



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Exigência em lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais
com base no conceito de proteína ideal para alevinos de
jundiá, *Rhamdia quelen***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Débora Machado Fracalossi

PAMELA MONTES GIRAÓ

Florianópolis – 2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Montes Girao, Pamela
Exigência em Lisina e Estimativa dos Aminoácidos Essenciais com Base no
Conceito de Proteína Ideal para Alevinos de Jundiá, *Rhamdia quelen*/ Pamela
Montes Girao – 2005.

30 f.: grafs., tabs.

Orientador: Débora Machado Fracalossi
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agrárias.
Bibliografia: f. 27 – 30.

1. Peixes 2. Jundiá 3. *Rhamdia quelen* 4. Alevinos 5. Exigência lisina
5. Aminoácidos 6. Proteína ideal 7.I. Título.

**Exigência em lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais
com base no conceito de proteína ideal para
alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen***

Por

PAMELA JENNY MONTES GIRAÓ

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.

Profª. Débora Machado Fracalossi, Dra.
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Dra. Débora Machado Fracalossi - *Orientadora*

Dr. Leandro Portz

Dra. Maude Regina de Borba

Dedico esta conquista aos que amo....

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo...

À minha orientadora, Profa. Débora, pela orientação, ajuda e acolhida durante todo o tempo do estágio e mestrado;

Aos meus pais e irmã, que mesmo *alguns kilometros longe*, me apoiaram em tudo e deram as forças para o meu desenvolvimento profissional aqui;

Ao Paulito, obrigada por estar compartilhando comigo todo este tempo juntos, fazendo que esta seja uma etapa muito feliz na minha vida.....e a sua família por todos os momentos tão bacanas compartilhados;

Aos amigos, estagiários, Jackson, Renatinho, Fabio (gaúcho), Denisse, Fernanda, Melina, Michelle e Luis Fernando pela valiosa ajuda na *agradável tarefa* de cortar ração e auxílio nas biometrias;

Ao seu Keka, pela valiosa amizade, os momentos inesquecíveis nas *festinhas*, e pelo auxílio na confecção das rações;

Aos meus *amigos-familia*, Bis, Gustavo, Giuliano e Dani pelos momentos compartilhados desde minha chegada aqui e moradia juntos;

À minha amiga Mau, pela amizade, conselhos valiosos e os momentos muitos bons compartilhados.

Ao meu amigo Orestes, pela valiosa amizade, boas conversas e ajuda com os *cálculos malucos*.

A Ajinomoto Interamericana, nas pessoas de Adriana Nascimento, Daniela Suzuki e Lucienne Nii pelo fornecimento dos aminoácidos.

Aos membros do LAPAD, por todo o suporte durante o mestrado, em especial à Grasi por toda a paciência e ajuda.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	vi
LISTA DE ABREVIACÕES	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	01
1. O jundiá	01
2. Exigência em aminoácidos pelos peixes.....	02
3. O conceito de proteína ideal e a determinação de exigência em lisina.....	03
Manuscrito-Exigência em lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais com base no conceito de proteína ideal para alevinos de jundiá, <i>Rhamdia quelen</i>	07
1. Introdução	08
2. Material e Métodos	09
2.1. Dietas experimentais.....	10
2.2. Análises químicas das dietas e da composição corporal dos peixes.....	12
2.3. Parâmetros indicadores de desempenho.....	13
3. Resultados	14
3.1. Desempenho e estimativa da exigência em lisina.....	14
3.2. Composição corporal e colágeno vertebral	17
3.3. Cálculo da taxa de aminoácidos essenciais e da estimativa da exigência em aminoácidos essenciais	17
4. Discussão	19
5. Conclusões	21
Agradecimentos	21
Referências Bibliográficas	22
CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
ANEXO	26
Figura 2 - Sinais clínicos de deficiência de lisina em alevinos de jundiá alimentados com as dietas contendo 3% e 4% de lisina na proteína. A) Vista superior de um peixe com escoliose, B) Vista lateral de um peixe com lordose.....	26

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS DA INTRODUÇÃO 27

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

	Página
INTRODUÇÃO	
Tabela 1 – Comparação da exigência em lisina para algumas espécies de peixes de diferentes hábitos alimentares	05
 MANUSCRITO - EXIGÊNCIA EM LISINA NA DIETA DE ALEVINOS DE JUNDIÁ, <i>Rhamdia quelen</i>, E ESTIMATIVA DA EXIGÊNCIA NOS OUTROS AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL	
Tabela 2– Composição das dietas experimentais (expressa na matéria seca).....	11
Tabela 3 – Desempenho de alevinos de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de lisina por 119 dias	15
Tabela 4 – Composição corporal de alevinos de jundiá (expressa a partir da matéria original)alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de lisina, ao final de 119 dias	17
Tabela 5 – Perfil de aminoácidos corporal, taxa de aminoácidos essenciais, estimativa da exigência dietética em aminoácidos para alevinos do jundiá e exigência em aminoácidos para a tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , bagre do canal, <i>Ictalurus punctatus</i> , e truta arco íris <i>Onchorhynchus mykiss</i>	18
Figura 1 – Estimativa da exigência dietética em lisina para alevinos de jundiá, considerando-se o ganho em peso e a taxa de retenção protéica, pelo modelo matemático de regressão segmentada e regressão polinomial	16
Figura 2 - Sinais clínicos de deficiência de lisina em alevinos de jundiá alimentados com as dietas contendo 3% e 4% de lisina na proteína. A) Vista superior de um peixe com escoliose, B) Vista lateral de um peixe com lordose.....	27

LISTA DE ABREVIACOES

A/E = taxa de aminoácidos essenciais

° C = grau centígrado

CCA = Centro de Ciências Agrárias

CD% = consumo diário em porcentagem do peso vivo

CA = conversão alimentar

ED = energia digestível

EM = energia metabolizável

EXP = equação exponencial

g = grama

GP = ganho em peso

h = hora

HCL = acido clorídrico

HPLC = cromatografia líquida

kcal = quilocaloria

L = litro

LAPAD = Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce

min = minuto

mm = milímetro

PB = proteína bruta

POLI = regressão polinomial

RS = regressão segmentada

T = temperatura

TCE = taxa de crescimento específico

TEP = taxa de eficiência protéica

TRP = taxa de retenção de proteína

UFSC = Universidade Federal de Santa Catarina

RN= retenção de nitrogênio

RESUMO

O desenvolvimento de dietas de alto valor nutricional para espécies potencialmente cultiváveis, como o jundiá, *Rhamdia quelen*, depende do avanço no conhecimento sobre suas exigências nutricionais. Visando atingir este objetivo, o presente estudo teve como finalidade determinar a concentração de lisina na dieta que corresponde à exigência deste aminoácido para alevinos de jundiá. Grupos de dezessete alevinos de jundiá ($1,4 \pm 0,1$ g) foram estocados em 21 aquários de 120 L e alimentados até a saciedade aparente, duas vezes ao dia, com dietas semi-purificadas (34% de proteína bruta e 3500 kcal de energia metabolizável estimada), variando entre elas as concentrações de lisina (3%; 4%; 4,5%; 5%; 5,5%; 6% e 6,5% na proteína bruta). Após 119 dias, o ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, taxa de retenção de proteína, consumo diário em porcentagem do peso vivo, a composição corporal (matéria seca, proteína, extrato etéreo, e cinzas) e concentração de colágeno nas vértebras foram determinadas. O ganho em peso e a taxa de crescimento específico aumentaram à medida que a concentração de lisina na proteína aumentou de 3% até 4,5% ($p < 0,05$) observando-se uma diminuição nas concentrações de 6 e 6,5% de lisina. Os peixes alimentados com a dieta basal (3% de lisina) apresentaram a pior conversão alimentar, melhorando a partir da dieta 4,5% de lisina na proteína. O consumo de ração acompanhou a mesma tendência da conversão alimentar. A maior taxa de retenção protéica foi observada nos peixes alimentados com a dieta contendo 4,5% de lisina na proteína. Os peixes alimentados com as dietas contendo 4,5%; 5% e 5,5% de lisina acumularam mais proteína corporal, sendo verificado o efeito inverso para a gordura corporal. A concentração de colágeno foi significativamente maior ($p < 0,05$) naqueles peixes alimentados com a dieta contendo 4,5% de lisina na proteína. A exigência dietética em lisina, considerando-se dados de ganho em peso e taxa de retenção protéica foi de 4,5% da proteína, quando calculada pelo método matemático da regressão segmentada, e 5,3% quando por regressão polinomial. As exigências nos demais aminoácidos essenciais foram estimadas com base no conceito de proteína ideal e foram semelhantes às exigências para outras espécies de peixes já estudadas, com exceção da exigência em leucina, que foi mais elevada para o jundiá.

ABSTRACT

The development of high nutritional diets for potential aquaculture species, like jundiá, *Rhamdia quelen*, depends on the advancement of knowledge about its nutritional requirements. Aiming at to reach this objective. The present study was designed to determine the optimal dietary lysine concentration for jundiá fingerlings. Groups of seventeen fishes ($1.4 \text{ g} \pm 0,1$) were stocked in 120 L and fed twice a day, to apparent satiation, semi purified diets (34% crude protein and 3,500 kcal of metabolizable energy), containing increasing concentrations of lysine (3%; 4%; 4.5%; 5%; 5.5%; 6%; 6.5% crude protein). After 119 days, fish weight gain, specific growth rate, feed conversion, apparent net protein utilization, feed consumption (expressed as % body weight), body composition (crude protein, fat and ash) and vertebral collagen were determined. Weight gain and specific growth rate increased as dietary lysine concentration in protein increased up to 4.5%, reducing at 6 and 6.5% lysine. Fish fed basal diet (3% lysine) presented the worse feed conversion, which improved for fish fed 4.5% or more lysine. Feed consumption followed the same trend as feed conversion. The highest apparent net protein utilization was observed in fish fed 4.5% lysine in the protein. Fish fed with diets containing 4.5%; 5% and 5.5% lysine accumulated more body protein ($p < 0.05$). The inverse effect was verified for body fat. Collagen vertebral concentration was significantly higher in fish fed the 4.5% lysine diet. The dietary requirement for lysine, when considering weight gain and apparent net protein utilization, was 4.5%, when calculated using broken line analysis and 5.3% when using the polynomial regression analysis. The requirements for others essential amino acids was estimated on the basis of the ideal protein concept, and were similar to the requirements for other fish species, except for leucine requirement, which was higher for jundiá.

