,0	59,6	13,0	7,2
Fibra Bruta	1,5	7,6	9,2	2,2	9,8	2,2
Extrato Etéreo	3,4	2,0	0,9	1,9	2,9	4,0
Matéria Mineral	29,1	6,1	0,9	2,0	5,1	1,3
Extrato Não Nitrogenado	8,9	29,4	57,1	21,4	63,6	72,6
Energia Bruta (kcal/kg)	3486	4091	3982	5035	4001	3868
Energia Digestível (kcal/kg)	2597	3195	2907	4330	2977	2932
AAE						
Arginina	3,22 (3,05) ^{1/2}	3,48 (3,33)	1,03 (0,97)	1,97 (1,88)	1,04 (0,98)	0,38 (0,35)
Histidina	1,15 (1,07)	1,12 (1,05)	0,42 (0,39)	1,15 (1,09)	0,37 (0,35)	0,21 (0,19)
Isoleucina	1,64 (1,44)	1,83 (1,63)	0,89 (0,76)	2,03 (1,80)	0,39 (0,33)	0,23 (0,19)
Leucina	3,14 (2,91)	3,46 (3,23)	1,44 (1,31)	9,68 (9,11)	0,84 (0,75)	0,91 (0,83)
Lisina	3,17 (2,83)	2,76 (2,48)	1,57 (1,39)	1,00 (0,89)	0,63 (0,55)	0,22 (0,18)
Metionina	1,24 (1,11)	0,34 (0,30)	0,28 (0,24)	0,86 (0,78)	0,13 (0,11)	0,07 (0,06)
Fenilalanina	1,89 (1,75)	2,26 (2,11)	0,89 (0,81)	3,52 (3,31)	0,54 (0,49)	0,36 (0,32)
Treonina	2,07 (1,81)	1,86 (1,64)	1,17 (0,99)	1,95 (1,73)	0,48 (0,40)	0,28 (0,23)
Valina	2,04 (1,78)	1,88 (1,66)	1,09 (0,93)	2,38 (2,11)	0,57 (0,48)	0,32 (0,26)
AAANE						
Ácido Aspártico	4,72 (4,29)	5,35 (4,94)	2,09 (1,88)	3,65 (3,36)	1,05 (0,93)	0,49 (0,42)
Ácido Glutâmico	6,13 (5,77)	8,76 (8,36)	2,47 (2,29)	13,82 (13,23)	2,69 (2,52)	1,52 (1,42)
Alanina	3,43 (3,03)	2,20 (1,95)	1,28 (1,09)	5,24 (4,69)	0,72 (0,61)	0,57 (0,48)
Cistina	0,32 (0,29)	0,44 (0,41)	0,10 (0,08)	0,63 (0,58)	0,18 (0,16)	0,11 (0,10)
Glicina	4,97 (4,26)	2,08 (1,79)	0,96 (0,79)	1,55 (1,33)	0,82 (0,68)	0,31 (0,24)
Serina	2,04 (1,87)	2,39 (2,21)	1,16 (1,04)	3,07 (2,86)	0,62 (0,55)	0,38 (0,34)
Prolina	2,76 (2,56)	2,30 (2,14)	0,75 (0,67)	5,12 (4,79)	0,81 (0,74)	0,69 (0,62)
Tirosina	1,38 (1,29)	1,57 (1,48)	0,65 (0,60)	2,79 (2,65)	0,34 (0,31)	0,24 (0,22)

FP – Farinha de peixe; FS – Farelo de soja; LV – Levedura; GM – Glúten de milho; FT – Farelo de trigo; ML – Milho
 ()^{1/2} - Aminoácidos digestíveis

No presente estudo, a levedura e o milho apresentaram os menores CDA para a cistina ($P < 0,01$). A metionina da levedura é o primeiro aminoácido limitante para o pacu (Tabela 4). Em contrapartida, Gaylord *et al.* (2004), ao determinarem a disponibilidade dos aminoácidos de alguns alimentos para o híbrido de “striped bass” (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*), encontraram altos CDA somente para metionina e lisina, em comparação com os outros AAE da levedura de cervejaria. Além disso, a levedura selecionada neste estudo mostrou-se fora dos padrões conhecidos, apresentando baixos teores de proteína bruta e matéria mineral (22,0 e 0,9%, respectivamente) e altos teores de fibras e extrativos não nitrogenados (9,2 e 57,1%, respectivamente). Entretanto, a maioria das leveduras originárias de destilarias de cana-de-açúcar apresenta níveis de proteína bruta por volta de 38-42%.

Normalmente, o EQ é calculado com base no perfil de aminoácidos da proteína do ovo, como recomendado por Hephher (1988). No presente estudo, tomou-se como base de cálculo, o perfil de aminoácidos da proteína do músculo branco de juvenis de pacu. Os valores de escore químico (EQ) e índice dos aminoácidos essenciais digestíveis (IAAE) dos ingredientes, assim como o perfil de aminoácidos essenciais da proteína do músculo branco de juvenis de pacu, estão apresentados na Tabela 4.

A lisina mostrou-se como o primeiro aminoácido limitante para a farinha de peixe, glúten de milho, farelo de trigo e milho, e como segundo aminoácido limitante para o farelo de soja. Resultados semelhantes foram encontrados por Muñoz-Ramírez & Carneiro (2002). No entanto, a farinha de peixe e o farelo de soja são excelentes fontes de lisina, podendo contribuir com 2,83% e 2,48% de lisina digestível em suas composições (respectivamente), enquanto o glúten de milho pode contribuir apenas com 0,89% de lisina digestível. De outra forma, a levedura pode ser utilizada como fonte de lisina, pois além de

não tê-la como aminoácido limitante, a levedura pode contribuir com 1,39% de lisina digestível para o pacu.

Os valores de EQ da arginina para o glúten de milho, o farelo de trigo e o milho são aproximadamente três vezes maiores que os EQ da lisina dos respectivos ingredientes. O farelo de soja e a farinha de peixe também apresentaram maiores EQ para arginina em relação ao EQ da lisina. Entretanto, a levedura mostrou valores semelhantes de EQ para arginina e lisina, embora a arginina apresentou-se como segundo aminoácido limitante para a levedura (Tabela 4). O desbalanceamento de aminoácidos em dietas pode causar redução no desempenho dos peixes por meio da toxicidade ou antagonismo. Quando algum aminoácido no alimento está em excesso do seu nível exigido, pode causar aumento na exigência de outros aminoácidos de similar estrutura, como é o caso da arginina que, relativamente, segue a mesma tendência da lisina, pois ambos são da série dos aminoácidos básicos (Lovell 1989). Embora o glúten de milho tenha apresentado os maiores CDA da proteína e aminoácidos, possui balanceamento não adequado entre os aminoácidos, como por exemplo, a deficiência de lisina, arginina e treonina e o excesso de leucina, ácido glutâmico e fenilalanina, que confirma a quarta posição no “ranking” dos ingredientes avaliados pelo IAAE. Por outro lado, Pereira & Oliva-Teles (2003) reportaram que é possível substituir em até 60% da proteína da farinha de peixe pelo glúten de milho em dietas para juvenis de “sea bream” (*Sparus aurata*) sem prejuízo no crescimento dos peixes, e que a suplementação com arginina e lisina pode permitir maior nível de substituição.

Tabela 4 Escore químico (EQ) e índice dos aminoácidos essenciais digestíveis (IAAE) dos alimentos em relação a proteína do músculo branco de juvenis de pacu

AAE	Músculo branco de juvenis de pacu (g/100g de PB)	Escore Químico					
		Farinha de Peixe	Farelo de Soja	Levedura	Glúten de milho	Farelo de Trigo	Milho
Arginina	6,66	91,66	111,65	66,17‡	45,35‡	99,19	62,51
Fenilalanina + ½ Tir	5,97	80,30	106,60	84,47	124,73	72,83	85,68
Histidina	2,54	84,15	92,13	69,62	68,81	90,06	88,81
Isoleucina	4,21	68,46‡	86,46	82,01	68,69	52,84	53,68
Leucina	8,35	69,74	86,35	71,25	175,23	60,53	118,21
Lisina	9,50	59,61†	58,27‡	66,45	15,05†	39,02†	22,53†
Metionina + ½ Cis	2,54	98,70	44,31†	49,98†	67,54	50,33‡	51,41‡
Treonina	4,82	75,18	75,99	93,33	57,67	55,95	56,77
Valina	4,63	76,96	80,07	91,26	73,22	69,89	66,80
IAAE		128,8	133,1	126,3	110,6	108,6	102,8

† 1º aminoácido limitante

‡ 2º aminoácido limitante

O menor IAAE da farinha de peixe em relação ao farelo de soja está relacionado provavelmente à qualidade da matéria-prima (conteúdo de ossos, cartilagens, vísceras, escamas, etc.), que eleva o conteúdo de matéria mineral e diminui o nível de proteína (Köprücü & Özdemir 2005) e aos processamentos empregados para sua obtenção (calor e solvente), que afetam a qualidade de sua proteína e, em particular, a disponibilidade de seus aminoácidos, além de redução do teor de gordura (Contreras 1999; Allan *et al.* 2000; Furuya *et al.* 2001; Portz & Cyrino 2004), mostrando que a farinha de peixe brasileira selecionada neste estudo é elaborada com resíduos de pescado.

Neste estudo, o farelo de soja apresentou-se como a fonte de proteína de melhor qualidade pelo maior índice de aminoácidos digestíveis essenciais (133,1). Isto também tem sido reportado para outras espécies como o bagre do canal (Lim *et al.* 1998), tilápia do Nilo (Furuya *et al.* 2001; Köprücü & Özdemir 2005), truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Cheng & Hardy 2003), “largemouth bass” (Portz & Cyrino 2004), “Murray cod”, *Maccullochella peelii peelii* e “Australian shortfin eel”, *Anguilla australis* (De Silva *et al.* 2000). No entanto, outras pesquisas reportaram redução no crescimento de peixes, particularmente carnívoros, quando utilizaram o farelo de soja como fonte protéica nas dietas, principalmente devido à presença de fatores antinutricionais e deficiência de metionina (Degani 1987; Anderson *et al.* 1992; Baeverfjord & Kroghdahl 1996; Garcia-Gallego *et al.* 1998). Mas para o pacu, o farelo de soja, além de apresentar alto coeficiente de digestibilidade da proteína e aminoácidos, pode substituir totalmente a farinha de peixe (Fernandes *et al.* 2000). Devido ao seu hábito alimentar herbívoro/frugívoro, o pacu tem boa capacidade para digerir alimentos de origem vegetal, mesmo com a presença de inibidores de proteases (Carvalho *et al.* 1997).

Os ingredientes foram bem digeridos pelos juvenis de pacu, podendo ser utilizados, respeitando-se os limites de inclusão, em dietas práticas para esta espécie. No

entanto, devido à variação da biodisponibilidade individual dos aminoácidos entre os ingredientes e também entre os CDA da proteína, o uso dos valores de aminoácidos digestíveis permitirá maior precisão e economia na formulação de rações comerciais, assim como, menor emissão de nutrientes ao meio ambiente.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela Bolsa de Doutorado concedida para o primeiro autor, processo nº. 04/06060-6 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCT/CNPq) pelo suporte financeiro, Edital Universal 019/2004 - processo nº. 476281. Nós gostaríamos de agradecer também ao doutorando Marcelo Assano e a indústria de rações Poytara/Araraquara pelo processamento das dietas experimentais.

Referências

- Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2004) Fecal collection methods and determination of crude protein and of gross energy digestibility coefficients of feedstuffs for pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Brazilian Journal of Animal Science*, **33**, 1101-1109.
- Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2007) Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles-fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*, **13**, 1-9.
- Allan, G.L., Parkinson, S., Booth, M.A., Stone, D.A.J., Rowland, S.J., Frances, J. & Warner-Smith, R. (2000) Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, **186**, 293-310.
- Amirkolaie, A.K., Verreth, J.A.J & Schrama, J.W. (2006) Effect of gelatinization degree and inclusion level of dietary starch on the characteristics of digesta and faeces in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (L.)). *Aquaculture*, **260**, 194-205.

- Anderson, J.S., Lall, S.P., Anderson, D.M. & Chandrasoma, J. (1992) Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. *Aquaculture*, **108**, 111-124.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) *Official Methods of Analysis*, 17th edn. AOAC Inc., Gaithersburg, MD, USA.
- Baeverfjord, G. & Krogdahl, Å. (1996) Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *Journal of Fish Diseases*, **19**, 375-387.
- Carneiro, D.J., Castagnolli, N., Machado, C.R. & Verardino, M. (1984) Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). I – Níveis de proteína dietária. In: *Proceedings of III Brazilian Symposium of Aquaculture*, ABRAQ, pp.105-123. São Carlos, SP, Brazil.
- Carneiro, D.J., Wagner, P.M. & Dias, T.C.R. (1992) Efeito da densidade de estocagem e do nível de proteína bruta na dieta, no desempenho de produção de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: *Proceedings of VII Brazilian Symposium of Aquaculture*, ABRAQ, pp. 52-61, Peruíbe, SP, Brazil.
- Carter, C.G. & Hauler, R.C. (2000) Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, **185**, 299-311.
- Carvalho, M.R.B., Stech, M.R. & Carneiro, D.J. (1997) Use of different cultivetes of crude soybean as feed to pacu (*Piaractus mesopotamicus*) evaluation of production performance and fish metabolism. *Boletim do Instituto de Pesca*, **24**, 147-156.
- Castagnolli, N. & Zuim, S.M.F. (1985) *Consolidação do conhecimento adquirido sobre o pacu Colossoma mitrei (BERG, 1895)*, pp. 26. FCAV/UNESP. Jaboticabal, SP, Brazil.
- Cheng, Z.J. & Hardy, R.W. (2003) Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, **9**, 77-83.
- Cho, C.Y.; Slinger, S.J. (1979) Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (Halver, J.E. & Tiews, K. ed.), **2**, 239-247. Heinemann, Berlin, Germany.

- Contreras, G.E. (1999) A new approach to the evaluation of fish meal quality by reaction with 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid. In *Advances in Extrusion Technology* (Chang Y.K. & Wang S.S. eds.), pp. 179-189. Technomic Publishing, Lancaster, UK.
- De Silva, S.S., Gunasekara, R.M. & Gooley, G. (2000) Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) and Australian shortfin eel *Anguilla australis* Richardson. *Aquaculture Research*, **31**, 195-205.
- Degani, G. (1987) Effect of replacement of fish and chicken meal by soybean meal in a purified diet on growth and body composition of juvenile European eel *Anguilla anguilla*. *Indian Journal of fisheries*, **34**, 213-217.
- Falge, R., Schpanof, L. & Jurss, K. (1978) Amylase, esterase, and protease activity in the intestine content of rainbow *Salmo gairdneri* Rich., after feeding with feed containing different amounts starch and protein. *Journal of Ichthyology*, **18**, 283-287.
- Fernandes, J.B.K., Carneiro, D.J. & Sakomura, N.K. (2000) Crude protein sources and levels in diets for pacu fingerlings (*Piaractus mesopotamicus*). *Brazilian Journal of Animal Science*, **29**, 646-653.
- Forster, I. (1999) A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. *Aquaculture Nutrition*, **5**, 143-145.
- Furukawa, A. & Tsukahara, H. (1966) On the acid digestion for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society Fisheries* **32**, 502-506.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Pezzato, A.C., Barros, M.M. & Miranda, E.C. (2001) Digestibility coefficients and digestible amino acids values of some ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Brazilian Journal of Animal Science*, **30**, 1143-1149.
- Garcia-Gallego, M., Akharbach, H. & de la Higuera, M. (1998) Use of protein sources alternatives to fish meal in diets with amino acids supplementation for the European eel (*Anguilla anguilla*). *Animal science*, **66**, 285-292.
- Gatlin III, D.M. (1999) Nutrition and feeding of red drum and hybrid striped bass. In: *Advances in Extrusion Technology* (Chang Y.K. & Wang S.S. ed.), pp. 43-52. Technomic Publishing, Lancaster, UK.

