

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA
CAMPUS DE JABOTICABAL

SUPLEMENTAÇÃO DE LISINA E METIONINA EM DIETAS PRÁTICAS
COM BAIXO NÍVEL PROTÉICO PARA O CRESCIMENTO INICIAL DE
ALEVINOS DO PACU, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887)

Adriana Patricia Muñoz Ramírez
Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. DALTON JOSÉ CARNEIRO

Dissertação apresentada ao Centro de Aquicultura da
UNESP, como parte das exigências para obtenção do
Título de Mestre em AQUICULTURA, Área de
Concentração em Aquicultura

JABOTICABAL - SP

Março - 2001

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ADRIANA PATRICIA MUÑOZ RAMÍREZ, nascida em 29 de julho de 1972, em Bogotá D.C., Colômbia, é Zootecnista formada pela *Universidad Nacional de Colombia* - Bogotá D.C., em dezembro de 1996. Obteve o grau de Especialista em Aqüicultura - Águas Continentais pelo *Instituto de Acuicultura de los Llanos* da *Universidad de los Llanos* - Villavicencio, Colômbia, em dezembro de 1998. Realizou Mestrado em Aqüicultura no Centro de Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista, onde defendeu a dissertação em março de 2001.

DEDICATÓRIA

À minha querida família: Lauro e Amparito, meus pais, Mechas e Juan Pablo, meus irmãos, Carlos e Kike, meu cunhado e sobrinho, pela força, coragem e apoio nos momentos mais difíceis e pela alegria e carinho nos melhores instantes da minha vida. Embora distantes, sempre perto do meu coração...!

NANA

ORACIÓN DEL PROFESIONAL

Nuestro Señor:

Comienza un nuevo día, y como
siempre pongo en tus manos mi trabajo.

Ayúdame a realizar con éxito mi labor de hoy,
dame fuerza, optimismo, poder de convicción;
sobre todo constancia y entrega a mi trabajo.

Además de mis éxitos, que es fácil
ofrecerte, te ofrezco Señor también
mis desilusiones, mis esperanzas inútiles,
mis citas canceladas y mi cansancio estéril.

Convénceme Señor que ningún trabajo es perdido
y que mañana cosecharé gozoso los fracasos de hoy.

Te doy gracias por mi hermosa profesión,
pues es mi trabajo un servicio con integridad y alegría.

Inflama tú mis ímpetus y mentalidad de triunfo,
pero consérvame siempre sencillo y dispuesto
al servicio, a la colaboración y al compañerismo.

En tu nombre me lanzo a la lucha hoy.

Gracias Dios mío por tu apoyo constante.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro, pela orientação neste inesquecível caminho da aprendizagem. Serei sempre grata a ele e a sua família pela amizade, paciência e incondicional apoio.

Ao Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros e ao Zootencista M.Sc. Mario Fernando Cerón, pelas valiosas sugestões nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Lewis Green Jhon, da Escola de Medicina de Ribeirão Preto - USP, pelas análises de aminoácidos realizadas.

Ao Dr. Jorge Sisniega, do Departamento de Vitaminas e Saúde Animal - Hoffman La Roche, São Paulo, pelo fornecimento dos aminoácidos utilizados neste estudo.

Às Doutoradas membros da Banca Examinadora, pelas contribuições nas correções e sugestões, que permitiram o aprimoramento deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição Animal (LANA) - FCAV, UNESP, pela orientação na realização das análises bromatológicas.

Aos amigos do Laboratório Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV - Jaboticabal, pelo apoio nas coletas e realização de análises.

Aos meus colegas de Pós-graduação do CAUNESP, os quais eu não poderia nomear um a um: aqueles de olhos puxados, aqueles de olhos abertos, aqueles de lindo sotaque, aqueles de imenso sorriso, aqueles de grande coração, pois sem vossas presenças este tempo longe da minha terra não teria sido tão especial.

Aos inesquecíveis Marcelo "Japinha", Juliana, Flavio, Helen "Soila I", Rodrigo F., Rodrigo G., Twin, Rosângela, Emilio, Rossineide, Alitene, Silvio, Henrique, Ester, Erminia, Dona Cida e aqueles que agora não me lembrei de colocar nestas linhas, pelo convívio e amizade nos bons tempos e também nos tempos ruins, "Mandarina" agradece!

Aos meus queridos amigos colombianos, Paola, Mario, Claudia, Dianita, David, Jairo, Francisco, Walter, Alfredo, Sandrita, Héctor, Juan Carlos, Diana, Miguel e Ana, pois com eles compartilhei momentos que fizeram as saudades da minha bela terra, Colômbia, fossem transformadas em sentimentos de esperança, alegria e paz.

À família Tello Saldarriaga, Jorge, Yolanda, Elizabeth e Anamaría, pois o lar e carinho que me ofereceram foram as melhores bases para minha permanência neste belo país.

Ao pessoal do Centro de Aqüicultura da UNESP, Vera, Fátima, Dona Ana, Mônica, Juliana, Alta, Sueli, Sr. Mauro e demais pessoas que dele fazem parte, pela sua amizade, paciência e constante colaboração.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Aqüicultura, pela contribuição à minha formação profissional.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Brasil, às suas maravilhosas, alegres e simples pessoas, sempre grata por fazer possível a realização dos meus sonhos.

ÍNDICE

Página

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DA ESPÉCIE ESTUDADA.....	4
3. EXIGÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS EM PEIXES.....	5
4. SUPLEMENTAÇÃO DE LISINA E/OU METIONINA EM DIETAS PRÁTICAS.....	8
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10

CAPÍTULO II

SUPLEMENTAÇÃO DE LISINA E METIONINA EM DIETAS PRÁTICAS COM BAIXO NÍVEL PROTÉICO PARA O CRESCIMENTO INICIAL DE ALEVINOS DO PACU, <i>Piaractus mesopotamicus</i> (HOLMBERG, 1887).....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	23
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
Caracterização dos alimentos usados.....	27
Ensaio de desempenho.....	30

Análises estatísticas.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
Escore e Químico.....	36
Ensaio de desempenho.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Composição bromatológica e de aminoácidos dos ingredientes usados.....	29
2. Fórmulação e composição bromatológica das dietas experimentais.....	32
3. Descrição dos contrastes ortogonais e coeficientes utilizados na análise dos tratamentos dos parâmetros de desempenho, eficiência de retenção de nutrientes, biométricos e fisiológicos de alevinos de pacu.....	36
4. Composição em aminoácidos do filé do pacu e escore químico (EQ) dos ingredientes utilizados para elaboração da ração.....	37
5. Valores de F no desdobramento por contrastes ortogonais e médias para os parâmetros de desempenho de produção dos alevinos de pacu.....	40
6. Valores de F no desdobramento por contrastes ortogonais e médias para os parâmetros de eficiência nutricional dos alevinos de pacu.....	42
7. Valores de F no desdobramento por contrastes ortogonais e médias para os índices corporais e fisiológicos dos alevinos de pacu.....	44

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de organismos aquáticos em condições controladas pelo homem é uma indústria em crescimento, com uma grande projeção à nível mundial, e uma das atividades de produção de alimento mais importantes para o futuro imediato (FAO, 1997). O cultivo destes organismos depende principalmente de alimentos artificiais que, segundo TACON (1989), constituem em geral, a fração mais significativa dentre os custos operacionais nas empresas dedicadas à aquicultura, em nível semi-intensivo ou intensivo. Portanto, os estudos sobre exigência nutricional das espécies aquáticas, principalmente de proteínas e aminoácidos, vem tornando-se indispensáveis para o desenvolvimento da área, visando diminuir o custo dos alimentos e otimizar sua utilização.

Segundo D'MELLO (1994b), nas últimas duas ou três décadas, o conhecimento da utilização dos aminoácidos em animais domésticos tem avançado significativamente, impulsionado pela grande importância para as indústrias, e certamente é resultado da produção comercial da lisina e metionina sintéticas.

Vários autores têm revisado as informações existentes sobre exigências protéicas e de aminoácidos em peixes (KETOLA, 1982; MILLIKIN, 1982; DABROWSKI, 1986;

WILSON & HALVER, 1986; NRC, 1993; COWEY, 1994; WATANABE & KIRON 1994), mostrando que o conhecimento destas exigências revela a sua importância no aproveitamento do alimento consumido pelas espécies.

Nesse sentido, D'MELLO (1994b) afirma que inúmeros estudos têm sido conduzidos para determinar a resposta dos animais não ruminantes à aminoácidos individuais, visando quantificar a sua exigência, mas assegura que o mais importante é conhecer a resposta gradativa de animais submetidos à elevação de níveis de um aminoácido, do que determinar um nível ótimo do nutriente.

Segundo WILSON (1989), um ótimo nível de proteína na dieta, tanto para peixes, como para outros animais, é influenciado pelo balanço de proteína e energia na dieta, pela composição de aminoácidos e digestibilidade das proteínas-teste, e pela quantidade de fontes de energia não protéicas na dieta teste. Além disso, o autor afirma que os peixes não têm uma verdadeira exigência de proteína, mas de uma mistura bem balanceada de aminoácidos essenciais e não essenciais.

As exigências completas de aminoácidos essenciais foram estabelecidas, usando dietas purificadas, para sete, das aproximadamente 300 espécies cultivadas mundialmente (TACON, 1989; NRC, 1993): a carpa indiana, *Catla catla*; o bagre do canal, *Ictalurus punctatus*; o salmão-real, *Oncorhynchus tshawytscha*; o salmão-cão, *Oncorhynchus keta*; a carpa comum, *Cyprinus carpio*; a enguia japonesa, *Anguilla japonica* e a tilapia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. No entanto, poucos trabalhos são encontrados usando dietas práticas, especificamente para peixes nativos brasileiros, como o pacu, *Piaractus mesopotamicus*. O uso destas dietas para determinar as exigências de aminoácidos essenciais é de grande importância, uma vez que os resultados obtidos oferecem

informações valiosas sobre a qualidade da proteína e a eficiência dos peixes para a utilização dos nutrientes contidos nos ingredientes testados.