INTRODUÇÃO

1. O jundiá

O jundiá, *Rhamdia quelen*, é um bagre nativo da América do Sul, ocorrendo desde Argentina até o sul do México (SILFVERGRIP, 1996). Varias características tornam o jundiá interessante para exploração em piscicultura: Tem hábito alimentar onívoro, não possui espinhos intramusculares, resistência ao manejo, boa conversão alimentar (FRACALOSSI *et al.* 2004) aceitação de ração pelas larvas desde o início da alimentação exógena e crescimento acelerado inclusive nos meses mais frios (CARNEIRO *et al.* 2002 ; FRACALOSSI *et al.* 2002). Sua criação comercial vem se desenvolvendo progressivamente na região Sul do Brasil, sendo a produção destinada para o consumo local e para pesqueiros comerciais. Atualmente existem alguns grupos de pesquisa realizando estudos com o jundiá, porém poucos abordam as exigências nutricionais desta espécie. Destacam-se alguns trabalhos desenvolvidos com larvas desta espécie (PIAIA & RADUNZ NETO, 1997; CARDOSO, 1998; ULIANA, 2001), nos quais foi demonstrada a pronta aceitação de dietas artificiais, uma característica muito positiva para piscicultura comercial. Adicionalmente, MACHADO *et al.* (2002), testaram diferentes concentrações protéicas (25, 30 e 35% de proteína bruta, PB) e energéticas (2.900, 3050 e 3.200 kcal/kg de energia digestível, ED) em dietas práticas, concluindo que as exigências protéica e energética do jundiá são possivelmente maiores que 35% PB e 3.200 kcal/kg, respectivamente, já que foi observado um maior crescimento nas concentrações mais altas testadas. Em trabalho mais recente, MEYER & FRACALOSSI (2004), concluíram que a exigência protéica de alevinos de jundiá varia com a concentração energética da dieta, sendo 34% PB, quando a energia metabolizável (EM) estimada¹ é 3500 kcal/kg e aumentando para 38% PB, quando a energia metabolizável é estimada para 3000 kcal/kg. Ainda, COLBEDELLA e RADÜNZ NETO (2002) testaram diferentes proporções de ingredientes em dieta para alevinos do jundiá, obtendo a melhor taxa de crescimento específico próxima a 5% para os animais submetidos às dietas contendo 25, 48 e 10% de levedura de cana, farelo de soja e milho, respectivamente.

O desenvolvimento de pesquisas sobre as exigências nutricionais do jundiá, visando aprimorar o aproveitamento da ração é de grande relevância para sucesso da sua criação em cativeiro.

¹ Energia metabolizável, calculada a partir dos valores fisiológicos padrões, onde 1 g de carboidrato, proteína e lipídio equivalem a 4, 4 e 9 kcal respectivamente (LEE & PUTMAN, 1973)

2. Exigência em aminoácidos pelos peixes

A maioria dos animais monogástricos, incluindo os peixes, precisa dos mesmos dez aminoácidos essenciais, os quais são obtidos pelo consumo de proteínas que, quando hidrolisadas, liberam os aminoácidos que serão absorvidos do trato intestinal e distribuídos pelo fluxo sanguíneo a todos os órgãos e tecidos (WILSON, 2002).

Os primeiros estudos sobre as exigências de aminoácidos em peixes iniciaram na década de 50 (HALVER, 1957) com salmão chinook, *Oncorhynchus tshawytscha*. Neste estudo, testaram-se dietas formuladas com base no perfil de aminoácidos do ovo de galinha, de ovas ou o saco vitelínico das larvas do próprio salmão; verificando-se as melhores taxas de crescimento e eficiência alimentar para os peixes alimentados com a dieta que continha o perfil de aminoácidos do ovo de galinha, o que resultou na determinação qualitativa da exigência em aminoácidos para o salmão chinook. Este estudo tornou-se o modelo básico para posteriores estudos na determinação das exigências em aminoácidos e proteína para diferentes espécies de peixes.

Segundo WILSON (2002), uma concentração ótima de proteína na dieta, tanto para peixes como para outros animais, é influenciada pela relação entre a concentração de proteína e energia, composição de aminoácidos essenciais e não essenciais e digestibilidade das proteínas presentes na dieta. Segundo COWEY (1994), os aminoácidos da dieta são utilizados para duas funções principais: a) Crescimento, como formadores das proteínas que, por sua vez formarão os tecidos e b) Manutenção, na substituição das proteínas do epitélio e para síntese de compostos nitrogenados essenciais para o metabolismo, tais como hormônios, neurotransmissores, enzimas, etc. Segundo KETOLA (1982), a deficiência em aminoácidos essenciais na dieta é evidenciada por uma redução no crescimento, pobre conversão alimentar e redução do apetite, podendo também aparecer sinais clínicos de deficiência. Segundo LOVELL (1998), um desequilíbrio nos aminoácidos da dieta afeta a performance do peixe, pois pode alterar as interações entre os aminoácidos, afetando a taxa de ingestão, o transporte e o catabolismo deste nutriente.

Ainda é escasso o conhecimento sobre a exigência em aminoácidos para muitas espécies de peixes. Entretanto, é bastante comum rações comerciais para peixes apresentarem um considerável desequilíbrio no balanço de aminoácidos, o que promove a utilização de um nutriente caro, a proteína, como fornecedor de energia, bem como a produção de poluentes orgânicos pelo aumento da excreção de amônia. O desenvolvimento de rações de alto valor nutricional e que propiciem vantagens econômicas na criação de peixes, depende de um maior estudo sobre as exigências em aminoácidos das espécies cultivadas.

3. O conceito de proteína ideal e a determinação de exigência em lisina

Uma das metodologias mais adotadas na determinação da exigência em aminoácidos para peixes é aquela utilizada em experimentos do tipo dose-resposta, nos quais concentrações crescentes de um determinado aminoácido são oferecidas até que o ganho em peso não responda mais à inclusão do mesmo. Este processo, entretanto, é extremamente caro e laborioso, já que terá de ser repetido para cada um dos dez aminoácidos essenciais. O conceito de proteína ideal, originalmente desenvolvido para animais monogástricos, propõe a determinação da exigência quantitativa de um aminoácido referência, normalmente o mais limitante em dietas práticas, pelo método convencional de dose-resposta, enquanto que exigências para os demais aminoácidos serão estimadas baseando-se no perfil de aminoácidos do corpo do peixe, já que este apresenta uma forte correlação com as concentrações exigidas na dieta (WILSON, 2002). ARAI (1981) introduziu o conceito da taxa de aminoácidos essenciais (A/E), definida como a relação entre o conteúdo corporal de cada aminoácido essencial e o total de aminoácidos essenciais corporais, (incluindo cistina e tirosina), com a finalidade de formular dietas para alevinos de salmão. Este mesmo autor constatou que os peixes que apresentavam maior crescimento e melhor eficiência alimentar eram aqueles peixes alimentados com as dietas formuladas com base neste conceito. WILSON e POE (1985) utilizaram este método para estimar as exigências em aminoácidos para o bagre do canal, *Ictalurus punctatus*. Estes autores demonstraram, pela primeira vez em peixes, a existência de uma forte correlação ($r = 0,96$) entre a concentração corporal de aminoácidos essenciais e a exigência destes mesmos aminoácidos na dieta, determinada por estudos de dose-resposta. A partir daí, estudos com várias espécies de peixes adotaram este método, destacando-se os realizados para red drum, *Sciaenops ocellatus* (MOON & GATLIN, 1991), striped bass, *Morone saxatilis* (BROWN, 1995), linguado japonês, *Paralichthys olivaceus* (FORSTER & OGATA, 1998), black bass, *Micropertus salmoides* (PORTZ, 2003) e o striped bass híbrido, *M. saxatilis x M. chrysops*. (TWIBELL *et al*, 2003).

Em geral, a lisina apresenta-se como o primeiro aminoácido limitante em muitas fontes de proteína que são utilizadas para a elaboração de rações comerciais, especialmente de origem vegetal. A lisina, junto com a metionina, é precursora da carnitina, a qual é utilizada no transporte intracelular dos ácidos graxos dentro da mitocôndria para a oxidação, cumprindo assim um papel importante no metabolismo (HORNE *et al*. 1971, apud MURILLO-GURREA *et al*. 2001). A lisina atua também na síntese de colágeno, o qual é necessário para a formação do tecido conectivo e matriz óssea, já que é precursor da hidroxilisina, formada pela hidroxilação da lisina através do co-

fator ácido ascórbico (SANDEL & DANIEL, 1989). STEFFENS (1989) afirma que baixas concentrações de lisina nas dietas para truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* causam depressão na taxa de formação de colágeno. Segundo BAKER & HAN (1994), a lisina pode ser utilizada como aminoácido referência já que é estritamente essencial, ou seja, não apresenta nenhuma via de síntese endógena sendo o único orientado exclusivamente para deposição de proteína corporal. A lisina merece, portanto uma atenção especial nos níveis de inclusão em dietas para peixes, já que muitas vezes é adicionada em quantidades reduzidas (KIM & LALL, 2000). Adicionalmente, as análises laboratoriais para determinação dos seus níveis nos ingredientes, rações e tecidos são bastante precisas, sendo o aminoácido mais estudado em experimentos dose-resposta em peixes. Vinte e dois estudos estão sumarizados na Tabela 1, e constatou-se que a maioria deles estimam a exigência utilizando a análise de regressão segmentada (“broken line”) e que o ganho em peso foi o parâmetro mais avaliado nesta estimativa. Para espécies carnívoras, a exigência média em lisina está entre 3,8 e 4,8% da proteína, sendo as exigências mais altas para o salmão “chum”, *Oncorhynchus keta*, e o salmão “chinook”, *Oncorhynchus tshawytscha*. Já para os onívoros a exigência média está entre 5,1% e 6,2% de lisina na proteína, não havendo muita diferença entre as espécies.