- Gaylord, T.G., Rawles, S.D. & Gatlin III, D.M. (2004) Amino acid availability from animal, blended, and plant feedstuffs for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture Nutrition*, **10**, 345-352.
- Hepher, B. (1988) *Nutrition of pond fishes*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hossain, M.A. & Jauncey, K. (1989) Studies on the protein, energy and amino acids digestibility of fish meal, mustard oilcake, linseed and sesame meal for common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, **83**, 59-72.
- Jomori, R.k., Carneiro, D.J., Malheiros, E.B. & Portella, M.C. (2003) Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture*, **221**, 277-287.
- Köprücü, K. & Özdemir, Y. (2005) Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, **250**, 308-316.
- Kubitza, F. (1990) Substituição total da farinha de peixe pelo farelo de soja em rações para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), suplementadas com metionina. Master's Thesis. Animal Production, University of São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil.
- Lim, C., Klesius, P.H. & Higgs, D.A. (1998) Substitution of canola meal for soybean meal in diets for channel catfish *Ictalurus punctatus*. *The Journal World Aquaculture Society*, **29**, 161-168.
- Logato, P.V.R. & Menin, E. (1996 a) Anatomia funcional do aparelho digestivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1889. In: *Proceedings of IX Brazilian Symposium of Aquaculture*, ABRAQ, p. 35, Sete Lagoas, SP, Brazil.
- Logato, P.V.R. & Menin, E. (1996 b) Histologia funcional do aparelho digestivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1889. In: *Proceedings of IX Brazilian Symposium of Aquaculture*, ABRAQ, p. 36, Sete Lagoas, SP, Brazil.
- Lovell, T. (1989) *Nutrition and feeding of fish*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Machado, M.G.S. & Sgarbieri, V.C. (1991) Partial characterization of proteins from pacu (*Colossoma mitrei*, Berg 1895). *J. Agric. Food Chem*, **39**, 1715-1718.

- Masumoto, T., Ruchimat, T., Ito, Y., Hosokawa, H. & Shimeno, S. (1996) Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, **146**, 109-119.
- McGoogan, B.B. & Reig, R.C. (1996) Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture*, **141**, 233-244.
- Muñoz-Ramírez, A.P. & Carneiro, D.J. (2002) Lysine and methionine supplementation in diets with low protein level for the initial growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). *Acta Scientiarum*, **24**, 909-916.
- Nose, T. (1960) On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). *Bulletin of Freshwater Fish Research Laboratory*, **10**, 11-22.
- Pereira, T.G. & Oliva-Teles, A. (2003) Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Aquaculture Research*, **34**, 1111-1117.
- Portz, L. & Cyrino, J.E.P. (2004) Digestibility of nutrients and amino acids of different protein sources in practical diets by largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802). *Aquaculture Research*, **35**, 312-320.
- Rumsey, G.L., Hughes, S.G., Smith, R.R., Kinsella, J.E. & Shetty, K.J. (1991) Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology*, **33**, 185-193.
- Silva, A.J. (1985) Regime alimentar do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895) no Pantanal de Mato Grosso em relação à flutuação do nível da água. In: *Proceedings of XII Brazilian Congress of Zoology*, UNICAMP, p.179. Campinas, SP, Brazil.
- Storebakken, T., Shearer, K.D., Bæverfjord, G., Nielsen, B.G., Åsgård, T., Scott, T. & De Laporte, A. (2000) Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture*, **184**, 115-132.
- Wilson, R.P., Robinson, E.H. & Poe, W.E. (1981) Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for channel catfish. *The Journal of Nutrition*, **111**, 923-929.

Lisina digestível e estimativa das exigências em aminoácidos essenciais para juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*

Eduardo Gianini Abimorad^{1,2}, Gisele Cristina Favero¹, Gustavo Henrique Squassoni¹, Dalton José Carneiro¹

¹ UNESP - Universidade Estadual Paulista/CAUNESP - Centro de Aquicultura, Jaboticabal, SP, Brasil. ² APTA/SAA-SP - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios/Pólo Regional Noroeste Paulista, Votuporanga, SP, Brasil.

Resumo - Um ensaio dose-resposta foi conduzido para determinação da exigência em lisina digestível para juvenis de pacu. Os peixes ($8,66 \pm 1,13\text{g}$) foram alimentados com seis dietas com os níveis de lisina digestível de: 0,68; 0,91; 1,14; 1,32; 1,61 e 1,96%. Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da proteína aumentaram com a inclusão de lisina nas dietas, enquanto os CDA da L-lisina não se diferenciaram (médias de $83,35 \pm 0,05\%$) com seu incremento. O aumento gradual do nível de lisina de 0,68 para 1,32 % não afetou as médias dos parâmetros avaliados ($P>0,05$). O incremento no nível de lisina para 1,61% melhorou significativamente o ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico, retenção de proteína, taxa de eficiência protéica e a conversão alimentar aparente, não diferenciando dos peixes alimentados com as dietas contendo 1,96%. Os peixes alimentados com as dietas contendo 1,61 e 1,96% de lisina digestível acumularam menos gordura que os peixes dos demais tratamentos. A exigência de lisina digestível determinada pelo modelo de regressão segmentada, com base nos valores médios de GP, foi de 1,64%. A exigência dos demais aminoácidos essenciais foi estimada utilizando o conceito de proteína ideal, baseado no valor determinado para lisina.

Palavras chave: *Piaractus mesopotamicus*, digestibilidade, L-lisina, composição corporal, músculo branco, proteína ideal.

Digestible lysine and estimation of the essential amino acids requirement for pacu juveniles *Piaractus mesopotamicus*

Abstract - To determinate the digestible lysine requirement for pacu juveniles, a dose-response trial was carried out. Fish ($8.66 \pm 1.13\text{g}$) were fed six diets containing the digestible lysine levels: 0.68; 0.91; 1.14; 1.32; 1.61 e 1.96%. The apparent digestibility coefficients (ADC) of protein increased with the addition of dietary lysine, while the ADC of L-lysine were not statistically different (average $83.35 \pm 0.05\%$) with add its. The gradual increase of dietary lysine level from 0.68 to 1.32 % did not influence the average of the parameters evaluated ($P>0.05$). The increase of dietary lysine level to 1.61% improved significantly the weight gain (WG), specific growth rate (SGR), protein productive value (PPV), protein efficiency rate (PER) and apparent feed conversion (AFC), but it did not differ of fish fed diets containing 1.96%. Fish fed diets containing 1.61 and 1.96% digestible lysine deposited lower fat content than fish of the other treatments. Digestible lysine requirement determined by broken-line model, based on average values of WG, was 1.64%. The other essential amino acids requirement were estimated by ideal protein concept, based on the value determined for lysine.

Key words: *Piaractus mesopotamicus*, digestibility, L-lysine, body composition, white muscle, ideal protein.

Introdução

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é um peixe migratório de clima tropical, nativo da Bacia dos Rios Paraná, Paraguai e Uruguai, na América do Sul (Saint-Paul 1986). Juntamente com o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seu híbrido tambacu (*C. macropomum* ♀ × *P. mesopotamicus* ♂), a produção desses peixes ocupa o terceiro lugar das espécies mais cultivadas no Brasil, após a tilápia e a carpa, respectivamente (IBAMA 2005). Essa importância dá-se ao seu rápido crescimento, hábito alimentar onívoro e carne de excelente sabor. Várias pesquisas sobre nutrição do pacu têm sido feitas em relação aos coeficientes de digestibilidade da energia e proteína de vários ingredientes (Abimorad & Carneiro 2004), à exigência protéica (Merola 1988; Carneiro *et al.* 1994; Fernandes *et al.* 2000), aos níveis e fontes de energia não protéica (Pezzato *et al.* 1992; Alves 1999; Munõz-Ramírez 2005; Abimorad *et al.* 2007) e à necessidade de vitaminas (Martins 1995; Almeida 2003; Belo *et al.* 2005); porém, poucas publicações foram encontradas a respeito da sua exigência em aminoácidos (Munõz-Ramírez & Carneiro 2002).

A metodologia tradicional utilizada para determinação da exigência em aminoácidos para peixes baseia-se em experimentos individuais de dose-resposta para cada aminoácido, o que leva à realização de pesquisas com alto custo e longo tempo de duração (Small & Soares 1998). A partir da década de 60, com o conceito de proteína ideal proposto na nutrição de monogástricos, a exigência de todos os aminoácidos essenciais (AAE) pôde ser expressa como taxa ideal de um aminoácido em relação ao total de AAE do tecido animal. Desta forma, o perfil de aminoácidos da proteína do músculo esquelético é o mais utilizado nas pesquisas para melhor representar as exigências nutricionais em aminoácidos, por ser o tecido substancialmente formado durante o crescimento (Wilson & Cowey 1985; Wilson & Poe 1985; Kaushik 1998; Kim & Lall 2000).

Entretanto, o perfil de AAE presentes no músculo do peixe só fornece os valores relativos dos AAE, e não quantifica exatamente os valores a serem usados na formulação de dietas. Uma alternativa mais simples seria determinar a exigência nutricional de um AAE, normalmente o mais limitante, para estimar a exigência dos demais por meio da relação ideal entre os AAE do músculo (Twibell *et al.* 2003; Wang *et al.* 2005). Pesquisas concluem que a lisina é geralmente o primeiro aminoácido limitante nos ingredientes utilizados para a fabricação de rações e, também, o AAE encontrado em maior quantidade na carcaça de várias espécies de peixes (Tantikitti & Chimsung 2001), inclusive no pacu (Munõz-Ramírez & Carneiro 2002), e por isso, é o aminoácido-referência utilizado neste tipo de estudo.

Poucos estudos foram realizados para determinação da exigência em aminoácidos digestíveis para peixes (Wang *et al.* 2005; Furuya *et al.* 2006). O conhecimento da disponibilidade dos aminoácidos nas dietas torna-se cada vez mais indispensável para formulação de rações mais eficientes. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi determinar o nível adequado de lisina digestível para crescimento e utilização de nutrientes em dietas para o pacu, pelo método dose-resposta, e estimar as exigências dos demais AAE utilizando o conceito de proteína ideal.

Material e métodos

Ensaio dose-resposta

Este estudo foi conduzido na UNESP - Universidade Estadual Paulista, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aqüicultura (CAUNESP - Jaboticabal, SP, Brasil), durante 90 dias.

Cento e oito juvenis de pacu ($8,66 \pm 1,13$ g) foram distribuídos em 18 tanques cúbicos de fibrocimento (100L), num delineamento inteiramente casualizado com seis

tratamentos (níveis de lisina), três repetições e seis peixes por parcela. Os tanques eram abastecidos por água de poço artesiano, com renovação de aproximadamente dez vezes ao dia. Os tanques eram dotados de aeração e com sistema de escoamento de água diretamente do fundo, facilitando a saída de excretas e resíduos alimentares, e ainda, eram sifonados uma vez por semana. Os valores médios dos parâmetros físico-químicos da água, mensurados semanalmente, foram: $5,74 \pm 0,38$ mg L⁻¹ de oxigênio dissolvido, $202 \pm 2,9$ μS cm⁻¹ de condutividade elétrica, pH de $8,04 \pm 0,16$, e temperatura de $29,6 \pm 0,4$ °C.

No início do estudo, 20 juvenis da mesma população usada no experimento foram sacrificados (benzocaína 0,2 g L⁻¹) e estocados em freezer para posterior determinação da composição corporal inicial. No final, seis peixes de cada parcela, após jejum de 24 horas, foram pesados, sacrificados e congelados para determinação da composição corporal final.

Dietas e alimentação

Foi formulada uma dieta basal (Tabela 1) para conter aproximadamente 23% de proteína digestível, mantendo a mesma concentração de energia digestível não protéica (Abimorad *et al.* 2007) e priorizando o fornecimento mínimo de lisina digestível (0,68%). As dietas foram suplementadas ou não, com seis níveis de L-lisina: 0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 e 1,25%; os níveis dos demais AAE foram mantidos na mesma proporção do perfil de aminoácidos do músculo em relação ao nível protéico da dieta basal (Tacon 1987).

Após fina moagem, os ingredientes de cada dieta foram homogeneizados, incluindo 40% de água. As dietas foram processadas em moedor de carne (CAF 22), formando grânulos de 4-5 mm de diâmetro e, posteriormente, secas em estufa com circulação de ar a 45°C por 36 h. Durante o período experimental, os peixes foram alimentados diariamente, duas vezes ao dia (8:00 e 18:00 h) até a saciedade aparente.

Tabela 1 Dietas experimentais

Dieta	Suplementação de lisina (%)					
	0	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25
Dieta Basal (%)*	98,40	98,40	98,40	98,40	98,40	98,40
<i>Ingredientes variáveis (%)</i>						
L-Lisina 78%	0,00	0,32	0,64	0,96	1,28	1,60
Caulin	1,60	1,28	0,96	0,64	0,32	0,00
<i>Composição analisada</i>						
Matéria seca (%)	90,7	91,1	90,8	91,4	90,7	91,2
Proteína bruta (%)	27,6	27,8	28	28,1	28,2	28,5
Proteína digestível (%)	22,5	24,0	23,7	23,8	25,4	25,2
Extrato etéreo (%)	7,8	7,7	7,9	7,9	7,7	7,6
Fibra Bruta (%)	5,1	5,2	4,9	5,1	4,8	5,2
Matéria mineral (%)	5,5	5,3	5,2	5,6	5,2	5,4
Extrato não nitrogenado (%)	44,7	45,1	44,8	44,7	44,8	44,5
Energia bruta (kcal/kg)	4389	4380	4446	4424	4430	4351
Energia digestível (kcal/kg)	3216	3325	3479	3348	3667	3499

* Dieta Basal (%): Farinha de peixe=6,15; Farelo de soja=9,69; Glúten de milho=15,84; Levedura=3,97; Milho=35,68; Farelo de trigo=19,58; Óleo de peixe=4,0; Fosfato bicálcico=0,6; Calcário=1,17; Sal(NaCl)=0,3; DL-Metionina=0,13; L-Treonina=0,09; Suplemento vitamínico e mineral=1,2 {(ingrediente/kg dieta): Vitaminas A=600.000 UI; D₃=24.000 UI; E=600 UI; K₃=120 mg; Tiamina=180 mg; Riboflavina=180 mg; Piridoxina=180 mg; B₁₂=480 mcg; C=1.800 mg; Ácido Fólico=60 mg; Ácido pantotênico=480 mg; B.H.T.=1,47 g; Biotina=6,0 mg; Inositol=120 mg; Nicotinamida=840 mg; Colina=4,8 g; Cobalto=1,2 mg; Cobre=60 mg; Ferro=600 mg; Iodo=6,0 mg; Manganês=180 mg; Selênio=1,2 mg; Zinco=600 mg; Veículo q.s.p.=120 g}.