Os aminoácidos essenciais, metionina e lisina, têm sido os mais estudados por serem os primeiros aminoácidos limitantes em fontes de proteína vegetal (TACON & JACKSON, 1988; VAN DER MEER & VERDEGEM, 1996; LOVELL, 1998). Antes de substituir totalmente a farinha de peixe, com fontes vegetais, para formular dietas mais eficientes e econômicas, são necessárias informações sobre a necessidade destes aminoácidos. Segundo WILSON (1989), o fornecimento de dietas com baixos teores de proteína (menores que aqueles exigidos pela espécie) no estudo das exigências de aminoácidos essenciais, assegurará a máxima utilização do aminoácido limitante. Adicionalmente, estas dietas poderiam proporcionar benefícios econômicos (SILVA et al., 1989) e ambientais (RUOHONEN et al., 1999).

2. IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DA ESPÉCIE ESTUDADA

Segundo SAINT-PAUL (1986), a América do Sul possui a ictiofauna mais rica de todos os continentes, sugerindo que a aquicultura continental pode ser melhor desenvolvida, se forem usadas as espécies nativas existentes.

As espécies da família Characidae, subfamília Serrasalminae, apresentam grande porte e rápido crescimento, sendo que estas qualidades, associadas à rusticidade e ao hábito alimentar, tornam este grupo alvo da atenção de pesquisadores na América Latina. No Brasil, três espécies são utilizadas em piscicultura: o tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818); a pirapitinga *C. brachypomum* (CUVIER, 1818), ambas originárias da Bacia Amazônica, e o pacu, encontrado desde a bacia do rio Orinoco na Venezuela, até à

bacia do rio da Prata no Uruguai (SILVA, 1985; BARBOSA, 1986; SAINT-PAUL, 1986). O pacu é uma das espécies mais promissoras para a piscicultura brasileira, em função do seu hábito alimentar onívoro, crescimento rápido, rusticidade, fecundidade elevada, fácil adaptação à alimentação artificial e grande aceitação no mercado (CASTAGNOLLI & ZUIM, 1985).

Alguns trabalhos foram realizados com o propósito de avaliar aspectos da biologia e ecologia, em ambiente natural do pacu (SILVA, 1985). O teor protéico, as fontes e proporções da proteína, exigidas pelo pacu e por espécies de hábitos alimentares similares foram amplamente estudadas (CARNEIRO et al., 1984; SILVA, 1986; MEROLA & CANTELMO, 1987; MACHADO, 1989; KUBITZA, 1990; BORGHETTI et al., 1991; CARNEIRO et al., 1992; TOLEDO, 1995; GUTIERREZ et al., 1996; MACEDO-VIEGAS et al., 1996; VIDAL-JÚNIOR et al., 1998; BELTRÁN-RINCÓN et al., 1999; VÁSQUEZ-TORRES et al., 1999). A qualidade da proteína, ou seja, a composição de aminoácidos essenciais dos ingredientes utilizados nestas rações tem sido pouco pesquisada (VAN DER MEER et al., 1996; STECH, 1999; FERNANDES et al., 2000).

3. EXIGÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS EM PEIXES

Segundo VAN DER MEER (1997), um dos principais objetivos no cultivo de peixes é o ganho em biomassa, o qual requer um incremento proporcional da proteína corporal, sintetizada pelos animais a partir de proteína da dieta.

Todos os estudos realizados em peixes, até o momento, têm mostrado que estes animais precisam dos mesmos dez aminoácidos essenciais (AAE), observados nas demais classes de vertebrados (SILVA & ANDERSON, 1995). Para formular uma dieta, é

importante saber que os aminoácidos não essenciais (AANE), cistina e tirosina, podem ser sintetizados pelo animal, a partir de aminoácidos essenciais como metionina e fenilalanina, respectivamente. Assim, as necessidades desses dois aminoácidos essenciais dependerão da concentração dos seus aminoácidos não essenciais correspondentes na dieta (TACON, 1989, STECH, 1999).

Os requerimentos quantitativos de aminoácidos essenciais em peixes têm sido tradicionalmente determinados pelo fornecimento de dietas experimentais, nas quais incluem-se níveis graduais de cada aminoácido, obtendo-se as curvas de crescimento respectivas (WILSON, 1988). De acordo com TACON (1989), o requerimento dietético é aquele onde ocorre o ponto de inflexão da curva de crescimento.

Os valores de requerimento encontrados podem depender da metodologia seguida para sua determinação. O uso de diferentes fontes protéicas, substitutos energéticos não protéicos, regimes de alimentação, classes de idade de peixes, métodos para a determinação do conteúdo energético e exigências dietéticas, relatados por diferentes pesquisadores, permitem poucas comparações diretas intra ou interespecíficas (TACON, 1989). A composição de aminoácidos no tecido do peixe não difere grandemente entre as espécies (VAN DER MEER & VERDEGEM, 1996), conseqüentemente o padrão de requerimento para as diferentes espécies também será similar (TACON, 1989).

Estudos recentes têm mostrado as exigências quantitativas de lisina e metionina para peixes, como: salmão do Atlântico, *Salmo salar* (BERGE et al., 1998); truta das fontes, *Salvelinus alpinus* (SIMMONS & MOCCIA, 1997; SIMMONS et al., 1999); falso-alabote-japonês, *Paralichthys olivaceus* (FOSTER & OGATA, 1998; ALAM et al., 2000); pargo vermelho, *Pargus major* (FOSTER & OGATA, 1998); carpa "rohu", *Labeo rohita*

(MURTHY & VARGHESE, 1998) e carpa comum (SCHWARZ et al., 1998), mas pouca informação é encontrada para peixes nativos brasileiros (SILVA, 1986; KUBITZA, 1990).

A qualidade da proteína nos ingredientes alimentares depende da composição de aminoácidos que a caracterizam e da disponibilidade biológica dos mesmos. Em geral, quanto mais próximo for o padrão de AAE da proteína dos requerimentos dietéticos de AAE da espécie em questão, maior será seu valor nutricional e utilização (TACON, 1989; WILSON, 1989).

Segundo D'MELLO (1994a) o desbalanceamento de aminoácidos nas dietas pode ser corrigido totalmente, suplementando com o primeiro aminoácido limitante, sendo que, para tornar um aminoácido limitante pode-se usar uma proteína deficiente, como gelatina, ou fornecer rações baixas em proteína. O autor relata dois tipos de desbalanceamentos: aquele causado pela adição de uma quantidade relativamente pequena de um aminoácido a uma dieta baixa em proteína, e aquele provocado por uma mistura incompleta de aminoácidos.

No sentido de avaliar a qualidade nutricional de diversos ingredientes disponíveis na Costa Rica, e baseados no conteúdo de proteína e no perfil de aminoácidos indispensáveis, VAN DER MEER & VERDEGEM (1996) identificaram, por meio da determinação dos aminoácidos limitantes e com o cálculo do Escore Químico (EQ), que alguns ingredientes podem substituir a maior parte da farinha de peixe, comumente usada em dietas práticas para alimentação do tambaqui.

4. SUPLEMENTAÇÃO DE LISINA E/OU METIONINA EM DIETAS PRÁTICAS

Em um experimento realizado com peixe-leite, *Chanos chanos*, e dietas práticas contendo 30% ou 40% de PB e suplementadas com metionina, SHIAU et al. (1988) encontraram que mais de 67% da farinha de peixe da sua dieta pode ser substituída por farelo de soja, com suplementação de metionina, sem afetar o crescimento e a conversão alimentar desta espécie.

Nessa mesma linha de pesquisa, a substituição da farinha de peixe por farelo de soja em dietas com níveis baixos de proteína (24% PB), suplementadas ou não com metionina, para machos de tilapia híbrida, *O. niloticus* X *O. aureus*, foi estudada por SHIAU et al. (1989). Os níveis de substituição foram 0%, 33%, 67% e 100%, sendo que, a cada nível de substituição, a metionina foi suplementada até a quantidade do aminoácido na dieta basal (100% da proteína originada da farinha de peixe) ou não foi suplementada. Os autores sugeriram que, com níveis sub-ótimos de proteína, mais do que 67% da farinha de peixe pode ser substituída por proteína do farelo de soja, sem nenhum efeito adverso no crescimento e conversão alimentar da tilapia.

Estudando a suplementação de lisina livre (L-lisina - HCL) ou ligada na proteína do farelo de soja, em dietas práticas deficientes deste aminoácido, para crescimento de juvenis de bagre do canal, ZARATE & LOVELL (1997) observaram que a suplementação da dieta basal com 1,24% de lisina livre melhorou o ganho em peso dos peixes, até um nível igual ao obtido com a dieta contendo farelo de soja, mas a lisina ligada na proteína da soja foi melhor utilizada que a lisina livre.

LI & ROBINSON (1998), avaliaram recentemente os efeitos da suplementação com lisina e/ou metionina, em dietas práticas com baixos níveis de proteína (24 e 28% PB)

em juvenis de bagre do canal. As dietas experimentais foram formuladas para suprir os requerimentos de AAE da espécie em mais de 30%, exceto para metionina + cistina e lisina, os quais foram suplementados para atingir o nível dos outros AAE (130% do requerimento). Os resultados do estudo mostraram que a suplementação com lisina ou metionina para dietas com excesso de AAE não melhorou o desenvolvimento dos peixes.

Por outro lado Viola et al.(1994), citados por SCHWARZ et al. (1998), afirmaram que a adição de lisina em dietas práticas para carpa, tornou possível a redução da proteína da dieta sem afetar o crescimento.

No sentido de avaliar as diferenças de crescimento entre bagre azul, *Ictalurus furcatus*, e bagre do canal, WEBSTER et al. (2000) forneceram aos peixes, dietas com diferentes teores de proteína (22%, 27% e 32%), com e sem suplementação de metionina ou lisina, observando que o bagre azul foi capaz de aproveitar a ração com 22% PB e que a adição dos aminoácidos não melhorou o crescimento. Também foi observado que o bagre do canal não utilizou eficientemente as dietas com baixos níveis de proteína, mostrando melhor desempenho com níveis de 32% PB com ou sem suplementação de aminoácidos.

Assim, esta dissertação teve como objetivo, avaliar as necessidades de lisina e metionina em dietas para pacu, através das respostas desta espécie à suplementação das dietas com aminoácidos limitantes.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M. S.; TESHIMA, S.-I.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Methionine requirement of juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 31, n. 4, p. 618-626, 2000.

BARBOSA, J. M. Espécies do gênero *Colossoma* (Pisces, Characidae) importantes para piscicultura em regiões tropicais. In: OLIVEIRA, L. B. De. (Coord.). **Síntese dos trabalhos realizados com espécies do gênero *Colossoma***. Pirassununga: CIID, 1986. p. 8.