A falta de conhecimento sobre a exigência em aminoácidos para o jundiá pode ocasionar a formulação de dietas desbalanceadas através do uso de fontes protéicas de baixo valor biológico, o que pode resultar em um baixo aproveitamento destas, comprometendo o crescimento e gerando poluição nos cultivos pelo aumento de excreção nitrogenada. MEYER e FRACALOSSO (2005) determinaram a composição em aminoácidos do tecido muscular de diferentes grupos de jundiá, provenientes da natureza e de cultivo, fazendo uma estimativa da sua exigência em aminoácidos essenciais. A estimativa da exigência em lisina foi de 5,8% da proteína na dieta. Entretanto, esta estimativa foi feita comparando-se a exigência dietética média de outros peixes onívoros com a composição de aminoácidos do músculo do jundiá. Até o momento, esta é a única informação sobre a exigência em aminoácidos para esta espécie. No presente estudo, entretanto, propõe-se a determinação da exigência dietética real de um aminoácido para o jundiá, a lisina, e subsequente estimativa da exigência dos outros aminoácidos essenciais, utilizando-se o conceito da proteína ideal. Os resultados deste estudo estão apresentados na forma de artigo científico, seguindo as normas da revista *Journal of the World Aquaculture Society*, para o qual será posteriormente submetido à publicação.

Tabela 1.

Exigência em lisina para algumas espécies de peixes de diferentes hábitos alimentares.

Nome comum Espécie	Proteína bruta da dieta	Exigência em lisina (%proteína)	Resposta ¹	Modelo estatístico ²	Referência
CARNIVOROS					
salmão chinook <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	40	5	-	-	Halver <i>et al</i> , 1958
salmão chum <i>O. keta</i>	40	4,82	GP	RS	Akiyama <i>et al</i> , 1985
“sea bass” <i>Dicentrarchus labrax</i>	50	4,82	GP	RS	Tibaldi & Lanari, 1991
“striped bass” <i>Morone saxatilis</i>	42	4,79	GP	RS	Small & Soares, 2000
“Asian sea bass” <i>Lates calcarifer</i>	46	4,5	GP-CA	RS	Murillo-Gurrea <i>et al</i> , 1999
Truta arco-iris <i>O. mykiss</i>	40	4,5	GP	RS	Encarnação <i>et al</i> , 2004
Pargo <i>Pagrus major</i>	48,9	4,29-4,40	CA-RN	RS	Foster & Ogata, 1998
linguado japonês <i>Paralichthys adspersus</i>	47,3	4,21-4,61	CA-RN	RS	Foster & Ogata, 1998
Yellowtail <i>Seriola quinqueradiata</i>	43	4,13	GP-CA	RS	Ruchimat <i>et al</i> , 1997
“hybrid striped bass” <i>M. saxatilis X M. chrysops</i>	35	4	GP	RS	Griffin <i>et al</i> , 1992
“hybrid striped bass” <i>M. saxatilis X M. chrysops</i>	35	4,03	GP	RS	Keembiyehetty & Gatlin III, 1992
“milkfish” <i>Chanos chanos</i>	42,5	4	GP	POLI	Borlongan & Coloso, 1993
“milkfish” <i>Ch. Chanos</i>	50	4	GP	RS	Borlongan & Benitez, 1990
Salmão do Atlântico <i>Salmo salar</i>	51	3,98	GP	RS	Anderson <i>et al</i> , 1993
Salmão coho <i>O. kisutch</i>	30	3,8	GP		Arai & Ogata, 1991

continua...

...Continuação

ONIVOROS

carpa da Índia				RS	
<i>Catla catla</i>	40	6,23	GP	POLI	Ravi & Devaraj, 1991
Carpa major da Índia					
<i>Cirrhinus mrigala</i>	40	5,75	GP	RS	Ahmed & Khan, 2004
bagre africano					
<i>Clarias gariepinus</i>	40	5,73	GP	POLI	Fagbenro <i>et al</i> , 1998
tilápia do Nilo					
<i>Oreochromis niloticus</i>	25	5,7	GP	RS	Furuya <i>et al</i> , 2004
tilápia do Nilo					
<i>O. niloticus</i>	28	5,12	GP	RS	Santiago & Lovell, 1988
bagre do canal					
<i>Ictalurus punctatus</i>	30	5,07	GP		Robinson <i>et al</i> , 1981

¹ GP = ganho em peso, TEP= taxa eficiência proteíca, CA = conversão alimentar, RN = retenção de nitrogênio.

² Modelo para a determinação da exigência em lisina: RS = regressão segmentada ("broken line"), POLI = regressão polinomial, EXP = equação exponencial.

Exigência em Lisina e Estimativa dos Aminoácidos Essenciais com Base no Conceito de Proteína Ideal para Alevinos de Jundiá, Rhamdia quelen

Pamela Montes Girao¹ e Débora Machado Fracalossi²

Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce, Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, CEP 88066-292, Florianópolis, SC, Brasil, Tel/Fax: 55-48-3895216, e-mail: pamemontes@hotmail.com¹, deboraf@cca.ufsc.br²

Resumo – O desenvolvimento de dietas de alto valor nutricional para espécies potencialmente cultiváveis, como o jundiá, Rhamdia quelen, depende do avanço no conhecimento sobre suas exigências nutricionais. Visando atingir este objetivo, o presente estudo teve como finalidade determinar a concentração de lisina na dieta que corresponde à exigência deste aminoácido para alevinos de jundiá. Grupos de dezessete alevinos de jundiá (1,4 g ± 0,1) foram estocados em 21 aquários de 120 L e alimentados até a saciedade aparente, duas vezes ao dia, com dietas semi-purificadas (34 % de proteína bruta e 3,500 kcal de energia metabolizável estimada), variando entre elas as concentrações de lisina (3,0 %; 4,0 %; 4,5 %; 5,0 %; 5,5 %; 6,0 % e 6,5 % na proteína bruta). Após 119 dias, o ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, taxa de retenção de proteína, consumo diário em porcentagem do peso vivo, a composição corporal (matéria seca, proteína, extrato etéreo, e cinzas) e concentração de colágeno nas vértebras foram determinadas. O ganho em peso e a taxa de crescimento específico aumentaram à medida que a concentração de lisina na proteína aumentou de 3,0 % até 4,5 % (p<0,05), observando-se uma diminuição nas concentrações de 6,0 e 6,5 % de lisina. Os peixes alimentados com a dieta basal (3,0 % de lisina) apresentaram a pior conversão alimentar, melhorando a partir da dieta 4,5 % de lisina na proteína. O consumo de ração acompanhou a mesma tendência da conversão alimentar. A maior taxa de retenção protéica foi observada nos peixes alimentados com a dieta contendo 4,5 % de lisina na proteína. Os peixes alimentados com as dietas contendo 4,5 %; 5,0 % e 5,5 % de lisina acumularam mais proteína corporal. O efeito inverso foi verificado para a gordura corporal. A concentração de colágeno foi significativamente maior (P<0.05) naqueles peixes alimentados com a dieta contendo 4,5 % de lisina na proteína. A exigência dietética em lisina, considerando-se dados de ganho em peso e taxa de retenção protéica foi de 4,5 % da proteína, quando calculada pelo método matemático da regressão segmentada, e 5,3 % quando por modelo de regressão polinomial. As exigências nos demais aminoácidos

essenciais foram estimadas com base no conceito de proteína ideal, e foram semelhantes às exigências para outras espécies de peixes já estudadas, com exceção da exigência em leucina, que foi mais elevada para o jundiá.

1. Introdução

O jundiá, Rhamdia quelen, é um bagre nativo da América Latina, ocorrendo desde Argentina até o sul do México (SILFVERGRIP 1996). Esta espécie não possui espinhos intramusculares, apresenta resistência ao manejo, boa conversão alimentar (FRACALOSSI et al. 2004) e crescimento acelerado inclusive nos meses mais frios (FRACALOSSI et al. 2002), o que tem despertado grande interesse nos piscicultores da Região Sul do Brasil. O desenvolvimento de pesquisas sobre a nutrição do jundiá, visando aprimorar o aproveitamento da ração é de grande relevância para sucesso da criação do jundiá em cativeiro, considerando-se que poucos estudos abordam as exigências nutricionais desta espécie.

A maioria dos animais monogástricos, incluindo os peixes, precisa dos mesmos dez aminoácidos essenciais (WILSON 2002). Entretanto, ainda é escasso o conhecimento sobre a exigência em aminoácidos para muitas espécies de peixes o que resulta na fabricação de rações comerciais com um considerável desequilíbrio no balanceamento de aminoácidos, o que promove a utilização de um nutriente caro, a proteína, como fornecedora de energia, bem como a produção de poluentes orgânicos pelo aumento da excreção de amônia.