Ensaio de digestibilidade

Um ensaio paralelo ao de exigência foi realizado para determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da proteína, energia, aminoácidos e da L-lisina de cada dieta experimental. Para isso, 180 juvenis de pacu, com peso médio de 29,14 ± 4,97g, foram distribuídos em seis tanques de alimentação (100 L) e alimentados por cinco dias com as mesmas dietas experimentais, acrescida de 0,5% de Cr₂O₃. Para coleta de fezes foi adotado o sistema de Guelph modificado, que consiste em aquários cilíndricos de fundo cônico (80 L), contendo em suas extremidades inferiores, tubos de vidro antecidos por registros de esfera, onde as fezes ficavam depositadas após a decantação. Após a transferência dos peixes dos tanques de alimentação para os aquários de coleta, as fezes foram repetidamente coletadas, em intervalos de 30 minutos, para evitar-se a lixiviação de

nutrientes. As amostras de fezes foram conservadas em congelador até completar-se a quantidade necessária para as análises. Os CDA foram calculados pela seguinte fórmula:

$$CDA = 100 - 100 \times \left(\frac{\% Cr_2O_3 \text{ na dieta}}{\% Cr_2O_3 \text{ nas fezes}} \right) \times \left(\frac{\% \text{ nutriente nas fezes}}{\% \text{ nutriente na dieta}} \right)$$

Os CDA da L-lisina nas dietas experimentais foram calculados de acordo com a metodologia de Cho & Slinger (1979) adaptada para as concentrações de L-lisina (livre):

$$CDA_{L-lis} = \frac{100}{\% lis} \times \left[CDA \text{ dieta com lis} - \left(\frac{100 - \% lis}{100} \times CDA \text{ dieta sem lis} \right) \right]$$

Análises proximais

As amostras das dietas e das carcaças dos peixes foram analisadas em duplicada para a composição proximal. As determinações de matéria seca, proteína bruta, lipídios e cinzas foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do CAUNESP, de acordo com metodologia da AOAC (2000). A determinação de energia bruta foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil por queima em bomba calorimétrica de Parr. As análises de aminoácidos totais das dietas e fezes foram realizadas por cromatografia de troca iônica (HPLC), no Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos APTA/SAA, Campinas, SP, Brasil. As amostras das dietas analisadas para aminoácidos livres não sofreram hidrólise ácida antes da leitura no cromatógrafo. As concentrações de Cr₂O₃ nas dietas e fezes foram

determinadas por digestão nitro-perclórica, de acordo com a metodologia descrita por Furukawa & Tsukahara (1966).

Análises estatísticas

Todos os parâmetros foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($P < 0,05$), utilizando o programa Statistical Analyses System SAS® v.9 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Os modelos de regressão polinomial, exponencial e linha quebrada foram aplicados aos parâmetros ganho de peso e conversão alimentar aparente; mas, o nível mais adequado de lisina digestível foi estimado por meio da análise de regressão segmentada (Portz *et al.* 2000; Sakomura & Rostagno 2007), pelo procedimento PROC NLIN do programa SAS®, devido ao melhor ajustes dos dados ao modelo. Para verificar o ajuste das equações obtidas considerou-se a menor soma dos quadrados dos desvios, a significância do teste F e o coeficiente de determinação.

Após a obtenção do nível mais adequado de lisina digestível, foi projetado um perfil de aminoácidos denominado “proteína ideal”, por meio da relação entre os AAE do músculo branco. Também foi determinada a relação ideal entre AAE digestível : proteína digestível para juvenis de pacu.

Resultados

Os juvenis de pacu aceitaram bem as dietas experimentais e nenhuma mortalidade ou sinais patológicos foram observados durante o experimento. Após a determinação dos CDA, foram calculados os valores digestíveis para proteína, energia (Tabela 1) e aminoácidos (Tabela 2).

Tabela 2 Valores brutos e digestíveis dos aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) das dietas experimentais

Composição determinada (%)	Nível de suplementação de lisina nas dietas					
	0	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25
<i>AAE</i>						
Arginina	1,20 (1,10)	1,19 (1,10)	1,19 (1,06)	1,19 (1,09)	1,19 (1,11)	1,18 (1,09)
Histidina	0,53 (0,47)	0,53 (0,48)	0,53 (0,44)	0,52 (0,47)	0,52 (0,48)	0,52 (0,47)
Isoleucina	0,81 (0,71)	0,81 (0,72)	0,81 (0,67)	0,81 (0,71)	0,80 (0,73)	0,80 (0,71)
Leucina	2,61 (2,43)	2,61 (2,45)	2,60 (2,33)	2,60 (2,43)	2,59 (2,47)	2,58 (2,44)
Lisina	0,82 (0,68)	1,04 (0,91)	1,31 (1,14)	1,45 (1,32)	1,72 (1,61)	2,10 (1,96)
Metionina	0,44 (0,40)	0,44 (0,40)	0,44 (0,37)	0,44 (0,40)	0,44 (0,40)	0,43 (0,40)
Fenilalanina	1,18 (1,08)	1,18 (1,09)	1,18 (1,04)	1,18 (1,08)	1,17 (1,10)	1,17 (1,08)
Treonina	0,95 (0,84)	0,95 (0,85)	0,95 (0,81)	0,94 (0,84)	0,94 (0,86)	0,94 (0,83)
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Valina	0,94 (0,82)	0,94 (0,84)	0,94 (0,78)	0,94 (0,83)	0,93 (0,85)	0,93 (0,82)
<i>AANE</i>						
Ácido Aspártico	1,83 (1,61)	1,82 (1,63)	1,82 (1,56)	1,81 (1,61)	1,81 (1,65)	1,81 (1,60)
Ácido Glutâmico	4,57 (4,24)	4,56 (4,28)	4,55 (4,10)	4,54 (4,24)	4,53 (4,45)	4,51 (4,24)
Alanina	1,65 (1,48)	1,65 (1,50)	1,64 (1,40)	1,64 (1,49)	1,64 (1,52)	1,63 (1,49)
Cistina	0,22 (0,20)	0,22 (0,20)	0,22 (0,18)	0,22 (0,21)	0,22 (0,21)	0,22 (0,20)
Glicina	1,05 (0,91)	1,05 (0,92)	1,05 (0,87)	1,05 (0,90)	1,04 (0,94)	1,04 (0,91)
Prolina	1,72 (1,60)	1,72 (1,62)	1,71 (1,55)	1,71 (1,63)	1,71 (1,63)	1,70 (1,61)
Serina	1,19 (1,07)	1,19 (1,08)	1,18 (1,03)	1,18 (1,07)	1,18 (1,09)	1,17 (1,07)
Tirosina	0,83 (0,76)	0,82 (0,76)	0,82 (0,73)	0,82 (0,76)	0,82 (0,77)	0,81 (0,75)

Valores brutos de AA (Valores digestíveis de AA)

nd: Não determinado

As médias dos CDA da proteína e da L-lisina livre nas dietas experimentais estão apresentados na Fig. 1. A digestibilidade da fração protéica tende a aumentar com o nível de inclusão de lisina ($Y = -2,2895x^2 + 8,5323x + 82,353$ ($R^2 = 0,71$)), enquanto a digestibilidade da L-lisina livre permanece praticamente constante ($Y = 0,1269x + 83,264$ ($R^2 = 0,94$)).

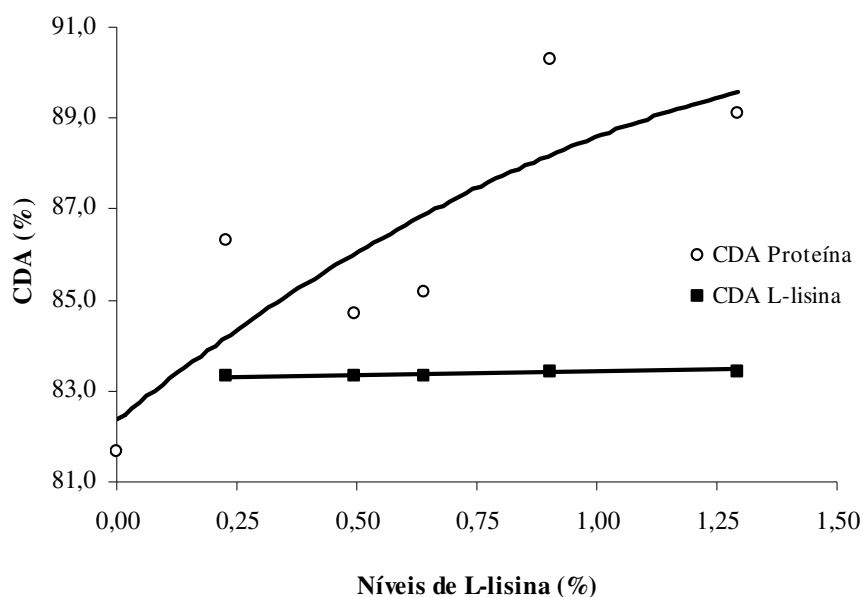


Figura 1 – Coeficientes de digestibilidade aparente da fração protéica e da L-lisina de dietas com diferentes níveis de L-lisina para o pacu.

Os resultados de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes dos juvenis de pacu alimentados com as diferentes dietas experimentais estão apresentados na Tabela 3. Não houve efeito dos tratamentos dietéticos para consumo de ração ($P>0,05$). O aumento do nível de lisina digestível de 0,68 até 1,32 % nas dietas não influenciou significativamente o ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), retenção de proteína (RP) e o ganho em lipídio (G_{LIP}). O incremento no nível de lisina digestível para 1,61 % melhorou significativamente as médias de GP, TCE, RP, taxa de eficiência protéica (TEP) e conversão alimentar aparente (CAA), não diferenciando estatisticamente dos peixes alimentados com as dietas contendo nível acima de lisina digestível (1,96%).

Tabela 3 Valores médios dos parâmetros de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes de juvenis de pacu alimentados com diferentes níveis de lisina

	Nível de lisina digestível nas dietas					ANOVA Valores de P	
	0,68	0,91	1,14	1,32	1,61		1,96
Peso médio inicial (g)	9,1 ± 0,8	8,1 ± 0,3	8,6 ± 0,7	8,8 ± 0,4	9,0 ± 0,4	8,4 ± 0,8	0,3747
Peso médio final (g)	37,8 ± 7,5 b	40,8 ± 4,1 b	45,38 ± 4,5 b	49,5 ± 11,1 ab	62,1 ± 7,5 a	59,5 ± 3,5 a	0,0047
Ganho em peso (g) ¹	28,7 ± 7,8 b	32,7 ± 4,3 b	36,8 ± 3,9 b	40,7 ± 11,0 ab	53,1 ± 7,6 a	51,0 ± 3,1 a	0,0048
Taxa de crescimento específico (%/dia) ²	1,6 ± 0,3 b	1,9 ± 0,2 ab	1,9 ± 0,1 ab	1,9 ± 0,3 ab	2,2 ± 0,2 a	2,2 ± 0,1 a	0,0133
Consumo de ração (g)	81, ± 6,4	79,2 ± 4,0	77,6 ± 2,3	80,7 ± 3,1	79,8 ± 3,8	71,7 ± 1,3	0,0951
Conversão alimentar aparente ³	3,1 ± 0,6 a	2,7 ± 0,5 ab	2,4 ± 0,7 ab	2,5 ± 0,9 ab	1,8 ± 0,5 b	1,7 ± 0,3 b	0,0355
Taxa de eficiência protéica ⁴	1,3 ± 0,3 c	1,5 ± 0,1 bc	1,6 ± 0,1 bc	1,8 ± 0,5 b	2,3 ± 0,2 a	2,5 ± 0,2 a	0,0006
Retenção de proteína (%) ⁵	20,5 ± 3,9 c	23,3 ± 2,4 c	26,5 ± 3,6 c	28,6 ± 7,2 bc	36,2 ± 5,4 ab	40,5 ± 2,1 a	0,0008
Ganho em proteína (%) ⁶	15,8 ± 0,6	15,7 ± 1,3	16,1 ± 1,4	16,0 ± 0,5	15,7 ± 0,8	16,5 ± 0,5	0,8635
Ganho em lipídio (%) ⁷	15,9 ± 0,8 a	16,0 ± 0,8 a	16,2 ± 1,2 a	16,2 ± 1,4 a	13,9 ± 1,2 b	12,2 ± 0,8 b	0,0027

Valores são médias de três réplicas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferentes na linha diferem estatisticamente (Duncan $P < 0,05$).

¹Ganho de peso (GP) = (peso final - peso inicial)

²Taxa de crescimento específico (TCE) = $(\log_e \text{ peso}_{\text{final}} - \log_e \text{ peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{dias}$

³Conversão alimentar aparente (CAA) = consumo de ração/ganho em peso

⁴Taxa de eficiência protéica (TEP) = ganho em peso/consumo de proteína

⁵Retenção de proteína (RP) = $(\text{Proteína corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Proteína corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{consumo de proteína}$

⁶Ganho em proteína (G_{PR}) = $(\text{Proteína corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Proteína corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{ganho em peso}$

⁷Ganho em lipídio (G_{LIP}) = $(\text{Lipídio corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Lipídio corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{ganho em peso}$

Os peixes alimentados com as dietas contendo 1,61 e 1,96% de lisina digestível apresentaram um menor acúmulo de gordura, ganho em lipídio (G_{LIP}) e maiores valores de umidade corporal em relação aos demais tratamentos. Não houve efeito dos tratamentos dietéticos nas frações mineral e protéica da composição corporal e para ganho em proteína (G_{PRT}) (Tabela 3 e 4).

Tabela 4 Composição corporal de juvenis de pacu alimentados com diferentes níveis de lisina

Nível de lisina da dieta (%)	Umidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinzas (%)
0,68	68,5 ± 0,5 bc	14,9 ± 0,4	12,6 ± 0,6 ab	3,8 ± 0,2
0,91	67,3 ± 1,2 c	15,3 ± 1,0	13,7 ± 1,0 a	3,9 ± 0,2
1,14	68,1 ± 0,3 bc	15,3 ± 1,0	13,5 ± 1,0 a	3,8 ± 0,4
1,32	67,5 ± 1,1 c	15,1 ± 0,8	13,5 ± 1,4 a	3,7 ± 0,1
1,61	69,3 ± 1,4 ab	15,5 ± 0,8	12,4 ± 0,9 ab	3,6 ± 0,1
1,96	70,0 ± 0,8 a	16,0 ± 0,4	10,9 ± 0,5 b	3,8 ± 0,2
Valor de <i>P</i> (ANOVA)	0,0061	0,4203	0,0057	0,5771

Valores são médias de três réplicas ± desvio padrão.

Médias seguidas de letra diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Para determinar a exigência de lisina digestível com base nos valores médios de ganho de peso e conversão alimentar aparente foi utilizado o modelo de regressão segmentada, que estimou o nível ótimo para os juvenis de pacu como sendo 1,64% para responder com maior ganho em peso, atingindo o platô em 51,15 g (Fig. 2) e 1,75% para responder com melhor índice de conversão alimentar, atingindo o platô em 1,68 (Fig. 3). Considerando os coeficientes de determinação e significância do teste F, o modelo de regressão segmentada ajustou-se melhor aos resultados de ganho de peso em relação aos resultados de conversão alimentar.