BELTRÁN-RINCÓN, E. Y.; VÁSQUEZ-TORRES, W.; WILLS-FRANCO, A. Determinación de requerimientos nutricionales para cachama blanca *Piaractus brachypomus*: 2. Aproximación al balance de aminoácidos en dietas para juveniles. In: CONGRESO SUR AMERICANO DE ACUICULTURA, 2., CONGRESO WAS/LAC, 3., ACUICULTURA VENEZUELA'99, 1999, Puerto La Cruz, **Anais...**Puerto La Cruz: [s.n.], 1999. não paginado.

BERGE, G. E.; SVEIER, H.; LIED, E. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolic effect of lysine. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120A, p. 477-485, 1998.

BORGHETTI, J. R.; LEPELEIRE, R. E. M.; FERNANDEZ, D. R. Os efeitos da origem da proteína no crescimento do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criado em tanques-rede. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 51, n. 3, p. 689-694, 1991.

CARNEIRO, D. J.; WAGNER, P. M.; DIAS, T. C. R. Efeito da densidade de estocagem e do nível de proteína bruta na dieta, no desempenho de produção de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., 1992, Peruíbe. **Anais...**Peruíbe: Associação Brasileira de Aquicultura, 1992. p. 52-61.

CARNEIRO, D. J.; CASTAGNOLLI, N.; MACHADO, C. R.; VERARDINO, M. Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (BERG, 1895), Pisces, Characidae: I Níveis de proteína dietária. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3., 1984, São Carlos. **Anais...**São Carlos: Associação Brasileira de Aquicultura, 1984. p. 105-119.

CASTAGNOLLI, N.; ZUIM, S. M. F. **Consolidação do conhecimento adquirido sobre o pacu *Colossoma mitrei* (BERG, 1895)**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1985. 30 p.

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

DABROWSKI, K. R. Mini Review: Ontogenetical aspects of nutritional requirements in fish. **Comparative Biochemical Physiology**, v. 85A, n. 4, p. 639-655, 1986.

D'MELLO, J. P. F. Amino Acid Imbalances, Antagonism and Toxicities. In: _____. (Ed.). **Amino Acids in Farm Animal Nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994a. p. 63-97.

_____. **Amino Acids in Farm Animal Nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994b. 418 p.

FAO. **El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura, 1996**. Roma: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1997. 125 p.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 646-653, 2000.

FOSTER, I.; OGATA, H. Lysine requirement of juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pargus major*. **Aquaculture**, v. 161, p. 131-142, 1998.

GUTIERREZ, W.; ZALDÍVAR, J.; DEZA, S.; REBAZA, M. Determinación de los requerimientos de proteína y energía de juveniles de paco, *Piaractus brachypomus* (Pisces Characidae). **Folia Amazonica**, v. 8, n. 2, p. 35-45, 1996.

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

KUBITZA, F. **Substituição total da farinha de peixe pelo farelo de soja em rações para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887), suplementadas com metionina**. 1990. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

LI, M. H.; ROBINSON, E. H. Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 163, p. 297-307, 1998.

LOVELL, T. **Nutrition and Feeding of Fish** 2. ed. New York: Kluwer Academic, 1998. 267 p.

MACEDO-VIEGAS, E. M.; CASTAGNOLLI, N.; CARNEIRO, D. J. Níveis de proteína bruta em dietas para o crescimento do tambaqui, *Colossoma macropomum* CUVIER, 1818 (Pisces, Characidae). **Revista UNIMAR**, v. 18, n. 2, p. 321-333, 1996.

MACHADO, M. G. S. **Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé do pacu**. 1989. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

MEROLA, N.; CANTELMO, O. A. Growth, feed conversion and mortality of cage-reared tambaqui, *Colossoma macropomum*, fed various dietary feeding regimes and protein. **Aquaculture**, v. 66, p. 223-233, 1987.

MILLIKIN, M. R. Qualitative and quantitative nutrient requirements of fishes: A review. **Fishery Bulletin**, v. 80, n. 4, p. 655-686, 1982.

MURTHY, H. S.; VARGHESE, T. J. Total sulphur amino acid requirement of the indian major carp *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v. 4, p. 61-65, 1998.

NRC. **Nutrients Requirements of Fish**. Washington: National Research Council, 1993. 114 p.

RUOHONEN, K.; VIELMA, J.; GROVE, D. J. Low-protein supplement increases protein retention and reduces the amounts of nitrogen and phosphorus wastes by rainbow trout fed on low-fat herring. **Aquaculture Nutrition**, v. 5, p. 83-91, 1999.

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of south american freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, v. 54, p. 205-240, 1986.

SCHWARZ, F. J.; KIRCHGESSNER, M.; DEURINGER, U. Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v. 161, p. 121-129, 1998.

SHIAU, S.-Y.; PAN, B. S.; CHEN, S.; YU, H.-L.; LIN, S.-L. Successful use of soybean meal with a methionine supplement to replace fish meal in diets fed to milkfish *Chanos chanos* Forskal. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 19, n. 1, p. 14-19, 1988.

SHIAU, S.-Y.; KWOK, C.-C.; HWANG, J.-Y.; CHEN, C.-M.; LEE, S.-L. Replacement of fishmeal with soybean meal in male tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*) fingerling diets at a suboptimal protein level. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 20, n. 4, p. 230-235, 1989.

SILVA, A. J. da. **Aspectos da alimentação do pacu adulto, *Colossoma mitrei* (BERG, 1985) (PISCES, CHARACIDAE), no pantanal de Mato Grosso**. 1985. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1985.

SILVA, L. A. da. **Estudos preliminares sobre a essencialidade dos aminoácidos metionina e treonina na nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (BERG, 1985)**. 1986. 34 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1986.

SILVA, S. S. de. & ANDERSON, T. A. **Fish Nutrition in Aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319 p.

SILVA, S. S. de.; GUNASAKERA, R.; M.ATAPATTU, D. The dietary protein requirements of young tilapia and an evaluation of the least cost dietary protein levels. **Aquaculture**, v. 80, p. 271-284, 1989.

SIMMONS, L. MOCCIA, D. Dietary methionine requirement of juvenile Artic charr (*Salvelinus alpinus*). **Bulletin Aquaculture Association Canada**, v. 97, n. 2, p. 36-38, 1997.

SIMMONS, L.; MOCCIA, R. D.; BUREAU, D. P. Dietary methionine requiremet of juvenile Artic charr *Salvelinus alpinus* (L.). **Aquaculture Nutrition**, v. 5, p. 93-100, 1999.

STECH, M. R. **Utilização de soja integral processada em dietas para o crescimento de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. 1999. 90 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

TACON, A. G. J. **Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados**: Manual de capacitación. Brasilia: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1989. 572 p.

TACON, A. G. J.; JACKSON, A. J. Utilisation of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In: COWEY, C. B.; MACKIE, A. M.; BELL, J. G. (Ed.). **Nutrition and Feeding in Fish** Londres: Academic Press, 1988. p. 119-145.

TOLEDO, M. P. **Efeito do tratamento térmico da soja integral utilizada em dietas para o crescimento de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1817).** 1995. 69 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1995.

VAN DER MEER, M. B. **Feeds and feeding strategies for *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818): fish growth as related to dietary protein.** 1997. 137 f. Thesis (Ph. D.) - Wageningen Institute of Animal Sciences, Wageningen Agricultural University, Wageningen, 1997.

VAN DER MEER, M. B. & VERDEGEM, M. C. J. Comparasion of amino acid profiles of feeds and fish as a quick method for selection of feed ingredients: a case study for *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 27, p. 487-495, 1996.

VAN DER MEER, M. B.; HUISMAN, E. A.; VERDEGEM, M. C. J. Feed consumption, growth and protein utilization of *Colossoma macropomum* (Cuvier) at different dietary fish meal/soya meal ratios. **Aquaculture Research**, v. 27, p. 531-538, 1996.

VÁSQUEZ-TORRES, W.; PEREIRA-FILHO, M.; ARIAS-CASTELLANOS, J. A.; PARDO-CARRASCO, S. C. Determinación de requerimientos nutricionales para cachama blanca *Piaractus brachypomus*: 3. Niveles de proteína en dietas para juveniles. In: CONGRESO SUR AMERICANO DE ACUICULTURA, 2., CONGRESO WAS/LAC, 3., ACUICULTURA VENEZUELA'99, 1999, Puerto La Cruz, **Anais...** Puerto La Cruz: [s.n.], 1999. não paginado.

VIDAL-JÚNIOR, M. V.; LOPES-DONZELE, J.; CAMARGO, A. C.; ANDRADE, D. R.; SANTOS, L. C. dos. Níveis de proteína bruta para Tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas: 1. Desempenho dos tambaquis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 3, p. 421-426, 1998.

WATANABE, T.; KIRON, V. Prospects in larval fish dietetics. **Aquaculture**, v. 124, p. 223-251, 1994.

WEBSTER, C. D.; TIU, L. G.; MORGAN, A. M.; GANNAM, A. L. 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**, v. 31, n. 2, p. 195-205, 2000.

WILSON, R. P. Amino acid and protein requirements of fish. In: COWEY, C. B.; MACKIE, A. M.; BELL, J. G. (Ed.). **Nutrition and Feeding in Fish**. London: Academic Press, 1988. p. 1-16.

WILSON, R. P. Amino acid and proteins. In: HALVER, J. E. (Ed.). **Fish Nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. p. 112-150.