O conceito de proteína ideal, originalmente desenvolvido para animais monogástricos, propõe a determinação da exigência quantitativa de um aminoácido referência, normalmente o mais limitante em dietas práticas, pelo método convencional de dose-resposta, enquanto que a exigência nos demais aminoácidos é estimada baseando-se no perfil de aminoácidos do corpo do peixe, já que este apresenta uma forte correlação com os níveis exigidos na dieta (WILSON 2002). ARAI (1981) introduziu o conceito da taxa de aminoácidos essenciais (A/E), definida como a relação entre o conteúdo de cada aminoácidos essencial e o total de aminoácidos essenciais corporais, (incluindo cistina e tirosina) com a finalidade de formular dietas para alevinos de salmão. Este autor, observou que apresentavam maior crescimento e melhor eficiência alimentar aqueles peixes alimentados com as dietas formuladas com base neste conceito. WILSON e POE (1985) usaram este método para estimar as exigências em aminoácidos para o bagre do canal, Ictalurus punctatus. Estes autores demonstraram (pela primeira vez em peixes), a existência de uma forte correlação ($r = 0,96$) entre a composição corporal de aminoácidos essenciais e a exigência destes mesmos aminoácidos na dieta,

determinada por estudos de dose-resposta. A partir daí, vários estudos adotaram esta nova metodologia, para diferentes espécies de peixes, destacando-se estudos com “red drum”, Sciaenops ocellatus (MOON & GATLIN 1991), “striped bass”, Morone saxatilis (BROWN 1995), linguado japonês, Paralichthys olivaceus (FORSTER e OGATA 1998), “black bass”, Micopterus salmoides (PORTZ 2003) e o “striped bass” híbrido, M. saxatilis x M. chrysops (TWIBELL et al. 2003).

Em geral, a lisina apresenta-se como o primeiro aminoácido limitante em muitas fontes de proteína que são utilizadas para a elaboração de rações comerciais, especialmente nas proteínas de origem vegetal. A lisina atua também na formação de colágeno, já que é precursor da hidroxilisina, formada pela hidroxilação da lisina através do co-fator ácido ascórbico (SANDEL e DANIEL 1988). Segundo BAKER e HAN (1994), a lisina pode ser utilizada como aminoácido referência na estimativa da exigência em outros aminoácidos já que é estritamente essencial, ou seja, não apresenta nenhuma via de síntese endógena. Ao contrário dos aminoácidos sulfurados, a lisina é o único aminoácido orientado exclusivamente para deposição de proteína corporal.

MEYER e FRACALLOSSI (2005) determinaram a composição em aminoácidos do tecido muscular de um grupo de jundiás proveniente da natureza e de outro proveniente de cultivo em cativeiro, fazendo uma estimativa da sua exigência dietética em aminoácidos essenciais. Neste estudo, a estimativa da exigência em lisina foi de 5,8 % da proteína da dieta. Entretanto, esta estimativa foi feita comparando-se a exigência dietética média de outros peixes onívoros com a composição de aminoácidos do músculo do jundiá. Até o presente, esta é a única informação disponível sobre a exigência em aminoácidos para esta espécie. No presente estudo, entretanto, propõe-se a determinação da exigência dietética real de um aminoácido para o jundiá, a lisina, e subsequente estimativa da exigência dos outros aminoácidos essenciais, utilizando-se o conceito da proteína ideal.

2. Material e Métodos

Em um delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições por tratamento, 357 alevinos de jundiá (peso e comprimento médios iniciais de $1,5 \pm 0,1$ g e $5,3 \pm 0,2$ cm, respectivamente), oriundos de uma piscicultura comercial, foram estocados em 21 tanques (17 peixes/tanque), com volume útil de 120 L cada e taxa de renovação de água de aproximadamente 1,5 L/min/aquário, dispostos em um sistema de recirculação de água com aeração constante e fotoperíodo de 14 horas. Os peixes foram aclimatados às condições experimentais durante sete dias, sendo alimentados com uma dieta basal semi-purificada contendo 34 % proteína bruta (PB), 3,500

kcal/kg de energia metabolizável estimada¹ (EM) e 3% lisina da proteína. Após o condicionamento, os alevinos foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente, duas vezes ao dia (0800 e 1700 h), durante 119 dias. Em cada horário, foram realizados dois arraçoamentos consecutivos, tendo-se o cuidado de alternar a ordem de início do recebimento das dietas para evitar diferenças no tempo de arraçoamento. A cada 15 dias, o arraçoamento foi suspenso por um período de 24 h, para coleta parcial de dados de ganho em peso. Cada pesagem foi seguida de um banho de oxitetraciclina na concentração de 0,06 g/L (30 min), como medida profilática.

O peso do alimento oferecido, por tanque, foi registrado diariamente para posterior cálculo dos índices de desempenho. Ao final do período experimental, 5 exemplares de cada tanque, com peso médio semelhante ao peso médio de cada aquário, foram sacrificados com overdose de anestésico (200 mg/L MS-222, triclaína metanossulfonato) e congelados (-20 C) para posterior determinação da composição corporal. O manejo dos peixes durante o experimento esteve em conformidade com a Comissão de Ética no Uso de Animais, Universidade Federal de Santa Catarina.

A temperatura e a concentração de oxigênio dissolvido foram medidas diariamente, nos horários de alimentação, e as concentrações de amônia, nitrito e pH foram medidas a cada três dias. As médias de temperatura ($30,5 \pm 0,5$ C), concentrações de oxigênio dissolvido ($6,22 \pm 0,45$ mg/L) e pH ($7 \pm 0,1$) mantiveram-se adequadas para o desenvolvimento de peixes de água doce (BOYD 1990). Igualmente, as concentrações de amônia e nitrito não ultrapassaram 0,25 mg/L.

2.1. Dietas experimentais

Sete dietas semi-purificadas, a base de caseína e gelatina, isoprotéicas (34% PB) e isocalóricas (3.500 kcal EM) foram formuladas variando-se entre elas somente a concentração de lisina (3,0 %; 4,0 %; 4,5 %; 5,0 %; 5,5 %; 6,0 %; 6,5 % da proteína), conforme a Tabela 2. A caseína e gelatina, contribuíram com a concentração mínima de lisina (3,0 % da proteína), sendo que as concentrações teste foram obtidas através da inclusão de lisina sintética, em substituição à celulose. Também foi adicionado um premix de aminoácidos, formulado para conter o perfil de aminoácidos da albumina, considerado adequado para os peixes (WILSON 2002; SANTIAGO e LOVELL 1998).

¹ Energia metabolizável, calculada a partir dos valores fisiológicos padrões, onde 1 g de carboidrato, proteína e lipídio equivalem a 4, 4 e 9 kcal respectivamente (LEE & PUTMAN, 1973)

As dietas foram formuladas para atender as exigências em aminoácidos determinadas para o bagre do canal (NRC, 1993). Para a confecção das dietas, os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador do tipo “Y” e a seguir foram adicionados os óleos e a água (40%). O pH de todas as dietas foi ajustado a 7.0, com o uso de uma solução 6N de NaOH (NOSE et al. 1974), para evitar possíveis diferenças no consumo, causadas por variações na palatabilidade das dietas. As misturas foram peletizadas (diâmetro 3 mm) e secas em estufa (60 C) por 6 horas, embaladas e armazenadas (-20 C) até utilização.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (expressa na matéria seca).

INGREDIENTES	QUANTIDADE (%)						
Caseína	13,12						
Gelatina	2,78						
Dextrina	37,14						
Celulose	11,37						
Óleo de fígado de bacalhau	3,38						
Óleo de canola	3,38						
Carboximetil celulose	2,00						
Premix vitamínico e micromineral ^a	3,00						
Premix macromineral ^b	5,73						
Premix aminoácidos ^c	18,10						
L-lisina ^d	variável						

Composição centesimal	Concentração em lisina (% da proteína)						
	3,0	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5
Matéria seca	87,90	92,57	90,95	91,57	92,53	91,93	90,65
Proteína bruta	33,35	32,80	32,94	32,95	33,07	32,89	33,06
Extrato etéreo	4,65	5,33	5,40	4,37	5,43	5,39	5,11
Fibra em det. ácido	8,13	7,71	8,05	7,86	7,67	8,47	8,68
Matéria mineral	6,76	7,20	8,03	8,17	7,76	7,82	7,70
Lisina ^e	2,93	3,85	4,48	4,38	5,44	5,85	6,33

^a Composição (kg de premix): ácido fólico 250 mg, ácido pantotênico 5000 mg, biotina, 125 mg, cobalto 25 mg, cobre 2000 mg, colina 25000 mg, ferro 13820 mg, iodo 100 mg, manganês 3750 mg, niacina 5000 mg, selênio 75 mg, vitamina A 1000000 UI, vitamina B₁ 1250 mg, vitamina B₁₂ 3750 mg, vitamina B₂ 2500 mg, vitamina B₆ 1875 mg, vitamina C 42000 mg, vitamina D₃ 500000 UI, vitamina E 20000 UI, vitamina K₃ 500 mg, zinco, 17500 mg.

^b Composição (%): 45,4 fosfato bicálcico, 29,7 sulfato de potássio, 17,4 cloreto de sódio, 7,5 sulfato de magnésio.

^c Ajinomoto Interamericana Indústria e Comércio LTDA (São Paulo) Composição correspondente ao perfil de aminoácidos da albumina (%): lisina 0, arginina 6,46, histidina 2,55, treonina 5,18, valina 6,57, leucina 9,21, isoleucina 5,88, metionina 3,36, cistina 2,50, fenilalanina 5,73, tirosina 4,40, triptofano 1,31, ácido aspártico 10,83, ácido glutâmico 14,09, serina 7,20, alanina 6,00, glicina 3,63, prolina 5,11.

^d Ajinomoto Interamericana Indústria e Comércio LTDA (São Paulo). Níveis de inclusão lisina (% PB) 0,0 1,0 1,5 2,0 2,5 3,0 e 3,5 em substituição à celulose.

^e Concentração de lisina analisada nas dietas experimentais.

2.2. Análises químicas das dietas e da composição corporal dos peixes

A composição das dietas experimentais em matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra, e matéria mineral estão descritas na Tabela 2. Todas as análises seguiram as normas da

Association of Official Analytical Chemist (AOAC 1999). A matéria seca foi obtida através de secagem a 105 C até peso constante, a matéria mineral por incineração a 550 C durante 5 h, a gordura por extração em éter (após hidrólise ácida), a fibra pela digestão em detergente ácido, a proteína bruta pelo método de Kjeldahl ($N \times 6,25$), após digestão ácida.