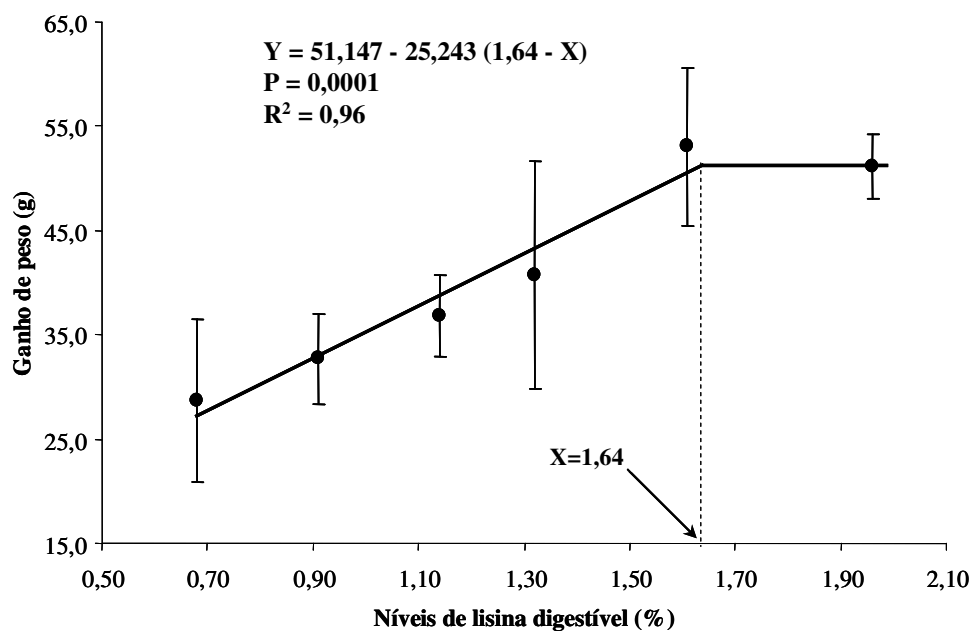


Figura 2 – Ganho em peso de pacus alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível.

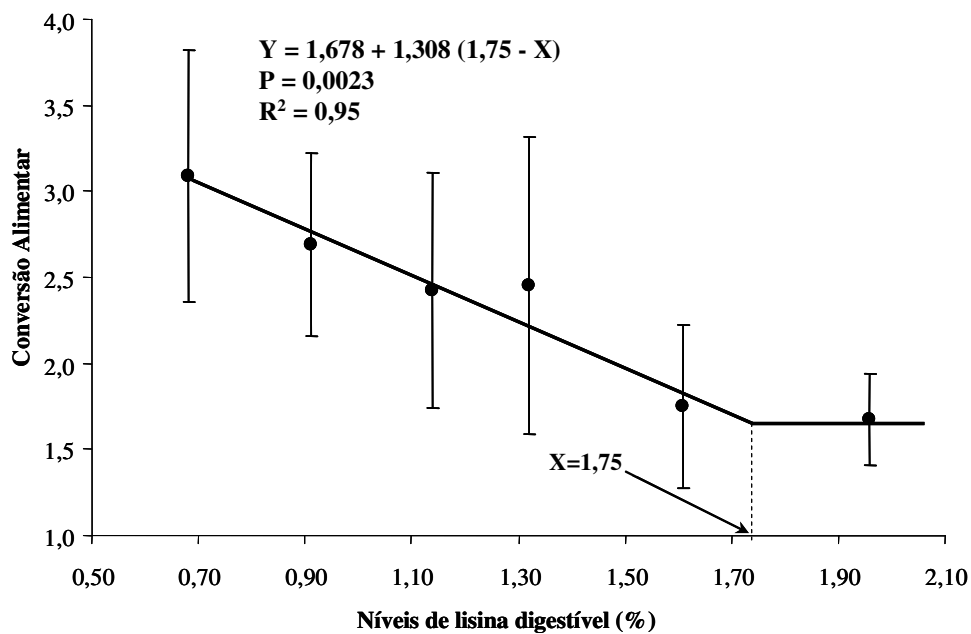


Figura 3 – Conversão alimentar aparente de pacus alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Na Tabela 5 são apresentados os valores de aminoácidos essenciais do músculo de juvenis de pacu, relação $AAE / \sum AAE$ no tecido muscular (Arai 1981), estimativa da exigência dos demais aminoácidos essenciais digestíveis por meio do nível adequado de lisina digestível (determinado no estudo de dose-resposta) e a relação $AAE / \sum AAE$. Também são apresentados os valores observados para a relação entre o nível ideal de aminoácidos essenciais digestíveis e o nível de proteína digestível exigido para juvenis de pacu (Abimorad & Carneiro 2007).

Discussão

Na maioria dos estudos de dose-resposta para determinação da exigência em aminoácidos para peixes são utilizadas dietas purificadas ou semi-purificadas, que podem prejudicar o crescimento devido à redução no consumo (Berge *et al.* 2002), principalmente quando as dietas são deficientes em aminoácidos essenciais, particularmente em lisina (Yamamoto *et al.* 2001; Dabrowski *et al.* 2007). No presente estudo, os peixes foram alimentados com dietas práticas suplementadas com aminoácidos sintéticos e não tiveram variação no consumo, apresentando valores médios de crescimento e conversão alimentar satisfatórios para as condições ambientais, mesmo quando alimentados com dietas deficientes em lisina. No entanto, os resultados de crescimento indicam que a lisina é indispensável para juvenis de pacu, que se mostraram aptos a utilizar L-lisina em dietas práticas.

Tabela 5 Exigências em aminoácidos essenciais (AAE) digestíveis para juvenis de pacu calculadas pelo conceito de proteína ideal e relação AEE digestível : proteína digestível na dieta

	% na proteína do músculo branco do pacu¹	AAE / \sumAAE do músculo \times 1000 (Arai 1981)	Perfil de AAE ideal² Referente à exigência em lisina digestível para o pacu	AAE ideal / 23% PD³ \times 100
Arginina	6,66	129,92	1,15%	5,00
Fenilalanina	4,29	83,69	0,74%	3,22
Histidina	2,54	49,55	0,44%	1,91
Isoleucina	4,21	82,13	0,73%	3,16
Leucina	8,35	162,90	1,44%	6,27
Lisina	9,50	185,33	1,64%	7,13
Metionina	2,18	42,53	0,38%	1,64
Treonina	4,82	94,03	0,83%	3,62
Valina	4,63	90,32	0,80%	3,48
Cistina	0,72	14,05	0,12%	0,54
Tirosina	3,36	65,55	0,58%	2,52
\sumAAE+Cis+Tir	51,26			

¹ Determinado por Abimorad *et al.* (2008)

² Exigência estimada para os demais AAE digestíveis em relação à exigência em lisina digestível: (1,64 / 185,33) \times resultado da fórmula de Arai 1981.

³ Exigência em proteína digestível para juvenis de pacu (Abimorad & Carneiro 2007).

Vários estudos relatam que a falta de um único aminoácido pode prejudicar o crescimento de peixes por meio da diminuição da síntese protéica e gasto energético com o catabolismo de outros aminoácidos em desequilíbrio nas dietas e, conseqüentemente, nas vias metabólicas (Cowey & Sargent 1979; Benevenga *et al.* 1993; Tantikitti & Chimsung 2001). A Fig. 1 mostra aumento nos CDA da proteína em relação ao acréscimo de lisina nas dietas, enquanto que os CDA da L-lisina livre permaneceram praticamente constante (média de $83,35\% \pm 0,05$), como observado por Wang *et al.* (2005), estudando carpa capim *Ctenopharyngodon idella*. Isto sugere que o adequado balanceamento de aminoácidos nas dietas pode aumentar a disponibilidade da proteína desde o processo de digestão e, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de aminoácidos para a formação muscular.

A exigência em lisina digestível foi estimada pelo modelo de regressão segmentada para o ganho de peso e conversão alimentar aparente. O nível determinado em resposta do GP (1,64%) pode ser considerado mais adequado em relação ao determinado pela resposta de CAA (1,75%), por apresentar o melhor ajuste dos dados ao modelo ($P=0,0001$ e $R^2=0,96$). O maior nível determinado pela resposta de CAA em relação ao determinado pelo GP pode ser explicado pelo fato de que uma dieta mais concentrada em determinado nutriente, como a lisina, pode proporcionar melhor conversão alimentar, visto que não houve diferença no consumo (Maynard & Loosli 1974). Assim, considerou-se que o nível de lisina digestível na dieta mais adequado para maior crescimento foi 1,64%, que corresponde a aproximadamente 1,77% de lisina bruta na dieta seca e 5,57% na fração protéica.

Os estudos de exigência de aminoácidos para peixe, em geral, são realizados com estes nutrientes na sua forma bruta. Com isso, torna-se difícil a comparação com o valor de lisina digestível determinado no presente estudo. Wang *et al.* (2005) avaliaram a exigência em lisina digestível para alevinos de carpa capim e estimaram o nível de 2,07% para

máximo crescimento. A carpa capim possui hábito alimentar próximo ao do pacu, entretanto, tem maior necessidade de lisina digestível. Furuya *et al.* (2006) determinaram a exigência em lisina digestível para juvenis de tilápia do Nilo, como sendo o nível de 1,56% para o maior ganho em peso, que correspondia a 1,72% de lisina bruta. O presente estudo mostra que a exigência em lisina bruta de juvenis de pacu foi 0,05% maior que para a tilápia, mas quando a exigência é expressa em valores digestíveis o pacu mostrou-se mais eficiente em aproveitar a lisina dietética.

O nível de lisina bruta estimado para tilápia (1,72%) por Furuya *et al.* (2006) é superior aos encontrados por Jackson & Capper (1982) e por Santiago & Lovell (1988), que estimaram a exigência de 1,62% para tilápia de Moçambique *Oreochromis mossambicus* e 1,43% para tilápia do Nilo, respectivamente. Por outro lado, Ogunji (2001), citado por Liebert & Benkendorff (2007), recomenda o nível dietético de 1,78% de lisina bruta para tilápia do Nilo. Em estudo com bagres onívoros, Montes-Girao & Fracalossi (2006) estimaram o nível de 1,48% de lisina para alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*. Tantikitti & Chimsung (2001) estimaram o nível de 1,22% em dietas para alevinos do bagre asiático *Mystus nemurus* (Cuv. & Val.). Robinson *et al.* (1980), re-avaliando a exigência em lisina para o bagre do canal *Ictalurus punctatus*, recomendaram 1,50%. Essas diferenças podem ser explicadas por diversos fatores que interferem neste tipo de estudo, como tamanho do peixe, tipo de dieta, concentrações de proteína e energia dietéticas, frequência e nível de alimentação, condições ambientais, entre outros.

O nível dietético de lisina bruta determinado neste estudo (1,77%) foi próximo ao encontrado para juvenis de “red sea bream” *Pagrus major* por Forster & Ogata (1998), que estimaram o valor de 1,73% de lisina (3,6% na proteína). A baixa proporção de lisina em relação ao conteúdo de proteína dietética indica o elevado teor protéico na dieta (48% PB) e, conseqüentemente, revela o hábito alimentar carnívoro da espécie estudada. Isto sugere

que não cabem comparações entre valores de exigências de aminoácidos em espécies com hábitos alimentares distintos, a não ser quando expressos na proteína dietética. De outra forma, o resultado do presente estudo foi menor ao encontrado para carpa comum por Zhou *et al.* (2008) (1,90% de lisina bruta na dieta seca e 5,90% na fração protéica). Isto indica que, mesmo dentre as espécies consideradas onívoras, os processos digestivos podem ser distintos e levar a resultados diferentes.

Várias pesquisas relatam menor acúmulo de gordura e ligeiro aumento no teor de proteína corporal em peixes alimentados com dietas suplementadas com lisina (Zarate & Lovell 1997; Rodehutsord *et al.* 2000; Encarnação *et al.* 2004; Luo *et al.* 2006; Zhou *et al.* 2008). No entanto, este efeito não foi observado por Anderson *et al.* (1992) para o salmão do Atlântico *Salmo salar*. O pacu tem tendência em acumular gordura no decorrer de seu crescimento devido ao seu hábito migratório; entretanto isso depende do regime alimentar durante seu ciclo de vida. Em outro estudo sobre o desempenho zootécnico com pacu, Abimorad *et al.* (2007) avaliaram o efeito poupador de proteína em juvenis alimentados com níveis dietéticos de lipídios e carboidratos, e relataram que os peixes que mais ganharam peso também acumularam mais gordura corporal. No presente estudo, os juvenis alimentados com os maiores níveis de lisina digestível (1,61 e 1,96%) apresentaram maiores valores de RP e menores valores de G_{LIP} e gordura corporal (Tabelas 3 e 4, respectivamente). Isto indica que o melhor balanceamento de aminoácidos na dieta provavelmente evita o catabolismo seletivo de aminoácidos e, conseqüentemente, aumenta a síntese protéica e diminui o acúmulo de reservas lipídicas (Ozório *et al.* 2002; Conceição *et al.* 2003). Outra possível explicação é que o maior nível de lisina circulante induz um processo de anabolismo, por meio da liberação de insulina, aumentando a RP e reduzindo a gordura corporal pelo aumento de lipólise (Berne & Levy 1990).

O conceito de proteína ideal tem sido usado como método de estimativa da exigência de todos os AAE, quando somente um é conhecido, por meio da taxa ideal de um aminoácido em relação ao total de AAE dos tecidos do peixe (Arai 1981; Kaushik 1998; Kim & Lall 2000). No presente estudo, além da estimativa da exigência dos demais AAE digestíveis pelo conceito de proteína ideal, também foi calculada a relação entre os níveis ideais de AAE digestíveis e o nível de proteína digestível exigido para juvenis de pacu (Abimorad & Carneiro 2007).

Observou-se que a exigência em lisina (1,77% na dieta seca e 5,57% na fração protéica) para juvenis de pacu não foi tão diferente das exigências para outras espécies de habito alimentar onívoro. O nível dietético adequado de lisina digestível (1,64%) foi determinado com base na disponibilidade da lisina nas dietas experimentais (média de 83,35%). A exigência estimada dos demais AAE digestíveis, pelo uso do conceito de proteína ideal, permitirá a elaboração de dietas com adequado balanceamento de aminoácidos para maximizar o crescimento, a eficiência de utilização da proteína e a qualidade da carcaça para o pacu.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela Bolsa de Doutorado concedida para o primeiro autor, processo nº. 04/06060-6 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCT/CNPq) pelo suporte financeiro, Edital Universal 019/2004 - processo nº. 476281.