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

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

CAPÍTULO II^{1/}

SUPLEMENTAÇÃO DE LISINA E METIONINA EM DIETAS PRÁTICAS COM BAIXO NÍVEL PROTÉICO PARA O CRESCIMENTO INICIAL DE ALEVINOS DO PACU, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887)

^{1/} Apresentado conforme as normas para publicação do *Journal of Applied Aquaculture* (Anexo 1)

SUPLEMENTAÇÃO DE LISINA E METIONINA EM DIETAS PRÁTICAS COM
BAIXO NÍVEL PROTÉICO PARA O CRESCIMENTO INICIAL DE ALEVINOS DO
PACU, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887)

Adriana Patricia Muñoz-Ramírez^{1/}

Dalton José Carneiro^{1/}

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da suplementação de metionina ou lisina em dietas práticas com baixo teor protéico usadas para o crescimento inicial do pacu. Em estudo preliminar sobre escore químico da farinha de peixe, milho e dos farelos de soja e trigo, os aminoácidos lisina ou metionina foram determinados como primeiro aminoácido limitante. A partir das análises de composição centesimal e de aminoácidos desses quatro ingredientes foram formuladas oito dietas teste. A dieta basal foi formulada para ter 22% PB, 4100 Kcal/kg EB, 0,42% de metionina e 1,16% de lisina. Outras seis dietas, com esta mesma formulação básica, foram suplementadas com os níveis de 0,2, 0,4 ou 0,6% de metionina ou lisina. Uma oitava dieta contendo 26% de PB, 4100 Kcal/kg EB, 0,48% de metionina e 1,43% de lisina, foi usada como controle, por apresentar níveis mais elevados

^{1/} Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - Centro de Aquicultura da UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane S/N. CEP: 14884-900 Jaboticabal - SP - Brasil

de aminoácidos ligados à proteína. Foi utilizado um Delineamento Inteiramente Casualizado, com oito tratamentos e três repetições. As dietas foram administradas à vontade, três vezes/dia, durante 93 dias, à 144 alevinos de pacu, com peso médio inicial de $14,98 \pm 1,16$ g. Analisadas por um estudo de contrastes ortogonais, as médias de ganho em peso, de eficiência de retenção de energia bruta e dos consumos alimentares para o tratamento controle mostraram-se significativamente maiores ($P < 0,05$) que as observadas nas dietas de menor teor protéico. As médias de eficiência de retenção de proteína só foram maiores ($P < 0,01$) para os peixes que receberam as dietas suplementadas com lisina. Os resultados de conversão alimentar, taxas de crescimento específico e de eficiência protéica, índice de consumo e proporção de proteína bruta e de extrato etéreo no ganho em peso, não mostraram diferenças significativas para os tratamentos. Também não foram detectadas diferenças significativas nos índices hepato-somático, gorduro-viscero-somático, digestório-somático, nem nas concentrações de triglicerídeos, proteína total plasmática e glicose. Os resultados da eficiência de aproveitamento da fração protéica das dietas, mostraram as vantagens da suplementação com lisina, quando usada na ração com menor teor de proteína bruta. Também foi confirmado um maior desenvolvimento dos alevinos desta espécie com o teor de 26% de proteína bruta na dieta.

Palavras-chave: proteína, metionina, lisina, escore químico, dieta, *Piaractus mesopotamicus*

LYSINE AND METHIONINE SUPPLEMENTATION IN PRACTICAL DIETS WITH
LOW PROTEIN LEVEL FOR THE INITIAL GROWTH OF PACU FINGERLINGS

Piaractus mesopotamicus (HOLMBERG, 1887)

Adriana Patricia Muñoz-Ramírez^{1/}

Dalton José Carneiro^{1/}

ABSTRACT

The objective of this research was to study the effects of methionine and lysine supplementation in practical diets with low protein level, used for the initial growth of pacu. In a preliminary study on chemical score of fish meal, soybean meal, corn and wheat brans, the amino acids lysine or methionine were founded as first limiting amino acid. Based on the analyses of proximate composition and amino acids profiles of those four ingredients eight diets test were formulated . A basal diet was formulated having 22% CP, 4100 Kcal/kg GE, 0.42% of methionine and 1.16% of lysine. Other six diets, with this same basic formulation, were supplemented with 0.2, 0.4 or 0.6% methionine or lysine. An eighth diet containing 26% of CP, 4100 Kcal/kg GE, 0.48% of methionine and 1.43% of lysine, was used as control for presenting higher levels of amino acids bound to the protein. A Completely Randomized Design was used, with eight treatments and three replications.

^{1/} Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - Centro de Aquicultura da UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane S/N. CEP: 14884-900 Jaboticabal - SP - Brasil

The diets were administered *ad libitum*, three times/day, during 93 days, to 144 pacu fingerlings, with initial medium weight of 14.98 ± 1.16 g. All treatments were analyzed by a polynomial orthogonal contrasts study. The averages of weight gain, efficiency of retention of gross energy and feed intake for the control treatment, were significantly higher ($P < 0.05$) than those observed in the smaller protein level diets. For the efficiency of protein retention, higher averages were evidenced ($P < 0.01$) only for fish fed with the diets lysine supplemented. The feed conversion, specific growth and protein efficiency rates, consumption index and proportions of crude protein and lipids in the weight gain, did not show significant differences for the treatments. Significant differences were not detected for hepato somatic, visceral lipid somatic, digestory somatic indexes, triglycerids concentrations, total plasma protein and blood glucose. The results of the efficiency of protein retention, showed the advantages of the lysine supplementation, when used in diets with lower crude protein level. A larger growth of fingerlings of this species was also confirmed with diets containing 26% of crude protein.

Key Words: protein, methionine, lysine, chemical score, diet, *Piaractus mesopotamicus*

INTRODUÇÃO

O cultivo de organismos aquáticos em condições controladas pelo homem é uma atividade produtiva em crescimento, com uma grande projeção à nível mundial, e uma das atividades de produção de alimento mais importantes para o futuro imediato (FAO 1997). Segundo Saint-Paul (1986), a América do Sul possui a ictiofauna mais rica de todos os continentes, e com isso, a aquicultura continental poderá ser melhor desenvolvida se forem usadas as espécies nativas existentes. O pacu, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887), é encontrado da bacia do rio Orinoco na Venezuela até à bacia do rio da Prata no Uruguai (Barbosa 1986; Silva 1985; Saint-Paul 1986). Este peixe é uma das espécies mais promissoras para a piscicultura brasileira, em função do seu hábito alimentar onívoro, crescimento rápido, rusticidade, fecundidade elevada, fácil adaptação à alimentação artificial, grande aceitação no mercado, podendo ser explorado em criações comerciais para a pesca esportiva (Castagnolli e Zuim 1985).

O cultivo do pacu, assim como a maior parte dos organismos aquáticos, depende principalmente de alimentos artificiais e, segundo Tacon (1989), a alimentação geralmente constitui a fração mais significativa dentre os custos operacionais nas empresas dedicadas ao cultivo dos peixes, em nível semi-intensivo ou intensivo. Com isso, estudos sobre as exigências nutricionais das espécies aquáticas têm se tornado indispensáveis para o desenvolvimento da aquicultura, visando diminuir o custo dos alimentos e otimizar sua utilização. Um estudo anterior avaliou aspectos da biologia e alimentação do pacu em

ambiente natural (Silva 1985), enquanto outras pesquisas, visaram avaliar as exigências nutricionais desta espécie (Carneiro et al. 1984; Borghetti et al. 1991; Carneiro et al. 1992; Stech 1999; Fernandes et al. 2000), porém, são poucos os trabalhos realizados à respeito das necessidades de aminoácidos (Silva 1986; Kubitza 1990).

A proteína tem sido o nutriente mais estudado em dietas para produção de peixes. Para o conhecimento da qualidade protéica dos alimentos utilizados para formulação das dietas para peixes, o perfil de aminoácidos tem grande importância, embora não seja conclusivo para caracterizar a proteína. Segundo Van der Meer et al. (1996), o escore químico (EQ) seria um dos índices que poderia estabelecer de forma mais eficaz, a relação entre a composição da proteína e sua qualidade nutricional, quando comparada com o perfil de aminoácidos de uma proteína de referência (por exemplo, a do músculo da espécie estudada), permitindo estabelecer os aminoácidos limitantes para o crescimento da espécie.

Wilson (1989) considera que os peixes não têm exigências exatas de proteína, mas sim de uma mistura bem balanceada de aminoácidos essenciais e não essenciais. Nesse mesmo sentido, Wilson (1994) relatou que a lisina parece ser o primeiro aminoácido limitante nos alimentos comumente usados na formulação de alimentos para peixes.

Segundo D'Mello (1994), um desbalanceamento de aminoácidos pode acontecer em dietas baseadas em ingredientes convencionais e pode ser corrigido suplementando-as com o primeiro aminoácido limitante. Este trabalho aponta ainda que em pesquisas que objetivam tornar um aminoácido limitante pode-se usar uma proteína deficiente, como gelatina, ou fornecer rações de baixo nível em proteína. Baseados na "Lei dos mínimos" de Leibig, Cole e Van Lunen (1994) relatam que a baixa oferta de um único aminoácido

essencial, inibirá as respostas de aqueles que estejam em níveis de disponibilidade adequados .

Como para outras espécies de animais, Hsu et al. (1998) relataram diversos trabalhos desenvolvidos com peixes, determinando a eficiência de dietas práticas, com níveis baixos de proteína, suplementadas com lisina e/ou metionina, para o estudo de exigências nutricionais. Dessa forma, o fornecimento de dietas com níveis significativamente baixos de proteína bruta e a valorização da energia não protéica das dietas poderiam contribuir grandemente nas pesquisas, desde que fosse assegurado o atendimento das exigências, principalmente de aminoácidos.

Considerando o hábito alimentar herbívoro/frugívoro do pacu no ambiente natural (Silva 1985), e a composição relativamente pobre em nutrientes desses alimentos, o fornecimento de rações com teores de proteína menores que os usados na atualidade, com/ou sem suplementação de aminoácidos limitantes, deve ser investigado, visando a obter o ponto de máximo crescimento com benefícios ambientais e econômicos. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da suplementação de metionina ou lisina em dietas práticas com baixo teor protéico usadas para o crescimento inicial do pacu.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização dos alimentos usados

Análises bromatológicas: Amostras dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais e das carcaças dos peixes no início e no final do experimento, foram analisadas quanto à sua composição bromatológica, conforme a metodologia descrita pela A.O.A.C. (1984). As

análises de energia bruta (determinadas através da queima das amostras em bomba calorimétrica), matéria mineral e fibra bruta foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos (LANA), do Departamento de Zootecnia da FCAVJ da UNESP, Campus de Jaboticabal-S.P. Demais análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do CAUNESP, Campus de Jaboticabal-S.P.

Análises de aminoácidos: A composição em aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) dos ingredientes é apresentada na Tabela 1. As análises foram determinadas por cromatografia líquida, em colunas de resina de troca catiônica e derivação pós-coluna com ninidrina, em auto-analisador. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Química de Proteínas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Para quantificação, as amostras foram hidrolisadas com HCL 6 N, por 22 horas a 110°C, de acordo com o método descrito por Moore e Stein (1963). Para a determinação do triptofano, as amostras foram hidrolisadas com hidróxido de lítio 4N conforme método descrito por Lucas e Sotelo (1980).