A composição em aminoácidos das dietas foi determinada após digestão ácida e básica e separação por cromatografia líquida (HPLC) de troca iônica, conforme descrito por PORTZ e CYRINO (2003), por meio de digestão ácida em tubos de vidro lacrados, sob atmosfera de nitrogênio, a 110°C com HCl 6N por 24h. Os aminoácidos cistina e metionina foram determinados após oxidação com ácido per fórmico antes da hidrólise ácida, seguindo metodologia de MOORE (1963). Após a hidrólise, as soluções foram filtradas a vácuo, diluídas a 0,25 M com HCl 0,02 N para ajuste a pH 8,5 e filtradas em membrana Millipore (0,45 μm). O aminoácido triptofano foi analisado através de hidroxilação alcalina com hidróxido de lítio.

Os cinco peixes coletados de cada unidade experimental foram triturados e homogeneizados antes de serem submetidos às análises. O mesmo procedimento foi adotado para os vinte peixes (peso inicial de $4,2 \pm 0,9$ g) coletados no início do experimento para a determinação da composição corporal inicial. A composição corporal dos animais (matéria seca, cinzas, extrato etéreo e proteína bruta) foi determinada seguindo as mesmas metodologias utilizadas na análise da composição das dietas. Dezesete jundiás (peso inicial de $16,6 \pm 4,8$ g), oriundos de uma piscicultura comercial, foram coletados com a finalidade de determinar o perfil de aminoácidos corporal, sendo utilizada a mesma metodologia empregada na análise das dietas.

A quantidade de colágeno na coluna vertebral foi medida em duas amostras por tratamento ao final do período experimental, seguindo procedimento descrito por MUSTIN e LOVELL (1992). Foi introduzida uma modificação nesta metodologia, com a finalidade de facilitar a remoção da coluna vertebral, a qual consistiu em ferver o peixe inteiro por dez minutos antes de retirar a coluna vertebral, conforme sugerido por FRACALOSSO et al (1998).

2.3. Parâmetros indicadores de desempenho

Os índices de desempenho foram calculados a partir dos registros do consumo total de alimento (g/peixe) e análises de composição corporal e das dietas. Assim, foram calculados o ganho em peso (GP) ($\text{peso}_{\text{final}} - \text{peso}_{\text{inicial}}$) a conversão alimentar (CA = *consumo de ração corrigido para 10% umidade / ganho em peso*), o consumo diário em porcentagem do peso vivo $\{CD\% = \text{consumo} / [(\text{peso médio peixe}_{\text{final}} + \text{peso médio peixe}_{\text{inicial}}) / 2] / \text{dias} \times 100\}$, a taxa de crescimento

específico [$TCE = 100 \times (\ln \text{ peso médio peixe}_{final} - \ln \text{ peso médio peixe}_{inicial})/\text{dias}$] e a taxa de retenção de proteína [$TRP = 100 \times (\text{proteína corporal}_{final} - \text{proteína corporal}_{inicial})/\text{consumo em proteína}$].

Os resultados de GP, TCE, CA, CD%, TRP, composição corporal e colágeno vertebral foram submetidos aos testes de normalidade e à análise de variância e então, em caso de diferença significativa entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5,0 % .A exigência em lisina foi estimada, a partir dos dados de ganho em peso e taxa de retenção protéica, utilizando-se o método de regressão polinomial descrita por Shearer (2000) e da regressão segmentada (“broken line”), descrita por Portz et al. (2000) e Shiau (2001).

3. Resultados

3.1. Desempenho e estimativa da exigência em lisina

Os resultados de ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, taxa de eficiência protéica, consumo de alevinos e sobrevivência dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes concentrações de lisina estão apresentados na Tabela 3. Houve aumento no ganho em peso à medida que a concentração de lisina aumentou de 3,0 % até 4,5 %. A partir desta concentração, não houve ganho em peso adicional e uma diminuição foi observada nas concentrações de 6,0 e 6,5 % de lisina. Os peixes alimentados com a dieta basal apresentaram a pior conversão alimentar, mas este índice foi melhorando com a inclusão de lisina na dieta até 4,5 %. O consumo de ração acompanhou a mesma tendência da conversão alimentar. A partir do 53º dia de experimento foram observados sinais clínicos de má formação óssea (lordose e escoliose) em alguns peixes que recebiam as dietas contendo 3,0 % e 4,0 % de lisina na proteína. Ao final de 119 dias, um total de 3 (17,65 %) e 2 (11,76 %) peixes apresentaram escoliose e/ou lordose nos tratamentos 3,0 % e 4,0 % de lisina, respectivamente (Anexo).

Com base no ganho em peso e na taxa de retenção protéica foram estimadas as exigências em lisina para o jundiá, utilizando-se como modelos matemáticos à regressão segmentada e regressão polinomial (Figura 1).

Tabela 3. Desempenho de alevinos de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de lisina, por 119 dias ^{a, b}

Dietas (% lisina na proteína)	Ganho em peso (g)	Taxa de crescimento específico (%)	Conversão alimentar	Consumo diário (% peso vivo)	Taxa de retenção protéica (%)
3 (basal)	5,83 ^b	1,48 ^b	6,39 ^a	8,09 ^a	19,98 ^b
4	8,00 ^{ab}	1,70 ^{ab}	3,98 ^{ab}	5,40 ^{ab}	36,43 ^{ab}
4,5	9,88 ^a	1,92 ^a	2,96 ^b	4,26 ^b	50,30 ^a
5	8,21 ^{ab}	1,76 ^{ab}	3,74 ^b	5,19 ^b	45,81 ^{ab}
5,5	9,89 ^a	1,92 ^a	3,35 ^b	4,85 ^b	49,55 ^a
6	7,60 ^{ab}	1,70 ^{ab}	3,87 ^b	5,30 ^b	46,43 ^{ab}
6,5	7,86 ^{ab}	1,73 ^{ab}	3,84 ^b	5,22 ^b	40,95 ^{ab}
ANOVA ^c (valor de <i>P</i>)	0,020	0,015	0,004	0,004	0,013
Erro padrão	0,53	0,06	0,42	0,46	4,00

^a Médias de 3 repetições. Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente ($P < 0,05$).

^b Peso inicial $1,5 \pm 0,1$ g.

^c Análise de variância

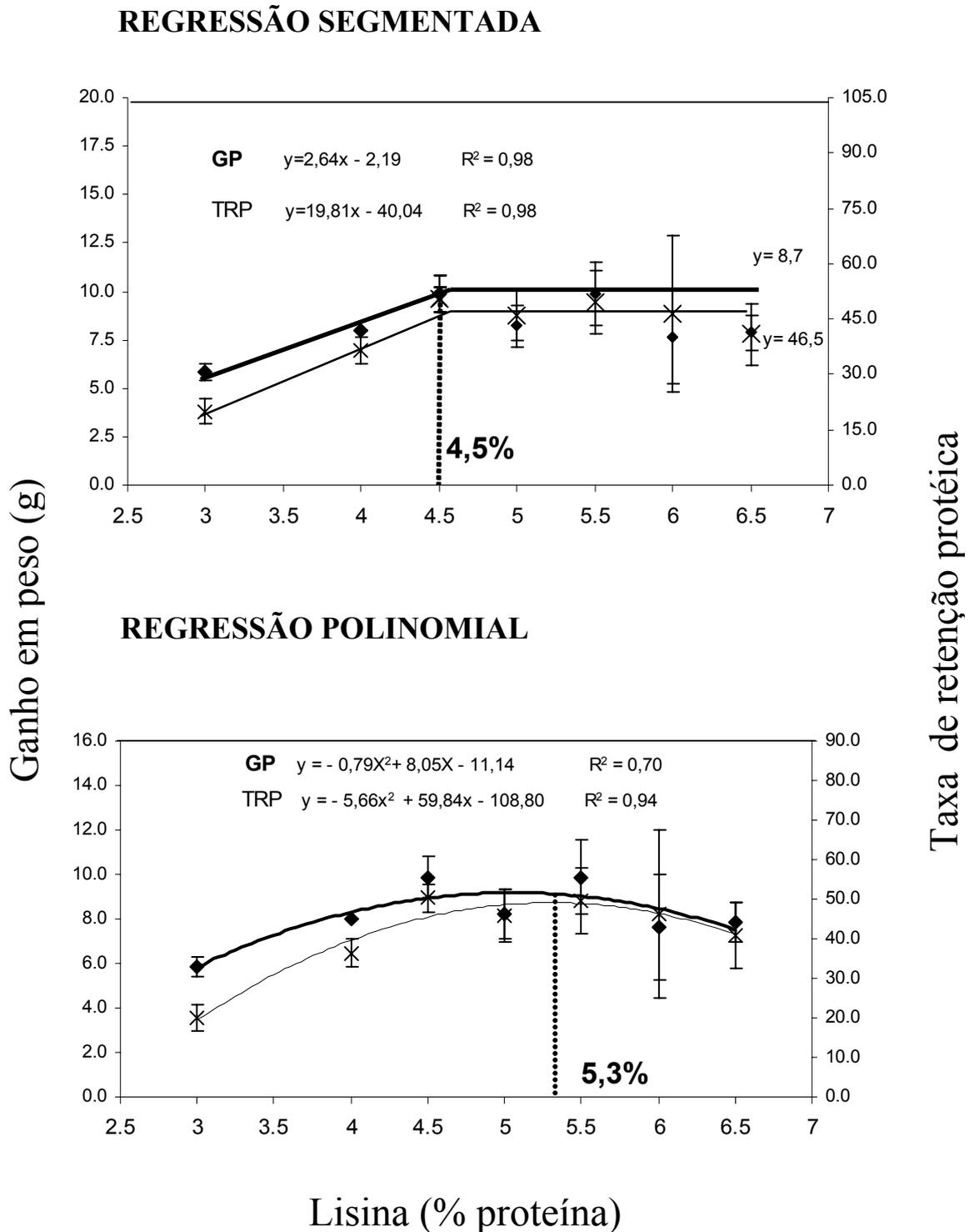


Figura 1. Estimativa da exigência dietética em lisina para alevinos de jundiá, considerando-se o ganho em peso (GP-♦-) e a taxa de retenção protéica (TRP-x-), analisada pelo modelo matemático de regressão segmentada e regressão polinomial.