Referências

Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2004) Fecal collection methods and determination of crude protein and of gross energy digestibility coefficients of feedstuffs for pacu,

- Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Brazilian Journal of Animal Science*, **33**, 1101-1109.
- Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2007) Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles-fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*, **13**, 1-9.
- Abimorad, E.G., Carneiro, D.J. & Urbinati, E.C. (2007) Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*, **38**, 36-44.
- Abimorad, E.G., Squassoni, G.H. & Carneiro, D.J. (2008) Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, **14**, DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00544.x.
- Almeida, G.S.C. (2003) *Suplementação dietética de vitamina C, desenvolvimento e sanidade do pacu (Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887)*. Master's Thesis. Animal Production, University of São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil.
- Alves, J.M.C. (1999) *Níveis de lipídios em dietas para o crescimento inicial do pacu, Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887)*. Master's Thesis. Aquaculture Center, São Paulo State University, Jaboticabal, SP, Brazil.
- Anderson, S.J., Lall, S.P., Anderson, D.M. & McNiven, M.A. (1992) Quantitative dietary lysine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fingerlings. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **50**, 316-322.
- Arai, S. (1981) A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **47**, 547-550.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) *Official Methods of Analysis*, 17th edn. AOAC Inc., Gaithersburg, MD, USA.
- Belo, M.A.A, Schalch, S.H.C., Moraes, F.R., Soares, V.E., Otoboni, A.M.M.B. & Moraes, J.E.R. (2005) Effect of Dietary Supplementation with Vitamin E and Stocking Density on Macrophage Recruitment and Giant Cell Formation in the Teleost Fish, *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of Comparative Pathology*, **133**, 146-154.
- Benevenga, N.J., Gahl, M.J. & Blemings, K.P. (1993) Role of protein synthesis in amino acid catabolism. *The Journal of Nutrition*, **123**, 332-336.

- Berge, G.E., Sveier, H. & Lied, E. (2002) Effects of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) imbalanced levels of lysine and arginine. *Aquaculture Nutrition*, **8**, 239-248.
- Berne, R.M. & Levy M.N. (1990) Metabolismo corporal total e hormônio das ilhotas pancreáticas. In: *Fisiologia* (Berne, R.M. & Levy M.N. ed.) pp. 668-697, 2th edn. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- Carneiro, D.J., Rantin, F.T., Dias, T.C.R. & Malheiros, E.B. (1994) Interaction between temperature and dietary levels of protein and energy in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). I. The effects on growth and body composition. *Aquaculture*, **124**, 127-131.
- Cho, C.Y.; Slinger, S.J. (1979) Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (Halver, J.E. & Tiews, K. ed.), **2**, 239-247. Heinemann, Berlin, Germany.
- Conceição, L.E.C; Grasdalen, H; Rønnestad, I. (2003) Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture*, **227**, 221-232.
- Cowey, B.C. & Sargent, J.R. (1979) Nutrition. In: *Fish Physiology, Vol. VIII. Bioenergetics and Growth* (Hoar, W.S., Randall, D.J. & Brett, J.R. eds), pp. 1-69. Academic Press, New York, NY.
- Dabrowski, K., Arslan, M., Terjesen, B.F. & Zhang, Y. (2007) The effect of dietary indispensable amino acid imbalances on feed intake: Is there a sensing of deficiency and neural signaling present in fish? *Aquaculture*, **268**, 136-142.
- Encarnação, P., Langes, C., Rodehutsord, M., Hoehler, D., Bureau, W. & Bureau, D.P. (2004) Diet digestible energy contents affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, for maximum growth. *Aquaculture*, **235**, 569-586.
- Fernandes, J.B.K., Carneiro, D.J. & Sakomura, N.K. (2000) Crude protein sources and levels in diets for pacu fingerlings (*Piaractus mesopotamicus*). *Brazilian Journal of Animal Science*, **29**, 646-653.
- Forster, I. & Ogata, H.Y. (1998) Lysine requirement of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, **161**, 131-142.

- Furukawa, A. & Tsukahara, H. (1966) On the acid digestion for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society Fisheries* **32**, 502-506.
- Furuya, W.M., Santos, V.G, Silva, L.C.R., Furuya, V.R.B & Sakaguti, E.S. (2006) Digestible lysine requirement of Nile tilapia juveniles. *Brazilian Journal of Animal Science*, **35**, 9.37-942.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (2005) *Estatística da Pesca 2004 - Brasil - Grandes Regiões e Unidades da Federação*, p. 89. IBAMA/MMA, Brasília, DF, Brazil.
- Jackson, A.J. & Capper, B.S. (1982) Investigations into the requirements of the tilapia (*Sarotherodon mossambicus*) for dietary methionine, lysine and arginine in simisynthetic diets. *Aquaculture*, **29**, 289-297.
- Kaushik, S.J. (1998) Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. *Aquat. Living Resour.*, **11**, 355-358.
- Kim, J.D. & Lall, S.P. (2000) Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellow-tail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, **187**, 367-373.
- Liebert, F. & Benkendorff, K. (2007) Modeling lysine requirements of *Oreochromis niloticus* due to principles of the diet dilution technique. *Aquaculture*, **267**, 100-110.
- Luo, Z., Liu, Y.J., Mai, K.S., Tian, L.X., Tan, X.Y., Yang, H.J., Liang, G.Y. & Liu, D.H. (2006) Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, **12**, 165-172.
- Martins, M.L. (1995) Effect of ascorbic acid deficiency on the growth, gill filament lesions and behavior of pacu fry (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **28**, 563-568.
- Maynard, L.A. & Loosli, J.K. (1974) Catabolismo do jejum. Manutenção. In: *Nutrição Animal*, 2nd edn. pp. 377-400. Freitas Bastos, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

- Merola, N. (1988) Effects of three dietary protein levels on the growth of pacu, *Colossoma mitrei*, Berg, in cages. *Aquacult. Fish. Manmgt*, **19**, 145-150.
- Montes-Girao, P. & Fracalossi, D.M. (2006) Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundiá, *Rhamdia quelen*. *The Journal of the World Aquaculture Society*, **37**, 388-396.
- Muñoz-Ramírez, A.P. & Carneiro, D.J. (2002) Lysine and methionine supplementation in diets with low protein level for the initial growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). *Acta Scientiarum*, **24**, 909-916.
- Munõz-Ramírez, A.P. (2005) *Utilização de carboidratos digestíveis em dietas para o pacu, Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887)*. Doctor's Thesis. Aquaculture Center, São Paulo State University, Jaboticabal, SP, Brazil.
- Ozório, R.O.A., Booms, G.H.R., Huisman, E.A. & Verreth, J.A.J. (2002) Changes in amino acid composition in the tissues of African catfish (*Clarias gariepinus*) as a consequence of dietary L-carnitine supplements. *J. Appl. Ichthyol.*, **18**, 140-147.
- Pezzato, L.E., Castagnolli, N., Barros, M.M., Del Carratore, C.R. & Pezzato, A.C. (1992) Efeito de diferentes níveis de gordura de origem animal e vegetal, sobre o depósito de ácidos graxos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: *Proceedings of VII Brazilian Symposium of Aquaculture*, ACIESP, pp.104-111. Peruíbe, SP, Brazil.
- Portz, L., Dias, C.T.S., Cyrino, J.E.P. (2000) Regressão segmentada como modelo na determinação de exigências nutricionais de peixes. *Scientia Agrícola*, **57**, p.601-607.
- Robinson, E.H., Wilson, R.P. & Poe, W.E. (1980) Re-evaluation of the lysine requirement and lysine utilization by fingerling channel catfish. *The Journal of Nutrition*, **110**, 2313-2316.
- Rodeutschord, M., Borchert, F., Gregus, Z. & Pfeffer, E. (2000) Availability and utilization of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Comparison of L-lysine –HCl and L-lysine sulphate. *Aquaculture*, **187**, 177-183.
- Saint-Paul, U. (1986) Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, **54**, 205-240.

- Sakomura, N.K. & Rostagno, H.S. (2007) Método dose-resposta para determinar exigências nutricionais. In: *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos*, pp. 156-194. Funep, Jaboticabal, SP, Brazil.
- Santiago, C.B. & Lovell, R.T. (1988) Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *The Journal of Nutrition*, **118**, 1540-1546.
- Small, B.C. & Soares Jr, J.H. (1998) Estimating the quantitative essential amino acid requirements of striped bass *Morone saxatilis*, using fillet A/E ratios. *Aquaculture Nutrition*, **4**, 225-232.
- Tacon, A.G.J. (1987) The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – training manual. I. The essential nutrients. FAO, pp. 117. Brasília, DF, Brazil.
- Tantikitti, C. & Chimsung, N. (2001) Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). *Aquaculture Research*, **32**, 135-141.
- Twibell, R.G., Griffin, M.E., Martin, J., Price, J. & Brown, P.B. (2003) Predicting dietary essential amino acid requirements for hybrid striped bass. *Aquaculture Nutrition*, **9**, 373-381.
- Wang, S., Liu, Y.j., Tian, L.X., Xie, M.Q., Yang, H.J., Wang, Y. & Liang, G.Y. (2005) Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, **249**, 419-429.
- Wilson, R.P. & Cowey, C.B. (1985) Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, **48**, 373-376.
- Wilson, R.P. & Poe, W.E. (1985) Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**, 385-388.
- Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., Sanchez-Vazquez, F.J. & Tabata, M. (2001) Self-selection and feed consumption of diets with a complete amino acid composition and a composition deficient in either methionine or lysine by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, **32**, 83-91.
- Zarate, D.D. & Lovell, R.T. (1997) Free lysine (L-lysine) is for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **159**, 87-100.

Zhou, X.Q., Zhao, C.R., Jiang, J., Feng, L. & Liu, Y. (2008) Dietary lysine requirement of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition*, **14**, DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00535.x.

Suplementação dietética de lisina e/ou metionina no desempenho produtivo e excreção de nutrientes de juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* em gaiolas

Eduardo Gianini Abimorad^{1,2}, Gisele Cristina Favero¹, Daniela Castellani^{1,2}, Fabiana Garcia^{1,2}, Dalton José Carneiro¹

¹ UNESP - Universidade Estadual Paulista/CAUNESP - Centro de Aquicultura, Jaboticabal, SP, Brasil. ² APTA/SAA-SP - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios/Pólo Regional Noroeste Paulista, Votuporanga, SP, Brasil.

Resumo - Os efeitos da suplementação de lisina e/ou metionina em dietas práticas no crescimento e excreção de N e P foram avaliados em juvenis de pacu criados em gaiolas. Peixes (46,7±9,9 g) foram alimentados com cinco dietas experimentais, sendo quatro contendo 23% PD (23NS-não suplementada, 23L-suplementada com lisina, 23M-suplementada com metionina e, 23LM-suplementada com ambos os aminoácidos) e uma dieta testemunha contendo 33% de proteína digestível (33PD). Não houve diferença entre os tratamentos para sobrevivência, taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência protéica (TEP), retenção de energia (RE), ganho em lipídio (G_{LIP}) e custo de arração. Os peixes alimentados com a dieta 33PD ingeriram a maior quantidade de ração (CR) e apresentaram as maiores médias de ganho em peso (GP) e conversão alimentar aparente (CAA). Os peixes que receberam a dieta 23LM não apresentaram diferenças significativas para CR, GP e CAA em relação aos alimentados com a dieta 33DP. A dieta 23M também proporcionou melhor CAA, não diferindo dos tratamentos 33PD e 23LM. Os peixes alimentados com as dietas suplementadas com lisina e/ou metionina apresentaram valores semelhantes de retenção de proteína (RP) e ganho em proteína (G_{PRT}) que os que receberam a dieta 33PD. Não houve diferença para as variáveis de nitrogênio amoniacal e fósforo total excretados na água. A dieta 33PD proporcionou maior descarga de N-Total em relação às demais rações.

Palavras chave: *Piaractus mesopotamicus*, aminoácidos digestíveis, excreção de nitrogênio, excreção de fósforo, custo de arração, tanque-rede.

Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance and nutrients excretion of pacu juveniles *Piaractus mesopotamicus* reared in cages

Abstract - Pacu juveniles (46.7 ± 9.9 g) were randomly distributed into 15 cages at density 54 fish per cage which constituted the five feeding treatments with three replicates. Four diets based on plant ingredients containing 23% digestible protein (DP): 23NS-without supplementation, 23L-supplemented with lysine, 23M-supplemented with methionine and, 23LM-supplemented with both amino acids and a control diet based on fish meal containing 33% DP were evaluated. Survival, specific growth rate (SGR), protein efficiency rate (PER), energy productive value (EPV), lipid gain (LG) and feeding cost (FC) were not influenced by dietary treatments ($P > 0.05$). Fish fed diets without AA supplementation (23NS) showed the lowest averages of protein productive value (PPV) and protein gain (PG). Weight gain (WG) and apparent feeding conversion (AFC) of fish fed diet 33DP were the highest among treatments. On the other hand, the WG of the 23LM group and AFC of the 23LM and 23M groups were not significantly different than 33DP group, and showed the highest average of PPV. There was a higher discharge of total nitrogen ($P < 0.05$) and, apparently, a higher discharge of phosphorus when fish were fed with diets based on fish meal containing 33% DP, than the other dietary treatments containing 23% DP, same with supplemental lysine and/or methionine and dicalcium phosphate.

Key words: *Piaractus mesopotamicus*, digestible amino acids, nitrogen excretion, phosphorus excretion, feeding cost, cage.

Introdução

O pacu *Piaractus mesopotamicus* é uma das espécies nativas do Brasil mais importantes para aqüicultura. Originário das Bacias dos Rios Paraná, Paraguai e Uruguai, na América do Sul (Saint-Paul 1986), o pacu ocorre desde o nordeste da Argentina até a região centro-oeste do Brasil. Em geral, sua criação é realizada em viveiros escavados nos sistemas intensivo em monocultivo ou semi-intensivo em policultivo com outras espécies onívoras. Dados sobre a criação de pacus em tanques-rede ou gaiolas são escassos (Merola & Souza 1988; Borghetti & Canzi 1993), dificultando a geração de um pacote tecnológico, como existe para a tilápia. Estima-se que o Brasil possui aproximadamente 5,3 milhões de hectares de lâmina d'água em reservatórios de usinas hidrelétricas com potencial para a criação de peixes em gaiolas, sem contar os açudes e represas em propriedades privadas. No entanto, a criação em gaiolas, onde o alimento natural é limitado ou indisponível, a ração deve ser balanceada para o bom crescimento dos peixes (Schmittou 1993).

Estudos sobre as exigências nutricionais das espécies aquáticas visando melhorar a utilização dos alimentos e redução de custos têm se tornado indispensáveis para o desenvolvimento da aqüicultura (Muñoz-Ramírez & Carneiro 2002). A proteína, principalmente a originária da farinha de peixe, é o nutriente mais caro no preparo de dietas para organismos aquáticos (El-Saidy & Gaber 2002). Neste sentido, cada vez mais pesquisas tem sido feitas para reduzir o nível de proteína das dietas, bem como, substituir a farinha de peixe por fontes protéicas de origem vegetal. No entanto, ingredientes vegetais podem apresentar características indesejáveis como a diminuição da disponibilidade de minerais, especialmente o fósforo, a presença de fatores antinutricionais e a falta de balanceamento entre os aminoácidos (Lovell 1989).

Lisina e metionina são os aminoácidos mais limitantes em dietas para peixes de águas quentes. A suplementação desses aminoácidos em dietas deficientes tem melhorado o

crescimento de várias espécies de peixes de clima tropical como a carpa comum (Viola & Lahav 1991), bagre do canal (Robinson & Li 1994) e a tilápia do Nilo (El-Saidy & Gaber 2002). Entretanto, quando não utilizados com eficiência, sua suplementação pode tornar-se inviável (Li & Robinson 1998; Webster *et al.* 2000; Hansen *et al.* 2007).