Tabela 1. Composição bromatológica e de aminoácidos dos ingredientes usados

Composição	Farelo de soja	Farinha de peixe	Milho	Farelo de trigo
Proteína bruta (%)	45,99	60,16	9,13	16,34
Energia bruta (Kcal/kg)	4392,55	4415,36	4144,01	4257,76
Extrato etéreo (%)	0,89	5,84	4,32	4,88
Fibra bruta (%)	5,57	0,01	2,17	8,12
Matéria mineral (%)	5,17	20,12	1,35	4,78
Matéria seca (%)	93,68	95,42	94,22	93,55
<i>Aminoácidos essenciais</i>				
Arginina	7,09 ^{1/} (3,14) ^{2/}	6,26 (3,46)	4,91 (0,42)	7,29 (1,16)
Histidina	2,95 (1,31)	2,50 (1,38)	3,04 (0,26)	3,01 (0,48)
Isoleucina	5,62 (2,49)	5,48 (3,03)	3,94 (0,33)	3,20 (0,51)
Leucina	9,04 (4,01)	9,00 (4,97)	13,49 (1,14)	7,07 (1,12)
Lisina	5,96 (2,65)	6,97 (3,85)	3,14 (0,27)	4,77 (0,76)
Metionina	1,39 (0,61)	3,34 (1,84)	1,77 (0,15)	1,74 (0,28)
Fenilalanina	5,85 (2,60)	4,83 (2,67)	5,34 (0,45)	4,11 (0,65)
Treonina	4,26 (1,89)	5,04 (2,78)	3,61 (0,31)	4,45 (0,71)
Triptofano	0,60 (0,27)	0,78 (0,43)	0,63 (0,05)	0,49 (0,08)
Valina	5,08 (2,25)	5,88 (3,25)	4,54 (0,39)	4,43 (0,70)
<i>Aminoácidos não essenciais</i>				
Cistina	1,34 (0,60)	1,02 (0,56)	1,34 (0,11)	1,35 (0,21)
Tirosina	3,48 (1,54)	4,28 (2,36)	3,77 (0,32)	2,85 (0,45)
Ac. Aspártico	11,97 (5,31)	9,78 (5,40)	7,81 (0,66)	9,99 (1,59)
Serina	5,11 (2,27)	4,40 (2,43)	4,99 (0,42)	5,66 (0,90)
Ac. Glutâmico	16,46 (7,30)	12,39 (6,84)	18,11 (1,54)	20,90 (3,32)
Glicina	4,61 (2,05)	6,84 (3,78)	3,61 (0,31)	6,92 (1,10)
Alanina	4,59 (2,04)	6,78 (3,74)	7,72 (0,66)	6,08 (0,97)
Prolina	4,61 (2,05)	4,43 (2,45)	8,22 (0,70)	5,69 (0,90)

^{1/} g de aminoácido/100 g da proteína bruta^{2/} g de aminoácido/100 g do alimento

Escore químico: Baseando-se na análise de aminoácidos do filé de pacu (Machado 1989), da farinha de peixe, do milho e dos farelos de soja e trigo, foi determinado o aminoácido mais limitante para o crescimento da espécie. O aminoácido essencial que apresentou, para cada ingrediente, a menor relação $AAE_{\text{alimento}}/AAE_{\text{filé do peixe}}$, foi considerado como o primeiro aminoácido limitante. A partir desta relação, foi calculado o escore químico (EQ), segundo a fórmula descrita por Hepher (1988):

$$EQ = \frac{AAE_{\text{alimento}}}{AAE_{\text{filé do peixe}}} \cdot 100$$

Onde:

AAE_{alimento} = % aminoácido essencial no ingrediente

$AAE_{\text{filé do peixe}}$ = % aminoácido essencial no filé de pacu

Ensaio de desempenho

Material biológico e manejo: O ensaio de desempenho foi realizado no período de maio à agosto de 2000, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), localizado em Jaboticabal, S.P., Brasil. Foram utilizados 144 alevinos de pacu, com peso médio inicial de $14,98 \pm 1,16$ g, distribuídos segundo um Delineamento Inteiramente Casualizado, contituido por oito tratamentos, com três repetições e seis peixes por repetição. Os peixes passaram por um período de adaptação de 30 dias nos aquários experimentais, enquanto foram submetidos à uma dieta básica peletizada, contendo 26% de proteína. Após este período, foi realizada a primeira biometria e iniciada a alimentação com as dietas experimentais, com duração de 93 dias.

Os peixes foram mantidos em 24 aquários de cimento amianto de 100 litros, dotados de abastecimento de água e ar contínuo e individual. A água utilizada em todo o experimento foi proveniente de poço artesiano. A temperatura de todos os aquários foi aferida diariamente às 8:00 h, com termômetro de bulbo de mercúrio (graduado de 0 – 50°C - Inconterm). Semanalmente, foram controlados os valores de pH da água, com peagâmetro de bolso (Corning), e as concentrações de oxigênio dissolvido, usando um oxímetro digital. Para minimizar a deterioração da qualidade da água, os resíduos do fundo dos aquários foram retirados à cada dois dias, 30 minutos após o último arraçoamento. A pesagem dos peixes foi realizada a cada 31 dias de experimentação, quando era verificada também a quantidade de ração consumida em cada período.

Dietas experimentais e manejo alimentar: A partir da análise de composição bromatológica e de aminoácidos dos quatro principais ingredientes utilizados em rações comerciais para peixes (farinha de peixe, milho e os farelos de soja e trigo), foram formuladas oito dietas experimentais. Na Tabela 2 são apresentados os ingredientes, suas porcentagens de inclusão e a composição bromatológica das dietas. Uma dieta basal (M_0L_0) foi formulada para ter 22% PB e 4100 Kcal/kg EB, e apresentou os teores de 0,42% de metionina e 1,16% de lisina. Outras seis dietas, com esta mesma formulação básica, foram suplementadas com os níveis de 0,2, 0,4 ou 0,6% de metionina ($M_{0,2}$, $M_{0,4}$ e $M_{0,6}$) ou lisina ($L_{0,2}$, $L_{0,4}$ e $L_{0,6}$). Uma oitava dieta contendo 26% de PB, 4100 Kcal/kg EB, 0,48% de metionina e 1,43% de lisina, foi usada como controle ($M_R L_R$) por apresentar níveis mais elevados de aminoácidos ligados à proteína.

Tabela 2. Fórmula e composição bromatológica das dietas experimentais.

Ingrediente (%)	Dieta Basal	Dietas suplementadas						Dieta Controle
	M ₀ L ₀	M _{0,2}	M _{0,4}	M _{0,6}	L _{0,2}	L _{0,4}	L _{0,6}	M _R L _R
Farelo de soja	19,40	19,40	19,40	19,40	19,40	19,40	19,40	28,9
Farinha de peixe	9,15	9,15	9,15	9,15	9,15	9,15	9,15	10,9
Milho	36,75	36,75	36,75	36,75	36,75	36,75	36,75	30,5
Farelo de trigo	26,20	26,20	26,20	26,20	26,20	26,20	26,20	21,2
Óleo de soja	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
CMC ^{1/}	3,70	3,50	3,29	3,09	3,44	3,19	2,93	4,00
Suplemento vitamínico ^{2/}	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento mineral ^{3/}	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,30
Vitamina C ^{4/}	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,701
DL-Metionina ^{5/}	0,00	0,20	0,41	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00
L-Lisina ^{6/}	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,51	0,77	0,00
<i>Composição^{2/}:</i>								
Proteína bruta (%)	22,00	22,20	22,40	22,60	22,20	22,40	22,60	26,00
Energia bruta (Kcal/kg)	4118,4	4118,4	4118,4	4118,4	4118,4	4118,4	4118,4	4141,0
Extrato etéreo (%)	6,07	6,07	6,07	6,07	6,07	6,07	6,07	5,75
Fibra bruta (%)	7,52	7,33	7,15	6,96	7,29	7,05	6,81	7,81
Matéria mineral (%)	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59	5,11
<i>Aminoácidos essenciais^{2/}:</i>								
Lisina (%)	1,16	1,16	1,16	1,16	1,36	1,56	1,76	1,43
Lisina (%PB)	(5,27)	(5,27)	(5,27)	(5,27)	(6,17)	(7,08)	(7,99)	(5,46)
Metionina (%)	0,42	0,62	0,82	1,02	0,42	0,42	0,42	0,48
Metionina (%PB)	(1,88)	(2,79)	(3,70)	(4,60)	(1,88)	(1,88)	(1,88)	(1,85)
Arginina (%)	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38	1,66
Histidina(%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,71
Isoleucina (%)	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,26
Leucina (%)	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	2,29
Tirosina (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,90
Treonina (%)	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	1,09
Triptofano (%)	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,16
Valina (%)	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16	1,27
Metionina+cistina (%)	0,70	0,90	1,10	1,30	0,70	0,70	0,70	0,82
Tiros.+ fenilalanina (%)	1,84	1,84	1,84	1,84	1,84	1,84	1,84	2,22

^{1/} Carboximetil celulose sódica U.S.P. Synth®.

^{2/} Mistura vitamínica: ingrediente/kg suplemento. Vitaminas: A = 12,000 UI; D3 = 2,000 UI; E = 20 UI; K3 = 5 mg; B12 = 25 mg; B1 (tiamina)= 2 mg; B2 (riboflavina)= 8 mg; B6 (piridoxina)= 2 mg; biotina = 100 mg; ácido fólico = 0,5 mg; ácido pantoténico = 15 mg; niacina = 40 mg; colina = 350 mg. Nutremix - Brasil.

^{3/} Mistura mineral: ingrediente/kg de suplemento. Ferro = 40 mg; cobre = 8 mg; manganês = 70 mg; cobalto = 0,5 mg; iodo = 2 mg; selênio = 0,2; zinco = 50 mg. Nutremix - Brasil.

^{4/} Fonte de Vitamina C: contendo 35% de L-ácido ascórbico. Hoffman La Roche, Basel, Switzerland.

^{5/} Fonte de Metionina: contendo 98% de DL-metionina. Hoffman La Roche, Basel, Switzerland.