3.2. Composição corporal e colágeno vertebral

O efeito das concentrações crescentes de lisina na dieta sobre a composição corporal dos alevinos de jundiá está representado na Tabela 4. Os peixes alimentados com as dietas contendo 4,5 %; 5,0 % e 5,5 % de lisina acumularam mais proteína corporal. O efeito inverso foi verificado para a gordura corporal, que foi maior nos alevinos alimentados com as dietas com concentrações mais baixas (3,0 % e 4,0 %) ou mais altas (6,0 % e 6,5 %) de lisina, apesar de não ter apresentado diferença estatística para este último parâmetro. A menor concentração de colágeno vertebral foi verificada nas concentrações mais baixas de lisina (3,0 % e 4,0 %), aumentando significativamente nos peixes alimentados com a dieta contendo 4,5 % lisina e diminuindo novamente naqueles alimentados com as concentrações maiores de lisina.

Tabela 4. Composição corporal de alevinos de jundiá (expressa a partir da matéria original) alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de lisina, por 119 dias ^a.

Dietas (lisina % proteína)	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)	Colágeno (%)
3 (basal)	24,46	12,04 ^b	5,61	13,52	11,29 ^c
4	24,17	12,60 ^b	5,54	11,65	11,66 ^c
4,5	24,49	13,64 ^a	5,17	11,83	24,86 ^a
5	23,85	13,41 ^a	5,10	12,85	21,97 ^b
5,5	23,36	13,57 ^a	5,11	12,78	21,89 ^b
6	23,90	13,38 ^a	5,52	11,95	21,50 ^b
6,5	23,31	13,29 ^a	5,67	11,97	21,27 ^b
Composição inicial	24,10	13,40	5,82	10,69	-
ANOVA ^b (valor de <i>P</i>)	ns	<0,001	ns	ns	<0,001
Erro padrão	0,16	0,22	0,01	0,26	2,04

^a Médias de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente ($P < 0,05$).

^b Análise de variância

3.3. Cálculo da taxa de aminoácidos essenciais e da estimativa da exigência em aminoácidos essenciais

A partir da composição (perfil) de aminoácidos corporais do jundiá, foi estimada a taxa de aminoácidos essenciais (A/E), a qual é definida como a relação entre o conteúdo de cada aminoácido essencial e o total de aminoácidos essenciais corporais, incluindo cistina e tirosina, multiplicado por 1000 (ARAI 1981). A exigência nos demais aminoácidos essenciais foi determinada a partir da seguinte fórmula (FAGBENRO 2000): Exigência no aminoácido X = exigência em lisina x (taxa de A/E total / 100). Os dados estimados estão apresentados na Tabela 5, onde também se apresentam valores de exigência para tilápia do Nilo, bagre do canal e truta arco-íris.

Tabela 5. Perfil de aminoácidos corporal, taxa de aminoácidos essenciais, estimativa da exigência dietética em aminoácidos para alevinos do jundiá e exigência em aminoácidos para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, e truta arco íris *Onchorhynchus mykiss*.

Aminoácidos	Perfil aminoácido corporal ^a	Taxa A/E ^b	Exigências Estimadas				
			Jundiá ^c		Tilápia do Nilo ^d	Bagre do canal ^e	Truta arco-íris ^f
			RS	POLI	RS	RS	RS
Arginina	4,9	103,3	4,6	5,5	4,2	4,3	3,5
Histidina	1,8	39,3	1,8	2,1	1,7	1,5	1,6
Isoleucina	4,9	103,3	4,6	5,5	3,1	2,6	2,4
Leucina	8,2	171,7	7,7	9,1	3,4	3,5	4,4
Lisina	7,8	100	4,5 ^g	5,3 ^h	5,1	5,1	5,3
Met+Cis	3,9	82,0	3,7	4,3	3,2	2,3	2,7
Fenil+ Tiro	5,6	119,1	5,4	6,3	5,5	5,0	5,2
Treonina	4,5	95,5	4,3	5,1	3,8	2,2	3,4
Triptofano	0,9	18,9	0,8	1,0	1,0	0,5	0,5
Valina	4,8	101,2	4,6	5,4	2,8	3,0	3,1

^a Dezesete jundiás (peso inicial de 16,6 ± 4,8 g) obtidos de uma piscicultura comercial.

^b Taxa A/E = (quantidade de cada aminoácido essencial corporal / total de aminoácidos essenciais incluindo cistina e tirosina) x 1000.

^c Exigência estimada em aminoácidos essenciais, com exceção da lisina, baseada no conceito de proteína ideal. **RS** = quando a exigência em lisina foi estimada aplicando regressão segmentada; **POLI** = quando a exigência em lisina foi estimada usando regressão polinomial. Exigência no aminoácido essencial = exigência em lisina x (taxa A/E / 100). (Fagbenro, 2000)

^d Santiago & Lovell, 1988

^e Wilson & Poe, 1985

^f Ogino, 1980.

^{g, h} Dados calculados a partir de experimento dose-resposta.

4. Discussão

A inclusão de concentrações ótimas de aminoácidos é um pré-requisito indispensável para a formulação de dietas nutricionalmente bem balanceadas que propiciem uma adequada relação custo-benefício para o cultivo de peixes. O presente estudo indica que 4,5% de lisina na proteína é uma concentração ótima para o máximo crescimento de alevinos de jundiá. O maior ganho em peso, assim como a mais alta taxa de retenção protéica, foram observadas nesta concentração dietética, quando a determinação de exigência, considerando-se estes dois parâmetros, foi feita através da análise de regressão segmentada (“broken line”). Entretanto, este seja um procedimento matemático amplamente utilizado em numerosos estudos, pode subestimar a exigência dietética de um nutriente (ENCARNAÇÃO et al. 2004; SHEARER 2000). Quando foi utilizada a regressão polinomial para a estimativa desta exigência, 5,3% de lisina na proteína foi calculada como ideal. O ganho em peso e a taxa de retenção protéica diminuíram nas menores (3,0 % e 4,0 % da proteína) e maiores (6,0 % e 6,5% da proteína) concentrações de lisina, o que sugere um possível antagonismo entre arginina-lisina (LOVELL 1998).

Para a dieta 5% de lisina na proteína, a concentração real de lisina na proteína analisada foi de 4,3% (Tabela 2). A razão desta discrepância é desconhecida e poderia explicar a diminuição no ganho em peso e na taxa de retenção protéica para os alevinos alimentados com esta dieta em comparação com os alimentados com 4,5% de lisina na proteína (Figura 1). Possivelmente, se a concentração real analisada fosse igual à esperada, ou seja 5%, a estimativa da exigência, quando feita por meio de regressão segmentada, seria maior que 4,5%.

A concentração de lisina encontrada neste estudo foi igual à determinada por MURILLO-GURREA et al (1999) para o carnívoro “sea bass” asiático, *Lates calcarifer*, e por ENCARNAÇÃO et al (2004) para truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. Fazendo uso do método de regressão segmentada, os últimos autores citados determinaram que a exigência dietética em lisina é de 4,5% da proteína. Entretanto, esta exigência aumentou para 5,75% quando calculada pelo método de regressão polinomial. Em geral, diversos estudos com espécies carnívoras fazendo uso do parâmetro ganho em peso para calcular a exigência através do método de regressão segmentada demonstram uma exigência dietética de lisina muito próxima à verificada para o jundiá

(AKIYAMA et al. 1985; TIBALDI e LINARI 1991; SMALL e SOARES 2000; FORSTER e OGATA 1998).

Estudo recente sobre a digestibilidade de ingredientes para o jundiá demonstra que este peixe tem um melhor aproveitamento de fontes protéicas se comparado com outras espécies onívoras como a tilápia do Nilo e o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (OLIVEIRA FILHO 2005). Isto sugere que, mesmo o jundiá sendo um peixe de hábito alimentar onívoro, é uma espécie exigente. Já que possui um trato digestório simples, sem cecos pilóricos ou moela, com rastros branquiais curtos e espaçados e intestino reduzido, similar a um carnívoro.

A maior taxa de retenção protéica foi apresentada pelos jundiás alimentados com a dieta contendo 4,5% de lisina na proteína (Tabela 3). Considerando-se que a lisina é o único aminoácido orientado exclusivamente para deposição de proteína corporal (BAKER e HAN 1994), a maior taxa de retenção protéica encontrada nos alevinos alimentados com a dieta contendo 4,5% de lisina na proteína explica a maior concentração corporal de proteína nesta concentração (Tabela 4). De maneira semelhante, estudos feitos com o bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, demonstram que, quando dietas deficientes em lisina são suplementadas com este aminoácido, observa-se um aumento na proteína corporal e uma diminuição na gordura corporal (ROBINSON 1991; MUNSIRI e LOVELL 1993; ZARATE e LOVELL 1997). Este efeito é o mesmo apresentado pelo jundiá no presente trabalho, sugerindo que a síntese protéica aumenta com a concentração da lisina até um ganho ótimo, no caso 4,5% de lisina. Porém BAI e GATLIN (1994) relataram que dietas com diferentes concentrações de lisina não afetaram a composição corporal do bagre do canal.

A estimativa da exigência nos demais aminoácidos essenciais para o jundiá a partir da composição corporal e da exigência quantitativa em lisina está apresentada na Tabela 5, que também contém a exigência em aminoácidos da tilápia do Nilo, bagre do canal e truta arco-íris. Observa-se que os dados obtidos para o jundiá são comparáveis às exigências em aminoácidos para estas outras espécies, com exceção da leucina, já que este aminoácido foi o que apresentou a maior concentração na proteína corporal do jundiá.