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho produtivo e retenção de nutrientes e energia de juvenis de pacu criados em gaiolas alimentados com dietas a base de proteína vegetal suplementadas com lisina e/ou metionina, para atender as exigências nutricionais em aminoácidos digestíveis, além de avaliar o custo de arrazoamento e a excreção de nitrogênio e fósforo na água.

Material e métodos

O estudo foi realizado no Pólo Regional do Noroeste Paulista/APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios/SAA – Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Votuporanga, SP, Brasil (Latitude: 20° 27' 50" Sul; Longitude: 50° 03' 53" Oeste), com três ensaios experimentais.

Dietas e alimentação

As cinco rações experimentais foram formuladas com base em seus valores de aminoácidos digestíveis (Tabela 1), sendo quatro dietas contendo 23% de proteína digestível (uma deficiente em aminoácidos, uma suplementada somente com lisina, outra suplementada somente com metionina e, por fim, uma suplementada com ambos os aminoácidos). A quinta dieta foi formulada para atender as exigências em aminoácidos digestíveis (Abimorad *et al.* dados não publicados), contemplando o perfil da “proteína ideal” (sem o uso de aminoácidos sintéticos); por isso, esta dieta atingiu o teor de 33% de proteína digestível, considerado elevado para o pacu (Fernandes *et al.* 2000; Abimorad &

Carneiro 2007). Estas rações foram formuladas para conter a mesma concentração de energia digestível não protéica (Abimorad & Carneiro, 2007).

Tabela 1 Composição das dietas experimentais

<i>Ingredientes (%)</i>	<i>US\$ kg⁻¹</i>	Dietas				
		23NS	23L	23M	23LM	33PD
Farinha de Peixe (50%PB)	1,25	5,20	5,20	5,20	5,20	23,63
Levedura de álcool	0,83	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Farelo de Soja	0,43	13,85	13,85	13,85	13,85	26,40
Glúten de Milho (60%PB)	1,02	13,85	13,85	13,85	13,85	5,20
Milho	0,30	26,89	26,89	26,89	26,89	17,72
Farelo de Trigo	0,51	26,89	26,89	26,89	26,89	17,72
Óleo de Peixe	2,26	1,96	1,96	1,96	1,96	1,44
Óleo de Soja	0,74	2,22	2,22	2,22	2,22	2,59
Suplemento Min. e Vit. ¹	2,71	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal (NaCl)	0,10	0,15	0,15	0,15	0,15	--
BHT	0,19	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Calcário	0,07	0,63	0,63	0,63	0,63	--
Fosfato Bicálcico	0,86	1,98	1,98	1,98	1,98	--
L-lisina 78	5,19	--	1,09	--	1,09	--
DL-metionina 98	6,99	--	--	0,14	0,14	--
Caulin	0,09	1,23	0,14	1,09	--	0,15
Preço	<i>US\$ kg⁻¹</i>	0,62	0,68	0,63	0,69	0,72
<i>Composição Analisada (%)</i>						
Matéria Seca		90,7	92,0	93,6	93,3	92,6
Proteína Bruta		25,5	27,1	27,1	27,5	37,5
Proteína Digestível		22,3	23,2	23,4	24,9	33,5
Extrato Etéreo		6,1	6,3	6,7	6,5	8,1
Fibra Bruta		6,0	5,4	5,7	5,8	2,6
Matéria Mineral		7,8	7,3	8,3	7,5	10,3
Extrato Não Nitrogenado		45,2	45,9	45,8	46,0	34,1
Cálcio*		1,16	1,16	1,16	1,16	1,55
Fósforo disponível*		0,75	0,75	0,75	0,75	1,02
Energia Bruta (kcal kg ⁻¹)		4214	4319	4212	4269	4290
Energia Digestível (kcal kg ⁻¹)		3548	3604	3594	3707	3623

US\$ 1,00 = R\$ 1,75

¹ (Enriquecimento kg⁻¹ ração): Vitaminas: A=2200,00 UI, D3=1600,00 UI, E=17,00 UI, K=2,50 mg, B1=2,50 mg, B2=4,00 mg, B6=2,00 mg, B12=30,00 mcg, C=100,00 mg, Ácido Fólico=1,00 mg, Ácido pantotênico=15,00 mg, Biotina=0,10 mg, Niacina=50,00 mg, Colina=4,50 g, Cobalto=0,03 mg, Cobre=7,50 mg, Ferro=50,00 mg, Iodo=2,00 mg, Manganês=50,00 mg, Selênio=0,07 mg, Zinco=80,00 mg, Antioxidante=125,00 g

* Valores médios de cálcio e fósforo disponível foram calculados com dados da EMBRAPA (1991)

As dietas foram extrusadas (extrusora Extrucenter) na Fabrica de Ração da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal, com diâmetro de 4-5 mm.

Ensaio I - Desempenho

Este ensaio foi conduzido por 85 dias (Outubro 2006 a Janeiro de 2007) em gaiolas flutuantes instaladas em um reservatório de aproximadamente 8000 m² de lâmina d'água e profundidade de até 3 m. A temperatura da água e a pluviosidade foram monitoradas diariamente e as outras variáveis físico-químicas da água (transparência e oxigênio dissolvido) foram mensuradas semanalmente pela manhã, próximo às gaiolas, utilizando disco de Secchi e oxímetro YSI modelo 55, respectivamente (Fig. 1). As gaiolas de 1,2 m³ úteis (1,0 × 1,0 × 1,2 m) foram confeccionadas com ferro para construção civil, pintados com tinta epóxi, e revestidas com tela hexagonal (malha de 1") de arame galvanizado protegido com PVC. Foram utilizados 810 juvenis de pacu com peso médio inicial de 46,7±9,9 g, distribuídos ao acaso em 15 gaiolas em uma densidade de estocagem de 54 peixes/gaiola (45 peixes/m³). Cada gaiola representava uma parcela experimental de um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (rações) e três repetições.

Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente, duas vezes ao dia (8:00 e 15:00 horas), seis dias na semana. As rações experimentais, após a extrusão, apresentaram densidade pouco maior que a da água, fazendo com que parte dos péletes afundassem lentamente na coluna d'água. Isto foi fundamental para o treinamento alimentar dos peixes durante as duas primeiras semanas de cultivo, quando já estavam aptos a se alimentarem na superfície.

Todos os peixes foram pesados no início e no final do período experimental. No início do estudo, 20 juvenis da mesma população usada no experimento, foram mortos com benzocaína (0,2 g/L) e congelados para posterior determinação da composição corporal inicial da carcaça. Da mesma forma, no final do experimento, uma amostra de seis peixes de cada parcela, após jejum de 24 horas, também foram sacrificados para posterior determinação da composição corporal final da carcaça.

Para cada parcela experimental, foram avaliados os parâmetros de desempenho de produção e eficiência de retenção de nutrientes. O preço atual de cada ingrediente foi orçado para, junto com os resultados de conversão alimentar, estimar o custo de arraçamento para cada quilo de ganho de peso (US\$ kg⁻¹ GP).

Ensaio II - Digestibilidade

Este ensaio foi conduzido em tanques de fibrocimento (500 L) em sistema de recirculação de água, para determinação dos valores de proteína, energia e aminoácidos digestíveis das dietas experimentais. Para isto, foram utilizados 210 juvenis de pacus com peso médio de 54,9±10,1 g, distribuídos em 10 tanques. Após serem alimentados por cinco dias com as mesmas dietas experimentais, acrescidas de 0,5% de Cr₂O₃, os peixes foram anestesiados com benzocaína (50 mg L⁻¹) e submetidos a massagens na região abdominal, das nadadeiras ventrais em direção ao ânus, para a coleta de fezes. As amostras de fezes foram armazenadas em recipientes plásticos e conservadas em congelador, para posteriores análises.

As amostras de rações e de fezes foram submetidas às análises de proteína, realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) do CAUNESP/Jaboticabal, SP, Brasil, de acordo com as normas da AOAC (2000). As análises de energia foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal, em bomba calorimétrica de Parr. As análises de aminoácidos totais foram realizadas no Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada ITAL/Campinas, SP, Brasil, por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC). As concentrações de Cr₂O₃ das fezes e das rações foram determinadas por digestão nitro-perclórica, de acordo com a metodologia descrita por Furukawa & Tsukahara (1966).

Após a realização da análise quantitativa do Cr_2O_3 e com posse dos valores de nutrientes presentes nas dietas e nas fezes, os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram calculados pela seguinte fórmula:

$$CDA = 100 - 100 \times \left(\frac{\% Cr_2O_3 \text{ na dieta}}{\% Cr_2O_3 \text{ nas fezes}} \right) \times \left(\frac{\% \text{ nutriente nas fezes}}{\% \text{ nutriente na dieta}} \right)$$

Ensaio III - Excreção de nutrientes

O objetivo deste ensaio, mais do que obter informações quantitativas do total de nitrogênio (N) e fósforo (P) produzidos por um dado consumo de ração, foi fornecer base relativa para a comparação entre os valores de excreção de N-Total, N-Amoniacal e P-Total na água dos peixes alimentados com as diferentes dietas experimentais.

Parte dos peixes do ensaio II, estocados no sistema de recirculação, foi utilizada para determinação da excreção de nutrientes na água. Para isto, uma bateria de seis aquários cilíndricos de polietileno (25 L), tampados com tela, foi organizada para constituir os cinco tratamentos e um controle negativo (sem peixes). Pela manhã, os peixes alocados nos tanques de fibrocimento (500 L) foram alimentados até a saciedade aparente com as dietas experimentais e, imediatamente, três peixes de cada tratamento foram capturados aleatoriamente e transferidos para cada aquário, numa densidade de estocagem de $13,55 \text{ g L}^{-1}$. Os peixes permaneceram nesta bateria por 24 h com aeração contínua e temperatura da água mantida a $26,4 \pm 1,3 \text{ } ^\circ\text{C}$. Na manhã seguinte, a água de cada aquário foi homogeneizada, para ser coletada em garrafas de 500 mL, que foram congeladas para posteriores análises de nitrogênio total (Mackereth *et al.* 1978), nitrogênio amoniacal (Koroleff 1976) e fósforo total (Golterman *et al.* 1978). Tal procedimento foi repetido por quatro vezes com intervalo de um dia, caracterizando cada coleta uma repetição de um delineamento inteiramente casualizado constituído por cinco tratamentos (rações). Para

estimar a descarga de nutrientes por dia em relação ao peso dos animais, os valores de N-Total, N-Amoniacal e P-Total excretados foram também expressos em mg kg^{-1} Peso Corporal dia^{-1} (Figs. de 3 a 5).

Análises estatísticas

Os resultados dos parâmetros de desempenho, de eficiência de retenção de nutrientes e das excreções relativas de N e P foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($P < 0,05$), utilizando-se do programa Statistical Analyses System SAS® v.9 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Resultados

As variações semanais de oxigênio dissolvido e temperatura da água e de precipitação (acumulado na semana) e transparência da água, durante o período experimental do primeiro ensaio estão representadas na Fig. 1.

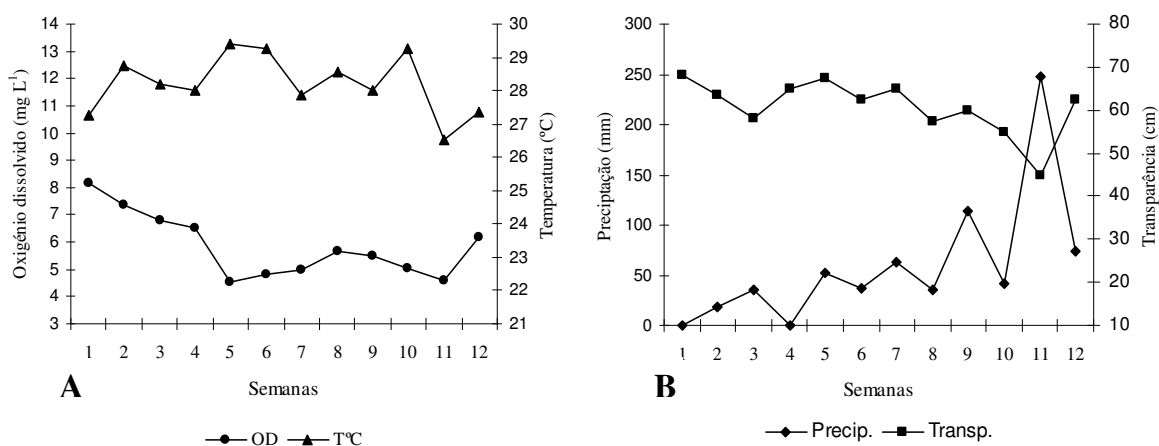


Figura 1 Representação gráfica da variação semanal de oxigênio dissolvido e temperatura da água (A) e da precipitação e transparência da água da represa (B), durante o período experimental.

Os valores mínimo e máximo das variáveis físico-químicas da água foram, respectivamente, 26,3 e 29,9 °C para temperatura, 4,18 e 8,45 mg L⁻¹ para oxigênio dissolvido, e 45 e 70 cm para transparência.

Observa-se na Fig. 2, que as dietas 33PD e 23LM (suplementada com lisina e metionina) apresentaram melhores coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da proteína para o pacu em relação às demais dietas experimentais.

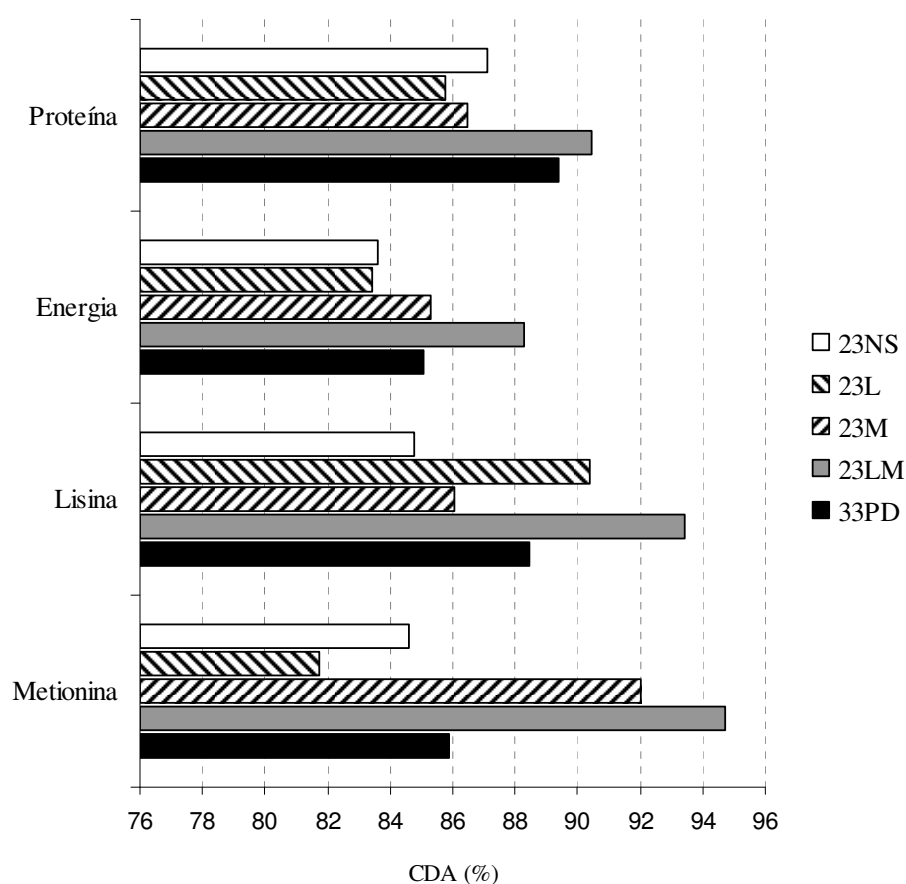


Figura 2 Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da proteína, energia, lisina e metionina das dietas experimentais.