^{6/} Fonte de Lisina: contendo 78% de L-Lisina. Hoffman La Roche, Basel, Switzerland.

^{2/} Calculada a partir da composição analisada de nutrientes e energia dos ingredientes.

As dietas foram peletizadas, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração. O arraçoamento foi realizado a vontade, três vezes ao dia, às 9:00, 13:00 e 17:00 horas, evitando-se sobras, de forma que a quantidade oferecida pudesse ser considerada como consumida.

Parâmetros estudados: No final do período de adaptação, foram abatidos 12 alevinos de um aquário adicional (não pertencentes ao delineamento experimental) e, ao final do período experimental, quatro peixes de cada uma das parcelas, para obtenção das amostras usadas na determinação da composição corporal. Antes dos peixes serem sacrificados, permaneceram em jejum por dois dias para o esvaziamento gástrico. Em seguida, foram anestesiados (imersão em gelo), abatidos, congelados e moídos. O material dessas amostras foi seco à 105°C por 16 horas para ser usado nas análises de composição corporal: matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral e energia bruta.

Os parâmetros de desempenho estudados foram calculados de acordo com as fórmulas:

Ganho em peso (GP) = (peso final - peso inicial) / tempo

Consumo diário (Cs) = consumo de alimento / tempo

Conversão alimentar (CA) = consumo de alimento / ganho em peso total

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

Taxa de eficiência protéica (TEP) = ganho em peso vivo / proteína bruta consumida

Índice de consumo (IC) = consumo médio dia $\times 100 / \text{peso vivo médio do período}$

Consumo de proteína bruta (C_{PB}) = consumo alimento $\times$ teor de proteína bruta / tempo

Consumo de lisina (C_{Lis}) = consumo alimento x teor de lisina / tempo

Consumo de metionina (C_{Met}) = consumo alimento x teor de metionina / tempo

A avaliação de eficiência de utilização de nutrientes e da energia das dietas foi realizada a partir do cálculo das seguintes fórmulas:

Eficiência de retenção de proteína bruta (ER_{PB}) = $(PB_{FC} \times P_F) - (PB_{IC} \times P_I) \times 100 / C_{PB}$

Eficiência de retenção de energia bruta (ER_{EB}) = $(EB_{FC} \times P_F) - (EB_{IC} \times P_I) \times 100 / C_{EB}$

Proteína bruta no ganho em peso (PB_{GP}) = $(PB_{FC} \times P_F) - (PB_{IC} \times P_I) \times 100 / (P_F - P_I)$

Extrato etéreo no ganho em peso (EE_{GP}) = $(EE_{FC} \times P_F) - (EE_{IC} \times P_I) \times 100 / (P_F - P_I)$

Onde:

PB_{FC} , EB_{FC} , EE_{FC} : teor de proteína bruta, energia bruta ou extrato etéreo final na carcaça

PB_{IC} , EB_{IC} , EE_{IC} : teor de proteína bruta, energia bruta ou extrato etéreo inicial na carcaça

C_{PB} , C_{EB} : consumo de proteína bruta ou de energia bruta

P_I , P_F : peso vivo inicial ou peso vivo final

As análises biométricas e fisiológicas foram realizadas no Laboratório de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAVJ da UNESP, Campus de Jaboticabal-S.P. Ao final do período experimental, dois peixes de cada parcela foram coletados, anestesiados (1g de benzocaina/15 l de água) e abatidos, sendo retirados o fígado, a gordura visceral e o tracto digestório-intestinal, para quantificação do índice hepato-somático (IHS), índice gorduro-vícero-somático (IGVS) e índice digestório-somático (IDS) respetivamente, a partir do cálculo a seguinte fórmula:

$$\text{Índice} = (\text{Peso do tecido} / \text{peso corporal}) \times 100$$

Antes do abate dos peixes, foram coletadas amostras do sangue de cada peixe, por punção caudal, para determinação da glicose sangüínea (King e Garner 1947) e separação do plasma usado na determinação de proteína total plasmática (Gornall et al. 1949). O Kit Labtest foi usado para a determinação dos níveis de triglicerídeos plasmáticos.

Análises estatísticas

Os resultados observados para os parâmetros de desempenho, eficiência de utilização de nutrientes, biométricos e fisiológicos foram analisados a través de estudos de contrastes ortogonais, agrupando as médias das dietas com diferentes níveis protéicos, e as médias das dietas com ou sem suplementações dos aminoácidos (Tabela 3). Dentre cada grupo de tratamentos suplementados com metionina ou lisina, foram testados efeitos lineares ou quadráticos. Diferenças significativas entre tratamentos foram consideradas quando $P < 0,05$. Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico SAS (1995).

Tabela 3. Descrição dos contrastes ortogonais e coeficientes utilizados na análise dos tratamentos dos parâmetros de desempenho, eficiência de retenção de nutrientes, biométricos e fisiológicos de alevinos de pacu

Contrastes	Dieta Basal	Dietas Suplementadas						Dieta Controle
	M_0L_0	$M_{0.2}$	$M_{0.4}$	$M_{0.6}$	$L_{0.2}$	$L_{0.4}$	$L_{0.6}$	$M_R L_R$
Controle vs todas as demais	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	7
Basal vs suplementadas	6	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0
Supl. metionina vs Supl.lisina	0	1	1	1	-1	-1	-1	0
Efeito linear da lisina	0	0	0	0	-1	0	1	0
Efeito quadrático da lisina	0	0	0	0	1	-2	1	0
Efeito linear da metionina	0	-1	0	1	0	0	0	0
Efeito quadrático da metionina	0	1	-2	1	0	0	0	0

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Escore químico

A composição em aminoácidos do filé do pacu e os valores de "escores" químicos para os ingredientes são apresentados na Tabela 4. Por ter as menores relações de $AAE_{\text{alimento}}/AAE_{\text{filé do peixe}}$, a lisina apresentou-se como o aminoácido essencial (AAE) mais limitante para farelo de trigo, farinha de peixe e milho, enquanto que a metionina foi encontrada como primeiro limitante no farelo de soja. Quando calculados os valores de

aminoácidos sulfurados (metionina + cistina), encontrou-se que a lisina passou a ser o primeiro AAE mais limitante no farelo de soja.

Tabela 4. Composição em aminoácidos do filé do pacu e escore químico (EQ) dos ingredientes utilizados para elaboração da ração

Composição de aminoácidos de filé do pacu ^{1/} (g AA/100 g de PB)		Escore Químico			
		F. trigo	F. soja	F. peixe	Milho
<i>Aminoácidos essenciais:</i>					
Arginina	6,65	109,58	106,55	94,19	73,87
Histidina	2,24	134,29	131,83	111,70	135,66
Isoleucina	4,52	70,82	124,26	121,32	87,23
Leucina	8,75	80,76	103,33	102,83	154,16
Lisina	10,05	47,51^{2/}	59,31^{3/}	69,32^{2/}	31,26^{2/}
Metionina	2,79	62,44	49,65^{2/}	119,65	63,53
Fenilalanina	4,29	95,90	136,36	112,70	124,54
Treonina	3,82	116,45	111,40	131,87	94,40
Triptofano	nd	nd	Nd	nd	nd
Valina	3,88	114,29	130,82	151,59	117,13
Met + cis	3,60	85,91	75,79	120,95	86,51
Fen + tir	8,12	85,77	114,88	112,20	112,22
<i>Aminoácidos não essenciais:</i>					
1/2 Cistina	0,81	166,74	165,83	125,43	165,68
Tirosina	3,83	74,42	90,82	111,64	98,41
Ac. Aspártico	10,49	95,22	114,15	93,21	74,41
Serina	4,83	117,22	105,74	91,11	103,29
Ac. Glutâmico	19,83	105,38	83,02	62,49	91,33
Glicina	4,85	142,60	95,06	140,99	74,53
Alanina	5,08	119,78	90,36	133,53	152,02
Prolina	4,73	120,20	97,52	93,76	173,79

^{1/} Machado (1989)

^{2/} Primeiro aminoácido limitante

^{3/} Primeiro aminoácido limitante quando calculados metionina + cistina

nd: não determinado

Os resultados deste estudo confirmam os apresentados no trabalho conduzido por Van der Meer e Verdegem (1996), utilizando o mesmo cálculo do EQ, onde a lisina também foi o AAE mais limitante em alguns dos principais ingredientes para alimentação do tambaqui, *Colossoma macropomum*. Segundo o relato de Wilson (1994), de uma forma generalizada, esse AAE parece ser o primeiro aminoácido limitante nos alimentos mais comumente usados na formulação de alimentos para peixes. Tacon e Cowey (1985) relatam que para obter o máximo crescimento, cada um dos aminoácidos indispensáveis deve estar disponível em igual ou em maiores níveis do que no corpo do peixe. Assim, quando foram comparados os níveis de lisina e metionina de todos os tratamentos (Tabela 2), com os valores dos aminoácidos no filé do pacu (Tabela 4), observou-se que os níveis de lisina nas dietas foram inferiores àqueles encontrados no filé do peixe, constatando assim a sua essencialidade e possível deficiência.

Ensaio de desempenho

As médias dos parâmetros físico-químicos da água registrados foram: $29,32 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$ de temperatura, $8,02 \pm 0,06$ de pH e $5,22 \pm 0,48$ mg/L de oxigênio dissolvido. Estes valores mantiveram-se estáveis durante o período experimental, apresentando-se dentro dos limites recomendados por Boyd (1990), para peixes de águas tropicais.

As taxas de sobrevivência foram de 100% para todos os tratamentos. Analisando-se os resultados dos parâmetros de desempenho (Tabela 5), pode-se observar que as médias de ganho em peso, consumo diário de alimento, consumo de proteína bruta e consumo de

lisina obtidas no tratamento $M_R L_R$ com 26% de PB, foram significativamente maiores ($P < 0,05$) que nos tratamentos $M_0 L_0$, $M_{0,2}$, $M_{0,4}$, $M_{0,6}$, $L_{0,2}$, $L_{0,4}$, $L_{0,6}$.

Comparando as médias dos tratamentos suplementados com lisina em relação aos suplementados com metionina, foram constatadas diferenças para consumo de lisina e consumo de metionina_t. Estes parâmetros mostraram efeitos lineares positivos com os níveis de suplementação, sendo expressados pelas equações: $Y = 18,925X + 13,213$ ($R^2 = 0,88$) para C_{Lis} e $Y = 12,75X + 5,1467$ ($R^2 = 0,94$) para C_{Met} .