O ganho em peso e taxa de crescimento específico observados no presente estudo, foram inferiores aos relatados por MEYER e FRACALOSSO (2004) para alevinos de jundiá alimentados com dietas semipurificadas contendo a mesma concentração protéica e energética. Esta diferença pode ser explicada pela adição de aminoácidos sintéticos no presente estudo, o que pode ter diminuído sua absorção e conseqüentemente a digestibilidade da ração (BALDISSEROTTO 2002). Já o consumo diário de ração foi superior ao do estudo citado, possivelmente para compensar a menor absorção de aminoácidos sintéticos. Houve maior consumo nas dietas com baixas

concentrações de lisina (3% e 4% de lisina na proteína), apesar de alguns estudos indicarem que a deficiência em aminoácidos essenciais na dieta, além de causar uma redução no crescimento, também diminui o consumo (KETOLA 1982; YAMAMOTO et al 2001).

A concentração de colágeno nas vértebras apresentou a mesma tendência da taxa de retenção protéica e do ganho em peso, sendo que a dieta com 4,5% de lisina na proteína foi a que propiciou a maior formação de colágeno vertebral, confirmando que a lisina é necessária para a formação do tecido conectivo e matriz óssea, já que é precursor da hidroxilisina, formada pela hidroxilação da lisina com auxílio do co-fator ácido ascórbico (SANDEL e DANIEL 1988). Isto foi claramente observado para o jundiá no presente estudo, sendo que os peixes alimentados com as dietas basal (3% lisina da proteína) e 4% lisina na proteína apresentaram as menores concentrações de colágeno vertebral ($p < 0,05$). Somente peixes alimentados com estas dietas apresentaram sinais clínicos (escoliose, lordose) de má formação óssea, já aqueles alimentados com a dieta contendo 4,5% lisina na proteína foram os que apresentaram as maiores taxas de colágeno, sugerindo que esta concentração seria ideal para o jundiá.

5. Conclusões

A exigência em lisina de alevinos de jundiá está entre 4,5% e 5,3% da proteína da dieta. A exigência nos demais aminoácidos essenciais foi estimada a partir desse valor, levando-se em consideração a taxa de aminoácidos essenciais a partir do perfil corporal de aminoácidos do jundiá. As exigências em aminoácidos desta espécie são semelhantes às encontradas para outras espécies de peixe cultivados, com exceção de leucina, para o qual o jundiá apresentou uma maior exigência estimada, devido à maior quantidade deste aminoácido em sua composição corporal.

Entretanto, outros estudos com concentrações mais próximas entre si de lisina seriam necessários para confirmar os resultados obtidos.

Agradecimentos

As autoras deste trabalho agradecem a Ajinomoto Interamericana pelo fornecimento dos aminoácidos sintéticos para a formulação das dietas experimentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akiyama, T., Arai, S., Marai, T., Nose, T. 1985. Threonine, histidine and lysine requirements of chum salmon fry. *Bulletin of Japanese Society Science Fisheries*, 51: 635-639
- Arai, S. A 1981. A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kituch*, fry. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47: 547-550
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1999. *Official Methods of Analysis of AOAC*, 16 ed., Patricia Cunniff (editora), Washington, DC, 1141 pp.
- Bai, S.C., D.M. Gatlin III. 1994. Effects of L-lysine supplementation of diets with different protein levels and sources on channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture Fish Manage* 25: 465-474.
- Baker, D.H. e Y. Han. 1994. Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks post hatching. *Journal of Poultry Science* 73:1441-1447
- Bardisserotto, B. 2002. *Fisiologia de peixes aplicada a piscicultura*. Editora da UFSM, Santa Maria, pág. 212.
- Boyd, C. 1990. *Water in ponds for aquaculture*. page. 482. Birmingham Publishing CO. Alabama
- Brown, M.L. 1995. Using whole-body amino acid patterns and quantitative requirements to rapidly develop diets for new species such as striped bass, *Morone saxatilis*. *Journal of Applied Ichthyology* 11:342-346
- Encarnação, P., Cornelis de Lange, M. Rodehutsord, D. Hoehler, W. Bureau, D.P. Bureau. 2004. Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, for maximum growth. *Aquaculture* 235:569-586.
- Fagbenro, O.G. 2000. Validation of the essential amino acid requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linne, 1758), assessed by the ideal protein concept. In: *International Aquaculture*, 5. Rio de Janeiro. *Proceedings: Panorama da Aquicultura* 1:154-156
- Forster, I. e H. Ogata, 1998. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* 161:131-142
- Fracalossi, D.M., M.E Allen, D.K. Nichols, Oftedal. Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. 1998. *Journal of Nutrition*, p. 1745-1751
- Fracalossi, D.M., E. Zaniboni Filho, S. Meurer, 2002. No rastro das espécies nativas. *Panorama da Aquicultura* 12, 43-49.
- Fracalossi, D.M, G Meyer, M. Weingartner, F. Santamaria, E. Zaniboni Filho. 2004 Criação do jundiá, *Rhamdia quelen*, e dourado, *Salminus brasiliensis* em viveiros de terra na região Sul do Brasil. *Acta Scientiarum*, 26:345-352

- Ketola, H.G, Amino Acid Nutrition of Fishes: Requirements and supplementation of diets. 1982. Comparative Biochemistry Physiology. 73b n°1:17-24
- Lovell, R.T., 1998. Nutrition and Feeding of Fish. Kluwer Academic Press, Boston, 267pp.
- Meyer, G. e D. Fracalossi. no prelo 2005 no prelo. Muscle tissue amino acid composition of jundiá, Rhamdia quelen, and estimation of its essential amino acid requirements. Scientia Agrícola
- Meyer, G. e D. Fracalossi. 2004. Protein Requirement of jundiá fingerlings, Rhamdia quelen, at two dietary energy concentrations. Aquaculture, 240: 331-343
- Moon, H.Y. e D.M. Gatlin III. 1991. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, Sciaenops ocellatus. Aquaculture 95:97-106
- Moore, S. 1963. On the determination of cystine and cysteic acid. Journal of Biology Chemistry 238: 235-237
- Munsiri I, P. e R.T. Lovell, 1993. Comparison of satiate and restricted feeding of channel catfish with diets of varying protein quantity in production ponds. Journal World Aquaculture Society 24:459-465
- Murillo-Gurrea, D.P., R.M Coloso, I.G. Borlongan, A.E. Serrano. 1999. Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass, Lates calcarifer. Journal of Applied Ichthyology 17:49-53
- Mustin, W. G. e R.T. Lovell, 1992. Na-L-ascorbyl-2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. Aquaculture 105:95-100
- Nose. T., S. Arai, D.L. Lee, Y. Hashimoto. 1974. A note on amino acids essential for growth of young carp. Bulletin of Japanese Society Science Fisheries 40: 903-908
- NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academic Press, Washington, DC, 114 pp.
- Ogino, C. 1980. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids. Nippon Suisan Gakkaishi 46:171-174
- Oliveira Filho, P. R. C. 2005. Coeficiente de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá, Rhamdia quelen. Florianópolis, 2005. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – UFSC, Brasil.
- Portz, L. e J. E P Cyrino. 2003. Comparison of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass Micropterus Salmoides (Lacepède, 1802). Aquaculture Research,34:585-592.
- Portz, L., C.T.S. Dias, J.E.P. Cyrino. 2000. Regressão segmentada como modelo na determinação de exigências nutricionais de peixes. Scientia Agrícola, 57: 601-606.

- Robinson, E.H. 1991. Improvement of cottonseed meal protein with supplemental lysine in feeds for channel catfish. *Journal of Applied Aquaculture* 1:1-14
- Sandel, L. J., e J. C. Daniel. 1988. Effect of ascorbic acid on RNA levels in short term chondrocyte cultures. 17:12-22
- Santiago, C.B. e R.T. Lovell. 1998. Amino acid requirement for growth of Nile tilapia. *Journal of Nutrition* 188:1540-1546
- Shearer, K.D. 2000. Design, analysis and modeling of nutrient requirement studies in fish: a critical Review. *Aquaculture Nutrition* 6: 91-102
- Shiau, S.Y., 2001. Estimation of nutrient requirement in aquatic animals. *J. Fish. Soc. Taiwan* 28, 69-76.
- Silfvergrip, A.M.C., 1996. A Systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Tese de Doutorado, Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum Natural History, Stockholm, Sweden, 156.
- Small, B.C. e J.H. Soares. 2000. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis*. *Aquaculture Nutrition* 6:207-212
- Tibaldi, E. e D. Lanari, 1991. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fed semipurified diets. *Aquaculture* 95:297-304
- Twibell, R.G., M.E Griffin, J. Martin, J. Price, P.B. Brown. 2003. Predicting dietary essential amino acid requirements for hybrid striped bass. *Aquaculture Nutrition* 9:373-381
- Wilson, R.P. Amino acids and Proteins. 2002 In: *Fish Nutrition*. pp.143-179. Third edition, Ed: J.E. Halver, El servier Science (USA).
- Wilson, R.P. e W.E. Poe, 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 2:385-388.
- Yamada, S., Y. Tanaka, T. Katayama. 1981. Feeding experiments with carp fry fed an amino acid diet by increasing the number of feeding per day. *Bulletin of Japanese Society Science Fisheries* 47:1247
- Yamamoto, T., T. Shima, H. Furuita, N. Suzuki, F.J. Sanchez-Vazquez, M. Tabata. 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*. *Aquaculture Research* 32:83-91
- Zarate, D.D., R. Lovell. 1997. Free lysine (L-lysine) 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.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo possibilitou a estimativa da exigência em lisina para alevinos de jundiá e com este valor foi possível fazer a estimativa nos demais aminoácidos essenciais. Entretanto, mesmo com este avanço no conhecimento sobre as exigências em aminoácidos essenciais para o jundiá, é necessário fazer outros estudos que possam confirmar os valores aqui encontrados. Por exemplo:

- a) Experimentos para determinar a digestibilidade dos aminoácidos em dietas práticas.
- b) Influência da densidade de peixes por aquário no crescimento do jundiá.
- c) Testar a palatabilidade das dietas formuladas com aminoácidos sintéticos
- d) Experimentos com dietas purificadas mas tendo como fonte protéica ingredientes práticos.