Para a fração energética, a dieta 23LM se destacou em relação aos demais tratamentos, apresentando também maior valor de energia digestível (3707 kcal kg⁻¹), observado na Tabela 1. Os CDA da lisina foram maiores para as dietas 23L (suplementadas

com lisina) e 23LM, assim como os CDA da metionina foram maiores para as dietas 23M (suplementada com metionina) e 23LM.

Os valores determinados de aminoácidos brutos e digestíveis presentes nas dietas experimentais estão apresentados na Tabela 2. Em destaque estão os valores de lisina e metionina (aminoácidos suplementados). Pode-se observar pequena variação nos níveis de lisina das dietas 33PD, 23L e 23LM e nos níveis de metionina das dietas 33PD, 23M e 23LM, as quais foram formuladas para terem níveis iguais de lisina e metionina, respectivamente, atendendo as exigências nutricionais da espécie, determinadas em estudo prévio por Abimorad *et al.* (dados não publicados).

Tabela 2 Valores brutos e digestíveis dos aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) das dietas experimentais

Composição determinada (%)	Dieta				
	23NS	23L	23M	23LM	33PD
<i>AAE</i>					
Arginina	1,54 (1,42)	1,54 (1,50)	1,64 (1,51)	1,72 (1,63)	2,40 (2,23)
Histidina	0,65 (0,60)	0,65 (0,60)	0,76 (0,72)	0,72 (0,69)	1,03 (0,99)
Isoleucina	0,92 (0,79)	0,95 (0,82)	1,00 (0,87)	1,03 (0,94)	1,37 (1,21)
Leucina	2,81 (2,60)	2,88 (2,66)	2,94 (2,72)	3,00 (2,86)	2,95 (2,70)
Lisina	1,19 (1,01)	1,95 (1,76)	1,20 (1,03)	2,01 (1,88)	2,06 (1,82)
Metionina	0,32 (0,27)	0,31 (0,25)	0,48 (0,45)	0,46 (0,44)	0,50 (0,43)
Fenilalanina	1,31 (1,17)	1,40 (1,26)	1,37 (1,23)	1,43 (1,34)	1,64 (1,46)
Treonina	1,04 (0,88)	1,17 (0,99)	1,10 (0,95)	1,18 (1,06)	1,61 (1,42)
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd
Valina	1,11 (0,97)	1,15 (1,01)	1,28 (1,13)	1,24 (1,14)	1,73 (1,15)
<i>AANE</i>					
Ácido Aspártico	2,33 (2,01)	2,42 (2,08)	2,45 (2,14)	2,58 (2,35)	3,80 (3,39)
Ácido Glutâmico	5,54 (5,15)	5,75 (5,35)	5,84 (5,46)	6,07 (5,81)	6,43 (5,96)
Alanina	1,81 (1,62)	1,91 (1,71)	1,93 (1,75)	1,73 (1,60)	2,26 (2,01)
Cistina	0,26 (0,24)	0,20 (0,18)	0,33 (0,31)	0,32 (0,31)	0,36 (0,34)
Glicina	1,18 (0,99)	1,34 (1,12)	1,21 (1,03)	1,25 (1,11)	2,12 (1,79)
Prolina	1,95 (1,82)	1,94 (1,81)	1,98 (1,86)	2,06 (1,96)	1,83 (1,64)
Serina	1,40 (1,25)	1,84 (1,63)	1,47 (1,32)	1,53 (1,42)	1,83 (1,64)
Tirosina	0,90 (0,81)	0,96 (0,86)	0,96 (0,86)	1,00 (0,93)	1,12 (1,00)

Valores brutos de AA (Valores digestíveis de AA)

nd: Não determinado

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados dos parâmetros de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes de juvenis de pacu submetidos aos

diferentes tratamentos. Não houve diferença significativa para os dados de peso inicial ($46,7 \pm 9,9$ g) e sobrevivência, mostrando baixa mortalidade durante o experimento. Também não houve diferença entre os tratamentos dietéticos para os parâmetros: taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência protéica (TEP), retenção de energia (RE), ganho em lipídio (G_{LIP}) e custo de arraçamento (Tabela 3)

Os peixes alimentados com a dieta de maior nível protéico, baseada em farinha de peixe (33PD), consumiram a maior quantidade de ração (CR), provavelmente devido a maior palatabilidade, e apresentaram as melhores médias de ganho em peso (GP) e conversão alimentar aparente (CAA). Estes peixes não apresentaram diferenças significativas para CR, GP e CAA em relação aos alimentados com a dieta suplementada com lisina e metionina (23LM). A dieta suplementada somente com metionina (23M) também proporcionou bons índices de CAA, não diferindo dos tratamentos 33PD e 23LM.

Os peixes alimentados com a dieta não suplementada com aminoácidos (23NS) apresentaram as piores médias de retenção de proteína (RP) e ganho em proteína (G_{PRT}). Os peixes alimentados com as dietas de menor teor protéico (23% PD) suplementadas com lisina e/ou metionina não apresentaram diferença ($P > 0,05$) para RP e G_{PRT} em relação aos peixes que receberam a dieta com maior teor protéico (33PD).

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios de excreção relativa de N-Total, N-Amoniacal e P-Total na água pelos juvenis de pacu submetidos as diferentes dietas experimentais. Pode observar-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis de nitrogênio amoniacal e fósforo total. Por outro lado, os peixes alimentados com a dieta 33PD excretaram mais N-Total ($P < 0,05$) que os peixes submetidos às demais rações (com 23% PD), mesmo quando suplementadas com aminoácidos

Tabela 3 Valores médios dos parâmetros de desempenho produtivo e eficiência de retenção de nutrientes de juvenis de pacu alimentados com as diferentes dietas experimentais

Parâmetros	Dietas						ANOVA Valores de P
	23NS	23L	23M	23LM	33PD	33PD	
Sobrevivência (%)	100 ± 0,00	97 ± 0,03	99 ± 0,02	99 ± 0,01	99 ± 0,01	99 ± 0,01	0,5596
Peso médio inicial (g)	44,9 ± 10,9	45,9 ± 11,1	47,8 ± 11,4	49,7 ± 7,9	44,8 ± 15,2	44,8 ± 15,2	0,9790
Peso médio final (g)	292,4 ± 71,7 c	335,4 ± 13,3 bc	397,2 ± 57,3 b	412,8 ± 59,9 ab	499,3 ± 32,1 a	499,3 ± 32,1 a	0,0057
Ganho em peso (g) ¹	247,5 ± 77,9 c	288,2 ± 22,1 bc	348,5 ± 47,9 bc	362,8 ± 68,1 ab	454,3 ± 26,0 a	454,3 ± 26,0 a	0,0073
Taxa de crescimento específico (%/dia) ²	2,2 ± 0,5	2,4 ± 0,3	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,3	2,9 ± 0,3	2,9 ± 0,3	0,2574
Consumo de ração (g)	493,4 ± 45,2 c	532,7 ± 45,9 bc	543,0 ± 21,9 bc	593,5 ± 40,4 ab	610,6 ± 27,2 a	610,6 ± 27,2 a	0,0199
Conversão alimentar aparente ³	2,17 ± 0,5 c	1,85 ± 0,1 bc	1,58 ± 0,2 ab	1,65 ± 0,2 ab	1,35 ± 0,1 a	1,35 ± 0,1 a	0,0286
Taxa de eficiência protéica ⁴	1,84 ± 0,5	2,08 ± 0,2	2,46 ± 0,3	2,34 ± 0,3	2,20 ± 0,2	2,20 ± 0,2	0,1796
Retenção de proteína (%) ⁵	26,5 ± 5,6 b	34,6 ± 2,8 ab	40,7 ± 6,5 a	39,2 ± 6,9 a	32,8 ± 1,5 ab	32,8 ± 1,5 ab	0,0455
Retenção de energia (%) ⁶	27,7 ± 8,1	27,8 ± 4,0	34,8 ± 4,2	32,2 ± 4,8	38,6 ± 6,1	38,6 ± 6,1	0,1632
Ganho em proteína (%) ⁷	13,7 ± 1,7 b	17,2 ± 1,0 a	17,1 ± 0,8 a	17,7 ± 1,3 a	16,6 ± 1,4 a	16,6 ± 1,4 a	0,0235
Ganho em lipídio (%) ⁸	14,6 ± 1,8	14,1 ± 0,6	13,3 ± 1,9	13,4 ± 1,6	12,7 ± 2,5	12,7 ± 2,5	0,7607
Custo de arraçamento (US\$/kg de GP) ⁹	1,34 ± 0,29	1,26 ± 0,10	1,00 ± 0,13	1,14 ± 0,13	0,97 ± 0,07	0,97 ± 0,07	0,0769

Valores são médias de três réplicas ± desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente (Duncan $P > 0,05$).

¹Ganho de peso (GP) = (peso final - peso inicial)

²Taxa de crescimento específico (TCE) = $(\log_e \text{ peso final} - \log_e \text{ peso inicial}) \times 100/\text{dias}$

³Conversão alimentar aparente (CAA) = consumo de ração/ganho em peso

⁴Taxa de eficiência protéica (TEP) = ganho em peso/consumo de proteína

⁵Retenção de proteína (RP) = $(\text{Proteína corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Proteína corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{consumo de proteína}$

⁶Retenção de energia (RE) = $(\text{Energia corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Energia corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{consumo de energia}$

⁷Ganho em proteína (G_{PR}T) = $(\text{Proteína corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Proteína corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{ganho em peso}$

⁸Ganho em lipídio (G_{LIP}) = $(\text{Lipídio corporal}_{\text{final}} \times \text{peso}_{\text{final}}) - (\text{Lipídio corporal}_{\text{inicial}} \times \text{peso}_{\text{inicial}}) \times 100/\text{ganho em peso}$

⁹US\$ 1,00 = R\$ 1,75

Tabela 4 Valores médios das excreções relativas de N-Total, N-Amoniacal e P-Total na água de juvenis de pacu alimentados com as diferentes dietas experimentais

Dietas	Variáveis		
	N-Total (mg L ⁻¹)	N-Amoniacal (µg L ⁻¹)	P-Total (µg L ⁻¹)
23NS	2,46 ± 0,4 b	252,2 ± 61,1	740,3 ± 167,2
23L	3,20 ± 0,8 b	304,1 ± 14,3	624,0 ± 224,7
23M	2,39 ± 0,5 b	282,6 ± 37,5	745,4 ± 128,4
23LM	2,65 ± 0,1 b	244,9 ± 54,8	787,7 ± 94,3
33PD	4,86 ± 0,4 a	283,0 ± 36,6	911,0 ± 178,5
ANOVA			
Valores de <i>P</i>	< 0,0001	0,3405	0,2932

Valores são médias de quatro réplicas ± desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente (Duncan *P* > 0,05).

As Figuras 3, 4 e 5 representam, respectivamente, as descargas diárias de N-Total, N-Amoniacal e P-Total na água por kg peso corporal de pacus alimentados com as diferentes dietas experimentais.

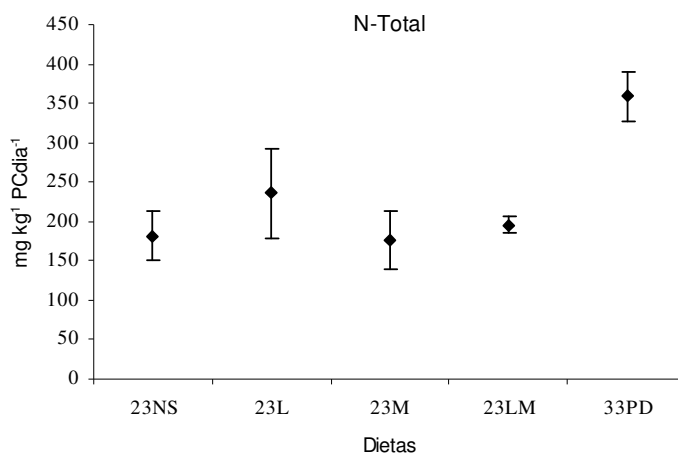


Figura 3 Descarga diária de nitrogênio total na água por kg peso corporal de pacus alimentados com as diferentes dietas experimentais (mg kg⁻¹ dia⁻¹, média ± desvio padrão, *n* = 4).

Observa-se pouca variação entre os tratamentos para as descargas de N-Amoniacal e P-Total, mas os peixes que receberam a dieta a base de farinha de peixe

(33PD), aparentemente excretaram maior quantidade de P-Total do que os que receberam as dietas a base de proteína vegetal, suplementadas com fosfato bicálcico.

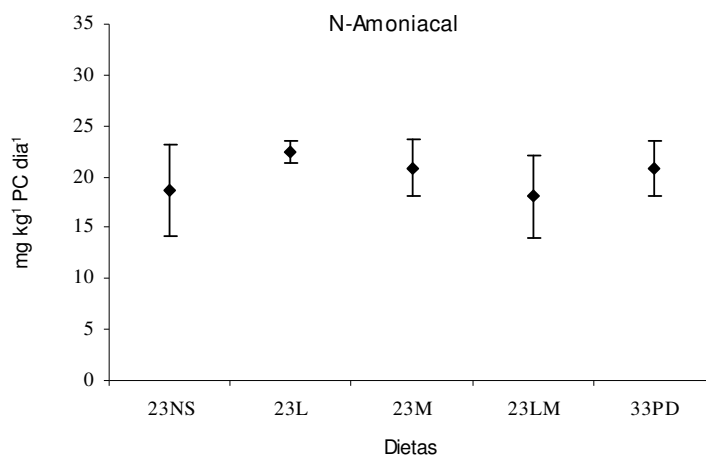


Figura 4 Descarga diária de nitrogênio amoniacal na água por kg peso corporal de pacus alimentados com as diferentes dietas experimentais ($\text{mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, média \pm desvio padrão, $n = 4$).

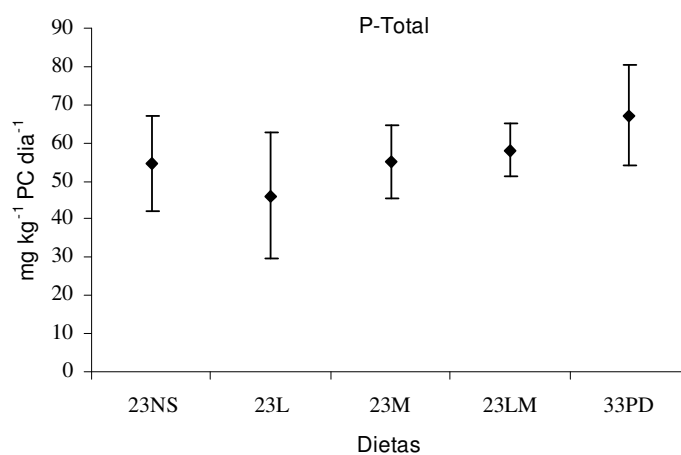


Figura 5 Descarga diária de fósforo total na água por kg peso corporal de pacus alimentados com as diferentes dietas experimentais ($\text{mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, média \pm desvio padrão, $n = 4$).