Os maiores ganhos de peso dos peixes alimentados com a dieta Controle ($M_R L_R$), são explicados pelos maiores consumos observados de ração, de proteína e de lisina, de forma similar ao constatado por Burtle e Cai (1995), para alevinos de bagre do canal alimentados com uma dieta de Controle (33,1% PB) quando comparada com rações de baixo teor em proteína (27,6% PB). Contudo, os dados de consumo de alimento encontrados neste ensaio apresentaram-se diferentes dos verificados por Brener (1988), que encontrou decréscimos lineares do consumo de alimento pelo pacu, com o aumento do nível protéico da ração. Os menores valores de consumo de alimento observados nas dietas com baixos níveis de proteína ocorreram possivelmente devido a um balanceamento mais adequado de aminoácidos nestas rações (Wilson 1991), pois os valores, especificamente de metionina e lisina da dieta de maior nível protéico ($M_R L_R$), estão dentro da amplitude apresentada nas outras rações (Tabela 2).

Para os resultados de conversão alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência protéica e índice de consumo não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$). Destaca-se ainda que, nas condições experimentais, o índice de consumo médio dos peixes foi de 3,18 % peso vivo/dia $\pm$ 0,33.

Tabela 5. Valores de F no desdobramento por contrastes ortogonais e médias para os parâmetros de desempenho de produção dos alevinos de pacu

Estatísticas	Valores de F								
	Ganho em peso	Consumo diário	Convers. alimentar	Taxa cres. esp.	Taxa efi. protéica	Índice de consumo	Consumo prot. bruta	Consumo lisina	Consumo metionina
Contrastes:									
Controle vs todos os demais	4,59*	4,19*	1,67	3,09	0,62	1,66	11,97**	7,93**	0,16
Basal vs suplementados	0,46	0,20	0,89	0,53	1,91	0,84	0,11	0,73	3,26
Supl. metionina vs Supl. Lisina	0,87	0,34	3,57	1,18	3,27	3,62	0,37	15,88**	26,64**
Efeito linear lisina	0,21	0,35	0,07	0,17	0,12	0,06	0,52	7,69**	0,13
Efeito quadrático lisina	0,27	0,61	0,09	0,19	0,08	0,11	0,61	1,04	0,21
Efeito linear metionina	0,02	0,00	0,03	0,01	0,38	0,03	0,00	0,00	10,55**
Efeito quadrático metionina	0,74	0,53	0,10	0,40	0,47	0,10	0,53	0,45	0,68
Coefficiente de variação (%)	26,07	20,05	10,55	13,57	9,45	10,62	19,66	18,57	25,12
Médias para:									
	<i>g/dia</i>	<i>g/dia</i>		<i>%/dia</i>		<i>%pv/dia</i>	<i>mg/dia</i>	<i>mg/dia</i>	<i>mg/dia</i>
Dieta Basal (M ₀ L ₀)	0,90	1,37	1,40	2,02	2,73	3,05	301,72	15,86	5,74
Suplementada c/ 0,2% metionina	0,82	1,30	1,54	1,89	2,52	3,34	289,78	15,10	8,07
Suplementada c/ 0,4% metionina	0,67	1,16	1,58	1,76	2,34	3,44	260,43	13,45	9,50
Suplementada c/ 0,6% metionina	0,79	1,29	1,56	1,86	2,40	3,39	292,58	14,98	13,17
Suplementada c/ 0,2% lisina	0,84	1,31	1,42	1,95	2,64	3,08	291,51	17,80	5,50
Suplementada c/ 0,4% lisina	0,80	1,23	1,40	1,91	2,66	3,04	276,13	19,18	5,16
Suplementada c/ 0,6% lisina	0,92	1,44	1,45	2,04	2,57	3,15	326,67	25,37	6,05
Dieta de Controle (M _R L _R)	1,17	1,70	1,33	2,27	2,41	2,89	444,52	24,35	8,18

* P<0,05 ** P<0,01

As taxas de crescimento encontradas foram similares às verificadas por Fernandes et al. (2000), e maiores que aquelas observadas por Brener (1988). Como neste experimento, estes autores também notaram que alevinos de pacu alimentados com rações com baixo teor em proteína apresentaram menores médias de ganho de peso, do que com rações contendo altos níveis de proteína bruta, embora não houvesse diferenças no resultado de taxa de eficiência protéica (Fernandes et al. 2000). Carneiro et al. (1992) estudaram o efeito da densidade de estocagem e do nível de PB na dieta no desempenho de juvenis de pacu, observando que os melhores ganhos em peso e as maiores taxas de eficiência protéica foram obtidas com rações de 22% PB do que com 28 ou 34% PB, em densidades de 0,5 peixes/m². Nessa mesma linha de pesquisa, Macedo-Viegas et al. (1996) trabalharam com alevinos de tambaqui, espécie de hábito alimentar similar ao pacu, e determinaram que rações com 22% de proteína foram suficientes para o desenvolvimento inicial dos peixes.

O estudo de contrastes ortogonais, apresentado na Tabela 6, mostra que, para a eficiência de retenção de proteína, não foram evidenciadas diferenças entre níveis protéicos, contudo, maiores valores médios deste parâmetro ($P < 0,01$) foram proporcionados pelas dietas suplementadas com lisina, se comparados às rações enriquecidas com metionina. Conforme é relatado por Wilson (1989) e por Buttery e D'Mello (1994), esses resultados para eficiência de retenção de proteína confirmaram que a lisina, por ser o primeiro aminoácido limitante para pacu, quando suplementada em rações com baixos níveis protéicos, provocou uma utilização mais eficiente da proteína, do que a metionina.

Tabela 6. Valores de F no desdobramento por contrastes ortogonais e médias para os parâmetros de eficiência nutricional dos alevinos de pacu

Estatísticas	Valores de F			
	Eficiência retenção prote. bruta	Eficiência retenção ener. bruta	Proteína. bruta no ganho em peso	Extrato etéreo no ganho em peso
<i>Contrastes:</i>				
Controle vs todos os demais	0,21	4,29*	0,33	0,42
Basal vs suplementados	0,53	1,01	1,60	0,96
Supl. Metionina vs Supl. Lisina	7,65**	3,17	0,00	0,01
Efeito linear lisina	0,23	0,00	0,04	0,01
Efeito quadrático lisina	0,17	0,36	0,09	0,14
Efeito linear metionina	0,25	0,32	0,01	0,03
Efeito quadrático metionina	0,00	0,00	0,68	2,10
<i>Coefficiente de variação (%)</i>	8,80	11,50	6,80	9,30
<i>Médias para:</i>				
	%	%	%	%
Dieta Basal (M ₀ L ₀)	49,92	34,75	19,17	14,06
Suplementada c/ 0,2% Metionina	46,12	31,59	19,94	12,98
Suplementada c/ 0,4% Metionina	45,16	30,88	20,80	14,18
Suplementada c/ 0,6% Metionina	44,37	29,81	20,07	12,82
Suplementada c/ 0,2% Lisina	51,17	33,45	20,25	13,21
Suplementada c/ 0,4% Lisina	51,60	35,04	20,42	13,49
Suplementada c/ 0,6% Lisina	49,52	33,39	20,02	13,09
Dieta de Controle (M _R L _R)	49,72	38,56	20,68	14,01

* P<0,05 ** P<0,01

Pelos resultados obtidos, pode-se afirmar que as dietas com baixos níveis de proteína, suplementadas com lisina conseguiram melhor balanceamento de aminoácidos, traduzidos em maiores médias de eficiência de retenção de proteína, fato corroborado pela afirmação de D'Mello (1994), de que o desbalanceamento de aminoácidos reduz a eficiência de utilização de proteína.

Na Tabela 6, observa-se também que a dieta M_RL_R apresentou média de eficiência de retenção de energia bruta maior que os demais tratamentos (P<0,05) e não foram

encontradas diferenças entre as proporções de proteína bruta e de extrato etéreo no ganho em peso entre esses grupos. Segundo Wilson (1989), quando uma dieta com muita proteína é fornecida, apenas uma parte será usada para construção de novas proteínas e a restante será convertida em energia.

No estudo de índices corporais e fisiológicos dos alevinos de pacu (Tabela 7), observa-se que não foram detectadas diferenças para os níveis protéicos ou para as suplementações com lisina e metionina ($P>0,05$). Os níveis de proteína total plasmática observados neste experimento foram superiores aos descritos por Dias (1998) e Souza (1998) e os valores da glicose e dos triglicerídeos plasmáticos foram similares aos reportados para pacu por Souza (1998) e Stech (1999), respectivamente. Os níveis de glicose observados neste experimento estão dentro os limites normais determinados para o pacu, sendo o efeito quadrático apresentado com suplementação de metionina ($P<0,01$) ocasionado por variações fisiológicas normais nos peixes ou por fatores ainda não estudados. Este efeito foi expresso pela equação $Y=267,12X^2 - 223,33X + 90,18$ ($R^2=1$).

As observações realizadas para os parâmetros biométricos e fisiológicos sugerem que o decréscimo dos níveis de proteína na dieta, com ou sem suplementação de metionina e lisina, não geraram alterações metabólicas, nem mobilização de nutrientes que prejudicassem o estado nutricional dos alevinos de pacu. Estes resultados também sugerem que as diferenças de consumo de alimento, proteína e aminoácidos observados (Tabela 5) não promoveram mobilização significativa de nutrientes como foi verificado por Souza (2000) e Hung et al. (1997) para peixes submetidos à diferentes tempos de jejum.