Um comportamento agonístico foi claramente observado durante a alimentação dos peixes esta “competição” foi confirmada através das biometrias realizadas, onde observou-se uma forte diferença de crescimento entre os peixes no mesmo tanque. Este efeito pode ter sido influenciado pela baixa densidade utilizada neste experimento (17 peixes/aquário) se comparado com a densidade utilizada em experimento anterior (23 peixes/ aquário), também utilizando dietas semipurificadas (MEYER e FRACALOSSO, 2004).

Infestações parasitárias e bacterianas foram observadas ao longo do ensaio experimental, o protozoário ictio, *Ichthyophthirius multifiliis*, e a bactéria *Flexibacter columnaris*, foram responsáveis por mortalidades durante o experimento. As infestações bacterianas foram controladas com o uso do antibiótico tetraciclina 0,06 g/L por uma hora e, para combater a infestação por ictio foi elevada a temperatura até 33°C.

Uma explicação para as recorrentes infecções por patógenos pode ser o fato de ter sido utilizado o mesmo sistema de recirculação onde outro experimento estava sendo realizado com a mesma espécie, mas de origem e tamanho diferentes. No futuro, é importante que as introduções de peixes no sistema de recirculação sejam feitas somente após quarentena e tratamento profilático, principalmente se estes peixes vem de viveiros de terra.

A forma de alimentação também é um ponto importante a ser considerado, já deve ser uma atividade realizada com muito cuidado para que se garanta que todos os peixes (ou a maioria) estejam recebendo a mesma quantidade de alimento. Para isso levou-se, em média, 2 horas por alimentação. Como a alimentação foi *ad libitum*, é necessário observar quando o peixe dominante deixa de comer e então continuar alimentando os demais peixes do aquário.

ANEXO

A)



B)



Figura 2. Sinais clínicos de deficiência de lisina em alevinos de jundiá alimentados com as dietas contendo 3% e 4% de lisina na proteína. A) Vista superior de um peixe com escoliose, B) Vista lateral de um peixe com lordose

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, I., KHAN, M.A. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture** v 235, p. 499-511. 2004.
- AKIYAMA, T., ARAI, S., MARAI, T., NOSE, T. Threonine, histidine and lysine requirements of chum salmon fry. **Bulletin of Japanese Society Science Fisheries**, v. 51, p. 635-639.1985.
- ANDERSON, S.J; LALL, S.P; ANDERSON, D.M.; Mc GIVEN, M.A. Quantitative dietary lysine requirement of Atlantic Salmon, *Salmo salar*, fingerlings. **Journal of Fisheries Aquatic Science** v.50 p.316-322. 1993.
- ARAI, S. A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 47, p. 547-550. 1981.
- ARAI, S., OGATA, H. Quantitative amino acid requirements of fingerlings coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). In: Proceedings of the 20th U.S. **Japan Symposium on Aquaculture Nutrition**. Newport, OR, Department of Commerce p. 19-28. 1991.
- BAKER, D.H.; HAN, Y. Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks post hatching. **Journal of Poultry Science**, v.73, p.1441-1447, 1994.
- BERGE, G.E; LIED, E. & SVEIER, H. Nutrition of Atlantic salmon, *Salmo salar* The requirement and metabolic effect of lysine. **Comparative Biochemistry Physiology** v.120 A, p. 477-485. 1998.
- BORLONGAN, I.G.; & BENITEZ, L.V. Quantitative lysine requirement of milkfish, *Chanos chanos*, juveniles. **Aquaculture** v. 87, p. 341-347. 1990
- BORLONGAN, I.G.; COLOSO, R.M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids. **Journal of Nutrition**, v.123, p.125-132, 1993.
- BROWN, M.L. Using whole-body amino acid patterns and quantitative requirements to rapidly develop diets for new species such as striped bass, *Morone saxatilis*. **Journal of Applied Ichthyology**, v.11, p.342-346, 1995.
- CARDOSO, A.P. Criação de lavas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com fígado bovino e de aves e com hidrolisados de fígado de peixe. Santa Maria: UFSM, 1998.70 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1998.
- COLBEDELLA, I.J., RADÜNZ NETO, J. Avaliação de fontes protéicas no Crescimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v32, n3, p.449-503, 2002.
- COWEY, C.B. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. **Aquaculture**, v.124, p.1-11. 1994.
- ENCARNAÇÃO, P., CORNELIS de LANGE, RODEHUTSCORD, M., HOEHLER, D., BUREAU, W., BUREAU, D.P. Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not

- dietary lysine requirements of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, for maximum growth. **Aquaculture** v 235, p. 569-589. 2004
- FAGBENRO, O.A; BALOGUN, A.M; FALAKIN, E.A; BELLO-OLUSOJI, O.A. Dietary lysine requirement of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal Applied Aquaculture** v. 8, p. 71-77. 1998.
- FORSTER, I.; OGATA, H. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, and juvenile red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture.**, v. 161, p.131-142. 1998.
- FRACALOSSO, D.M., ZANIBONI FILHO, E., MEURER, S. No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aqüicultura**, v.12, p.43-49. 2002
- FRACALOSSO, D.M; MEYER, G; WEINGARTNER, M.; SANTAMARIA, F.; ZANIBONI FILHO, E. Criação do jundiá, *Rhamdia quelen*, e dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região Sul do Brasil. **Acta Scientiarum**, v.26, n 3, p. 345-352. 2004.
- FURUYA, W. M., BOTARO, D. RIBEIRO NEVES, P., SILVA, L.C.R., H, C. Exigência de lisina pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1571-1577. 2004.
- GRIFFIN, M.E.; BROWN, P.P; GRANT, A.L. The dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass. **Journal of Nutrition** v.122, p. 1332-1337. 1992.
- HALVER, J. E., DE LONG, D.D., MERTZ, E.T. Threonine and lysine requirements of Chinook salmon. **Feeding Proceeding**, v.17,p.478.1958.
- HALVER, J.E. Nutrition of salmonid fishes, IV. An amino acid test diet for Chinook salmon. **Journal of Nutrition**, v.62, p. 245-254, 1957.
- KEEMBIYEHETTY, C.N., GATLIN III, D.M. Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops x Morone saxatilis*). **Aquaculture**, v.104, p. 271-277.1992.
- KETOLA, H.G, Amino Acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. **Comparative Biochemistry Physiology**. v. 73 B, No. 1, p.17-24, 1982.
- KIM, J.D., LALL, S.P. Amino acid composition of whole body tissue os Atlantic halibut (*Hppoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, v.187, p.367-373.2000.
- LOVELL, R.T. **Nutrition and Feeding of Fish**. 2 ed. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267p.
- MACHADO, J.H., CARRATORE, C.R.D., FRIZZAS, O.G., 2002., MURAROLLI, R.A., PEZZATO, A.C. Desempenho produtivo de alevinos de jundiá (*Rhamdia sp*) alimentados com diferentes níveis de proteína e energia. In: Urbinati, E.C. e Cyrino, J.E.P. (editores), XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura. **Anais do Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 24-29 de junho de 2002**, Goiânia, Brasil, p.89.

- MEYER, G. e FRACALOSSO, D. Muscle tissue amino acid composition of jundiá, *Rhamdia quelen*, and estimation of its essential amino acid requirements. **Scientia Agricola**, 2004.
- MEYER, G. e FRACALOSSO, D. Protein Requirement of jundiá fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, v.240, p.331-343, 2004.
- MOON, H.Y., GATLIN III, D.M. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, v.95, p.97-106, 1991.
- MURILLO-GURREA, D.P; COLOSO, R.M.; BORLONGAN, I.G; SERRANO, A.E. Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass, *Lates calcarifer*. **Journal of Applied Ichthyology**, v.17, p.49-53. 1999.
- PIAIA, R., RADUNZ NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas de jundiá, *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v27, n 2, p319-323, 1997.
- PORTZ, L. E J. E P CYRINO. 2003. Comparision of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass *Micropterus Salmoides* (Lacepède, 1802). **Aquaculture Research** v.34, p.585-592.
- RAVI, J., DEVARAJ, K.V. Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton). **Aquaculture**, v.96, p.281-291. 1991.
- ROBINSON, E.H., WILSON, R.P., POE, W.E. Arginine requirement and apparent absence of a lysine-arginine antagonist in fingerling channel catfish. **Journal of Nutrition**, v.111,p.46-52.1981
- RUCHIMAT, T., MASUMOTO, T., HOSOKAWA, H., ITOH, Y., SHIMENO, S. Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). **Aquaculture**, v.158, p.331-339.1997.
- SANDEL, L. J., e DANIEL, J. C. Effect of ascorbic acid on RNA levels in short term chondrocyte cultures. v. 17, p.12-22.1988.
- SANTIAGO, C.B.; LOVELL, R.T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, v.118, p.1540-1546, 1998.
- SILVERGRIP, A.M.C. **A Systematic Revision of the Neotropical Catfish Genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Stockholm, Sweden, 1996. 156 f. Tese - Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum Natural History, 1996.
- SMALL, B.C.; SOARES, J.H. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, v.6, p.207-212. 2000.
- STEFFENS, W. Principles of Fish Nutrition. Chichester, England, UK: Ellis Harwood, 1989. p. 184-289. 1989.
- TIBALDI, E., LANARI, D. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fed semipurified diets. **Aquaculture**, v.95, p.297-304. 1991.

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

ULIANA, O., SILVA, J.H.S., RADUNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídeos testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, v31, n1, p 319-333, 2001.

WILSON, R.P. Amino acids and Proteins. In: **Fish Nutrition**, Third edition, Ed: J.E. HALVER, Elsevier Science (USA). pp. 143-179, 2002.

WILSON, R.P., POE, W.E. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 80B, n. 2, p. 385-388. 1985.