Discussão

A variação da concentração de oxigênio dissolvido está relacionada com valores de temperatura, pressão atmosférica e turbulência da água, estando também sujeita as flutuações diárias sazonais, que são em parte devidas à atividade fotossintética (Esteves 1998). Mesmo em dias com a temperatura da água elevada (29,9 °C) os valores de oxigênio dissolvido observados no presente estudo foram considerados satisfatórios para o bom desempenho da espécie estudada. Observa-se também, que na 11^a semana, houve alta pluviosidade, reduzindo a temperatura e a transparência da água (Fig. 1), provavelmente devido ao aumento de sólidos em suspensão; entretanto, foi observado que mesmo em dias nublados ou chuvosos, como ocorreram na 9^a e 11^a semana, os peixes alimentaram-se normalmente.

Os resultados de GP demonstraram que a dieta com 10% a menos de proteína digestível suplementada com lisina e metionina (23LM) proporcionou crescimento semelhante aos pacus alimentados com a dieta contendo 33% de proteína digestível. Adicionalmente os resultados de RP mostram que os peixes que receberam as dietas de menor teor protéico suplementadas com lisina e metionina ou somente metionina (23LM e 23M, respectivamente) tiveram melhor aproveitamento da fração protéica das dietas. Isto indica que a metionina provavelmente é mais limitante que a lisina para o pacu. Resultados de crescimento observados no presente estudo foram semelhantes aos encontrados por Coyle *et al* (2000) com a suplementação dietética somente de metionina para juvenis de “largemouth bass” *Micropterus salmoides* e por Takagi *et al* (2001) com a suplementação de metionina ou ambos metionina e lisina em dietas a base de concentrado protéico de soja para juvenis de “red sea bream” *Pagrus major*. De outra forma, Botaro *et al.* (2007) observaram aumento linear na retenção de proteína com a redução dos níveis de proteína

digestível em dietas suplementadas com AAE para atender a proteína ideal para tilápias *Oreochromis niloticus* criadas em tanques-rede.

Em outro estudo com juvenis de pacu, Muñoz-Ramírez & Carneiro (2002) concluíram que os melhores resultados de GP foram observados para tratamento com maior teor protéico (26% PB) em relação às outras dietas que tiveram suplementação de aminoácidos; contudo, ao contrário do observado no presente estudo, notaram maior retenção de proteína nos peixes alimentados com dietas de baixo teor protéico (22% PB) suplementadas somente com lisina, quando comparadas às enriquecidas somente com metionina. Por outro lado, é possível observar na Fig.2, que os resultados de digestibilidade da proteína, energia, lisina e metionina evidenciam a maior eficiência de utilização da dieta suplementada com ambos os aminoácidos pelos juvenis de pacu.

Pesquisas com o bagre do canal *Ictalurus punctatus* demonstraram que não houve efeito da suplementação de lisina e/ou metionina no desempenho desta espécie (Webster *et al.* 2000), mesmo em dietas com teor de proteína menor que o exigido e com restrição alimentar (Li & Robinson 1998). Para o bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* também não foi observado aumento no crescimento quando alimentados com dietas à base de proteína vegetal suplementadas com lisina e metionina em relação a dietas contendo farinha de peixe (Hansen *et al.* 2007). Em um estudo com tilápia, Furuya *et al.* (2004) não observaram melhora no ganho em peso dos peixes alimentados com dietas enriquecidas com aminoácidos (lisina, metionina e treonina), mas concluíram que a suplementação desses AAE, para atingir o perfil de aminoácidos da proteína ideal, resultou em aumento no teor de proteína corporal. No presente estudo, os juvenis de pacu que receberam as dietas suplementadas com aminoácidos também tiveram maior G_{PRT} (Tabela 3).

Os resultados de excreção de nutrientes indicam maior descarga de N-Total ($P<0,05$), e aparentemente maior descarga de P-Total pelos juvenis de pacu que receberam

a dieta mais protéica à base de farinha de peixe (33PD) em relação às dietas com 23% de PD, mesmo quando enriquecidas com aminoácidos e fosfato bicálcico. Resultados do presente estudo foram semelhantes aos observados para juvenis de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Cheng *et al.* 2003) e de “turbot” *Scophthalmus maximus* (Peres & Oliva-Teles 2005). Isto sugere que dietas com baixo teor protéico a base de proteína vegetal suplementadas com aminoácidos e fosfato bicálcico pode proporcionar desempenho satisfatório para o pacu, como também relatado para tilápia por Furuya *et al.* (2004); além de reduzir a emissão de N e P ao meio aquático, em relação a dietas a base de farinha de peixe, com alto teor protéico e principalmente com baixa disponibilidade de fósforo (NRC 1993).

Não foi observada diferença na excreção de N-amoniaco para as diferentes dietas. Uma possível explicação por não se ter detectado diferença na excreção de amônia foi o período de tempo para a coleta de água após a alimentação (24 h), pois durante esse período pode ter comprometido sua excreção, que depende da diferença de gradiente na água. Em estudo com tambaqui *Colossoma macropomum*, Ismiño-Orbe *et al.* (2003) observaram que a excreção de amônia não foi constante durante o período de 24 horas, tendo um pico de atividade de excreção quatro horas após a alimentação. Da mesma forma, Dosdat *et al.* (1995) verificaram um pico de excreção de amônia duas horas após a alimentação de “sea bass” *Dicentrarchus labrax*. Outra probabilidade é que houve maior efeito do nitrogênio fecal do que o excretado na forma de amônia dentro dos aquários, visto que a amônia também é volátil; mas considerando a criação em tanques-rede ou gaiolas, grande parte do N presente no material orgânico proveniente das fezes chega ao sedimento e ali, em condições anaeróbicas, ocorre a amonificação de outras formas de nitrogênio, elevando a concentração de N-amoniaco (Pereira & Mercante 2005). No entanto, como os resultados de custo de arrastamento do presente estudo não apresentaram

diferenças significativas; observa-se que a dieta que pode apresentar mais benefícios seria a suplementada somente com metionina (23M), pois foi a que proporcionou menor custo (US\$ kg⁻¹ de ganho em peso) dentre as dietas que ocasionaram menor excreção de nitrogênio (Tabelas 3 e 4)

Conclui-se que, para juvenis de pacu criados em gaiolas, as dietas à base de ingredientes vegetais contendo 23% de PD suplementadas com AAE (lisina e metionina ou somente metionina) proporcionaram crescimento, retenção de proteína e custo de arraçamento satisfatórios quando comparadas à dieta com maior teor protéico (33% PD) à base de farinha de peixe, com a vantagem de menor emissão de nutrientes ao meio aquático. Dentro deste âmbito, ainda é válido ressaltar a possibilidade de formulações de dietas balanceadas com outros ingredientes de baixo custo, com menor necessidade de suplementação com aminoácidos sintéticos, podendo aumentar a eficiência de utilização de nutriente (Zarate & Lovell 1997; Hu *et al.* 2008) e a viabilidade econômica da dieta.

A taxa de crescimento dos peixes nas condições deste experimento pode ser considerada alta (em média 2,5% dia⁻¹) para esta faixa de peso de 45-500 g, mostrando o potencial desta espécie para a criação em tanques-rede. Visto que atualmente a SEAP-PR (Secretaria de Aquicultura e Pesca da Presidência da República do Brasil) incentiva a criação de espécies nativas em tanques-rede, principalmente o pacu, no reservatório de Itaipu, no rio Paraná (Scolese 2007), os resultados deste estudo de nutrição junto com outros trabalhos de manejo alimentar (Merola & Souza 1988; Borghetti & Canzi 1993) poderão dar suporte a novos estudos de criação de pacu em gaiolas, que também deverão ser conduzidos com peixes maiores, considerando que o peso comercial desta espécie é em torno de 1,0-1,5 kg.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela Bolsa de Doutorado concedida para o primeiro autor, processo n°. 04/06060-6 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCT/CNPq) pelo suporte financeiro, Edital Universal 019/2004 - processo n°. 476281. Nós agradecemos também os funcionários de apoio da APTA: Ademir Papali, Natalino S. Brito e Wilson L. Strada pela confecção das gaiolas e auxílio na condução do experimento de campo e os funcionários de apoio do CAUNESP: Valdecir F. Lima, Ancilon A. Silva Jr. e Mauro Marcelino pelo auxílio no processamento das rações experimentais.

Referências

- Abimorad, E.G. & Carneiro, D.J. (2007) Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles-fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*, **13**, 1-9.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) *Official Methods of Analysis*, 17th edn. AOAC Inc., Gaithersburg, MD, USA.
- Borghetti, J.R. & Canzi, C. (1993) The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. *Aquaculture*, **114**, 93-101.
- Botaro, D., Furuya, W.M., Silva, L.C.R., Santos, L.D., Silva, T.S.C. & Santos, V.G. (2007) Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-donilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. *Brazilian Journal of Animal Science*, **36**, 517-525.
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W. & Usry, J.L. (2003) Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. *Aquaculture*, **218**, 553-565.

- Coyle, S.D., Tidwell, J.H. & Webster, C.D (2000) Response of largemouth bass *Micropterus salmoides* to dietary supplementation of lysine, methionine, and highly unsaturated fatty acids. *Journal of the World Aquaculture Society*, **31**, 89-95.
- Dosdat, A., Gaumet, F. & Chartois, H. (1995) Marine aquaculture effluent monitoring: Methodological approach to the evaluation of nitrogen and phosphorus excretion by fish. *Aquaculture Engineering*, **14**, 59-84.
- El-Saidy, D.M.S.D & Gaber, M.M.A. (2002) Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, **33**, 297-306.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (1991) *Tabela de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves*. 3. ed. EMBRAPA, Concórdia, SC, Brazil.
- Esteves, F.A. (1998) *Fundamentos de limnologia*. 2nd edn, pp. 146-171. Interciência, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- Fernandes, J.B.K., Carneiro, D.J. & Sakomura, N.K. (2000) Crude protein sources and levels in diets for pacu fingerlings (*Piaractus mesopotamicus*). *Brazilian Journal of Animal Science*, **29**, 646-653.
- Furukawa, A. & Tsukahara, H. (1966) On the acid digestion for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society Fisheries* **32**, 502-506.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Pezzato, A.C., Furuya, V.R.B. & Miranda, E.C. (2004) Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid level in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*, **35**, 1110-1116.
- Golterman, H.L, Clyno, R.S., Ohsntad, M.A.M. (1978) *Methods for physical and chemical analysis of freshwater*. Boston, Blackwell. 214p.
- Hansen, A.C., Rosenlund, G., Karlsen, Ø, Koppe, W. & Hemre, G.I. (2007) Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I – Effects on growth and protein retention. *Aquaculture*, **272**, 599-611.

- Hu, M., Wang, Y., Wang, Q., Zhao, M., Xiong, B., Qian, X., Zhao, Y. & Luo, Z. (2008) Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture*, In Press.
- Ismiño-Orbe, R.A., Araujo-Lima, C.A.R.M. & Gomes, L.C. (2003) Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **38**, 1243-1247.
- Koroleff, F. (1976) Determination of nutrients. In: K, Grasshoff (ed). *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemic, Weimheim, Germany, pp. 117-181.
- Li, M.H. & Robinson, E.H. (1998) Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **163**, 297-307.
- Lovell, R.T. (1989) *Nutrition and feeding of fish*. Van Nostrand Reinhold, New York, NY, USA.
- Mackereth, F.J.H., Heron, J., Talling, J.F. (1978) *Water analysis: some revised methods for limnologist*. (Freshwater Biological Association Scientific Publication, n. 36). Kendal: Titus Wilson & Sans Ltd, 117 p.
- Merola, N. & Souza, H. (1988) Preliminary studies on the culture of the pacu, *Colossoma mitrei*, in floating cages: Effect of stocking density and feeding rate on growth performance. *Aquaculture*, **68**, 243-248.
- Muñoz-Ramírez, A.P. & Carneiro, D.J. (2002) Lysine and methionine supplementation in diets with low protein level for the initial growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). *Acta Scientiarum*, **24**, 909-916.
- National Research Council (NRC) (1993) *Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes*, p.114. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Pereira, L.P.F. & Mercante, C.T.J. (2005) A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*, **31**, 81-88.

- Peres, H. & Oliva-Teles, A. (2005) The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. *Aquaculture*, **250**, 755-764.
- Robinson, E.H. & Li, M.H. (1994) Use of plant protein in catfish feeds: replacement of soybean meal with cottonseed meal and replacement fish meal with soybean meal and cottonseed meal. *Journal of the World Aquaculture Society*, **25**, 271-276.
- Schmittou, H.R. (1993) *High density fish culture in low volume cages*. 78 p. American Soybean Association, Singapore, Singapore.
- Scolese, E. (2007) Governo vai licitar lagos e rios para o cultivo de peixes. *Folha de São Paulo*, São Paulo, Brazil, 19 nov. p.B3.
- Takagi, S., Shimeno, S., Hosokawa, H. & Ukawa, M. (2001) Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, **67**, 1088-1096.
- Viola, S. & Lahav, E. (1991) Effects of lysine supplementation in practical carp feeds on total protein sparing and reduction of pollution. *The Israeli Journal of Aquaculture*, **43**, 112-118.
- Webster, C.D., Tiu, L.G., Morgan, A.M. & Gannam, A.L. (2000) Differences in growth in blue catfish *Ictalurus furcatus* and channel catfish *I. punctatus* fed low-protein diets with and without supplemental methionine and/or lysine. *Journal of the World Aquaculture Society*, **31**, 195-205.
- Zarate, D.D. & Lovell, R.T. (1997) Free lysine (L-lysine) is for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **159**, 87-100.

Implicações

O uso dos valores de aminoácidos digestíveis dos alimentos avaliados permitirá maior precisão e economia na formulação de rações balanceadas. Dentro deste contexto, há a necessidade de estudos com outros ingredientes de qualidade e baixo custo, para aumentar a eficiência de utilização de nutriente e a viabilidade econômica de dietas.

Com o nível dietético adequado de lisina digestível (1,64%) foi possível estimar a exigência dos demais AEE digestíveis. Este perfil de aminoácidos, desenhado pelo conceito de proteína ideal, permitirá a elaboração de dietas com adequado balanceamento de aminoácidos para maximizar o crescimento, a eficiência de utilização da proteína e a qualidade da carcaça do pacu.

A suplementação de lisina e/ou metionina mostrou que a metionina provavelmente é mais limitante que a lisina para o pacu. O balanceamento adequado de aminoácidos digestíveis e a disponibilidade de fósforo permitirão a formulação de rações ambientalmente corretas, com menor emissão de nutrientes ao meio aquático.

Os resultados deste trabalho demonstram a necessidade de continuar os estudos com dietas práticas que investiguem o adequado balanceamento de aminoácidos digestíveis, pois isso pode afetar a síntese protéica e o rendimento de carcaça do peixe. Desta forma, estudos de assimilação de aminoácidos no tecido muscular de peixes poderão contribuir para o entendimento dos processos de nutrição, fornecendo informações úteis para formulação de rações balanceadas para o pacu.