Tabela 7. Valores de F no desdobramento por contrastes ortogonais e médias para os índices corporais e fisiológicos dos alevinos de pacu

Estatísticas	Valores de F					
	Índice hepatosomático	Índice gorduro viscero somático	Índice digestório somático	Triglicerídeos	Glicose sanguínea	Proteína total plasmática
<i>Contrastes:</i>						
Controle vs todos os demais	0,02	0,63	0,07	0,75	0,63	0,20
Basal vs suplementados	0,01	1,40	0,01	0,07	0,62	4,56
Supl. Metionina vs Supl. lisina	1,11	0,03	0,11	0,00	0,23	0,89
Efeito linear lisina	0,53	0,38	0,12	0,06	0,09	3,83
Efeito quadrático lisina	0,00	0,19	1,45	2,89	0,44	3,12
Efeito linear metionina	1,87	0,00	0,64	0,03	0,87	1,51
Efeito quadrático metionina	0,50	1,39	0,03	0,12	8,91**	0,86
<i>Coefficiente de variação (%)</i>	17,87	24,71	10,46	39,91	9,99	9,27
<i>Médias para:</i>						
	%	%	%	mg/dl	mg/100 ml	mg/ml
Dieta Basal (M ₀ L ₀)	1,27	2,81	2,33	217,72	48,79	8,84
Suplementada c/ 0,2% metionina	1,25	2,17	2,25	215,99	56,20	8,30
Suplementada c/ 0,4% metionina	1,27	2,68	2,31	190,39	43,59	8,37
Suplementada c/ 0,6% metionina	1,51	2,17	2,42	203,83	52,35	7,39
Suplementada c/ 0,2% lisina	1,16	2,30	2,26	181,09	50,42	6,61
Suplementada c/ 0,4% lisina	1,23	2,26	2,50	269,67	53,43	8,37
Suplementada c/ 0,6% lisina	1,30	2,61	2,33	164,57	51,68	7,94
Dieta de Controle (M _R L _R)	1,31	2,78	2,29	154,62	47,94	8,23

* P<0,05 ** P<0,01

Os estudos à respeito da necessidade de suplementação com lisina e/ou metionina em dietas práticas com diferentes níveis de proteína, são contraditórios para algumas espécies de peixes, pois o benefício (Shiau et al. 1988; Kubitza 1990; Burtle e Cai 1995; Zarate e Lovell 1997) ou não (Shiau et al. 1989; Li e Robinson 1998; Webster et al. 2000) desta suplementação depende principalmente de fatores entre os quais estão os hábitos alimentares das espécies e as condições experimentais. A determinação de valores específicos de suplementações de aminoácidos para pacu torna-se uma tarefa dispendiosa, sendo que as exigências quantitativas para essa espécie não são ainda conhecidas.

O maior ganho em peso observado no tratamento com 26% PB pode ter sido ocasionado pelo maior consumo ou por possíveis diferenças no balanço e disponibilidade dos aminoácidos ligados às proteínas, quando comparados com os aminoácidos sintéticos. Esta última hipótese precisa ser estudada, pois o conhecimento do conteúdo de aminoácidos dos alimentos e os resultados dos ensaios de crescimento não foram suficientes para explicá-la, sendo necessário conhecer a verdadeira disponibilidade destes nutrientes.

Após verificar a essencialidade da lisina para pacu e a partir dos resultados da eficiência de aproveitamento da fração protéica das dietas, foi mostrada a vantagem da suplementação com lisina, quando usada na ração com menor teor de proteína bruta. Também foi confirmado um maior desenvolvimento dos alevinos desta espécie com o teor de 26% de proteína bruta na dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 1984. (Association of Official Agriculture Chemisty). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Ailington, V.A.
- Barbosa, J.M. 1986. Síntese dos trabalhos realizados com espécies do gênero colossoma. Páginas 8 *in* Alves, L.O., eds. Pirassununga, São Paulo.
- Boyd, C.E. 1990. Water quality management for ponds fish culture. Development in aquaculture and fisheries science. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterndam.
- Brener, M. 1988. Determinação da exigência de proteína do pacu (*Colossoma mitrei* Berg 1895). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Borghetti, J. R., Lepeleire, R. E. M. e Fernandez, D. R. 1991. Os efeitos da origem da proteína no crescimento do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criado em tanques-rede. Revista Brasileira de Biologia 51:689-694.
- Burtle, G.J. e Cai, Y.J. 1995. Additional methionine supplementation required in soybean meal/corn-based diets for channel catfish. Animal & Dairy Science. Annual Report 1995:2-10.
- Buttery, P.J. e D'Mello, J.P.F. 1994. Amino Acid Metabolism in Farm Animals: An Overview. Páginas 1-10 *in* D'Mello, J.P.F., eds. Amino Acids in Farm Animal Nutrition, CAB International. Wallingford, Reino Unido.

- Carneiro, D.J., Wagner, P.M. e 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*). Páginas 52-61 in ABRAQ, eds. VII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, II Encontro Brasileiro de Patologia de Organismos Aquáticos, Peruíbe, Brasil.
- Carneiro, D. J., Castagnolli, N., Machado, C. R., Verardino, M. 1984. Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (BERG, 1895), Pisces, Characidae: I Níveis de proteína dietária. Páginas 105-119 in Anais III Simpósio Brasileiro De Aqüicultura, São Carlos, Brasil.
- Castagnolli, N. e Fontes, S.M.Z. 1985. Consolidação do conhecimento adquirido sobre o pacu *Colossoma mitrei* (BERG, 1895). FCAV/UNESP. Jaboticabal, São Paulo.
- Cole, D.J.A. e Van Lunen, T.A. 1994. Ideal Amino Acid Patterns. Páginas 99-112 in D'Mello, J.P.F., eds. Amino Acids in Farm Animal Nutrition, CAB International. Wallingford, Reino Unido.
- Dias, T.C.R. 1998. Efeito da temperatura de cultivo na fisiologia da digestão e metabolismo do pacu (*Piaractus mesopotamicus*, HOLMBERG, 1998). Tese de Doutorado. Centro de Aqüicultura, UNESP, Jaboticabal, São Paulo.
- D'Mello, J.P.F. 1994. Amino Acid Imbalances, Antagonism and Toxicities. Páginas 63-97 in D'Mello, J.P.F., eds. Amino Acids in Farm Animal Nutrition, CAB International. Wallingford, Reino Unido.
- FAO 1997. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura, 1996. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Roma, Italia.

- Fernandes, J.B.K., Carneiro, D.J. e 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.
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J. e David, M.M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. Journal of Biological Chemistry 177:751-766.
- Hepher, B. 1988. Nutrition of Pond Fishes. Cambridge University Press. Cambridge.
- Hsu, J.-C., Lin, C.-Y. e Wen-Shyg, P.C. 1998. Effects of ambient temperature and methionine supplementation of a low protein diet on the performance of laying hens. Animal Feed Science and Technology 74:289-299.
- Hung, S.S.O., Liu, W., Li, H., Storebakken, T. e Cui, Y. 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture 151:357-363.
- King, E.J. e Garner, R.J. 1947. Colorimetric determination of glucose. Journal of Clinical Pathology 1:30-33.
- 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 de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.
- Li, M.H. e 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.
- Lucas, B. e Sotelo, A. 1980. Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis of food. Analytical Biochemistry 109:193-197.

- Macedo-Viegas, E.M., Castagnolli, N. e Carneiro, D.J. 1996. Níveis de proteína bruta em dietas para o crescimento do tambaqui, *Colossoma macropomum* CUVIER, 1818 (Pisces, Characidae). Revista UNIMAR 18:321-333.
- Machado, M.G.S. 1989. Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé do pacu. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Moore, S. e Stein, W.H. 1963. Chromatographic determination of amino acids by use of automatic recording equipment. Methods in Enzymology 6:819-831.
- Saint-Paul, U. 1986. Potential for aquaculture of south american freshwater fishes: a review. Aquaculture 54:205-240.
- SAS. 1995. SAS/STAT User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Shiau, S.-Y., Pan, B.S., Chen, S., Yu, H.-L. e Lin, S.-L. 1988. Successful use of soybean meal with a methionine supplement to replace fish meal in diets fed to milkfish *Chanos chanos* Forskal. Journal of the World Aquaculture Society 19:14-19.
- Shiau, S.-Y., Kwok, C.-C., Hwang, J.-Y., Chen, C.-M. e Lee, S.-L. 1989. Replacement of fishmeal with soybean meal in male tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*) fingerling diets at a suboptimal protein level. Journal of the World Aquaculture Society 20:230-235.
- Silva, A.J. 1985. Aspectos da alimentação do pacu adulto, *Colossoma mitrei* (BERG, 1985) (PISCES, CHARACIDAE), no pantanal de Mato Grosso. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

- Silva, L. A. da. 1986. Estudos preliminares sobre a essencialidade dos aminoácidos metionina e treonina na nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (BERG, 1985). Monografia d de Graduação - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.
- Souza, V.L. 1998. Efeitos da restrição alimentar e da realimentação no crescimento e metabolismo energético de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887). Tese de Doutorado. Centro de Aqüicultura, UNESP, Jaboticabal, São Paulo.
- Souza, V.L., Oliveira, E.G., Urbinati, E.C. 2000. Effects of food restriction and refeeding on enerergy stores and growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Characidae). Journal of Aquaculture in the Tropics. 15:371-379.
- Stech, M.R. 1999. Utilização de soja integral processada em dietas para o crescimento de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.
- Tacon, A.G.J. 1989. Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados. Manual de capacitación. FAO. Brasilia, Brasil.
- Tacon, A.G.J. e Cowey, C.B. 1985. Protein and amino acid requirements. Páginas 155-183 in Tyler, P. E Calow, P., eds. Fish Energetics: new perspectives, Croom Helm Ltd. Beckenham.
- Van der Meer, M.B. e Verdegem, M.C.J. 1996. Comparasion of amino acid profiles of feeds and fish as a quick method for selection of feed ingredients: a case study for *Colossoma macropomum* (Cuvier). Aquaculture Research 27:487-495.
- Van der Meer, M.B., Huisman, E.A. e Verdegem, M.C.J. 1996. Feed consumption, growth and protein utilization of *Colossoma macropomum* (Cuvier) at different dietary fish meal/soya meal ratios. Aquaculture Research 27:531-538.

- Webster, C.D., Tiu, L.G., Morgan, A.M. e 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.
- Wilson, R.P. 1989. Amino acid and proteins. Páginas 112-150 in Halver, J.E., eds. *Fish Nutrition*, Academic Press, Inc. San Diego, California.
- Wilson, R.P. 1991. *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*. CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida, USA.
- Wilson, R.P. 1994. Amino Acid Requirements of Finfish. Páginas 377-399 in D'Mello, J.P.F., eds. *Amino Acids in Farm Animal Nutrition*, CAB International. Wallingford, Reino Unido.
- Zarate, D.D. e Lovell, R.T. 1997. Free lysine (L-lysine.HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 159:87-100.