

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Exigência em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816)**

**Jony Koji Dairiki**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba  
2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Jony Koji Dairiki  
Engenheiro Agrônomo

**Exigência em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis  
de dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816)**

Orientador:  
Prof. Dr. **JOSÉ EURICO POSSEBON CYRINO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor  
em Agronomia. Área de concentração: Ciência  
Animal e Pastagens

**Piracicaba  
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Dairiki, Jony Koji

Exigência em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis de dourado *Salminus  
brasiliensis* (Cuvier, 1816) / Jony Koji Dairiki. - - Piracicaba, 2009.  
137 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2009.  
Bibliografia.

1. Aminoácidos 2. Dourado 3. Nutrição animal 4. Qualidade da água 5. Soja  
I. Título

CDD

639.375

D134e

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

## DEDICATÓRIA

“À minha amada esposa Cintia Martins Alves Dairiki”

“Aos meus queridos pais Yutaka e Margarida”

“Aos meus queridos irmãos Ronny e Cristiane”

## AGRADECIMENTOS

A Deus, Mãe Maria e Jesus pela proteção, pedidos atendidos e pela minha vida.

A minha querida esposa Cintia pela compreensão, apoio imensurável e por ser minha fortaleza em todos os momentos.

Aos meus queridos pais Yutaka e Margarida pelo apoio incondicional, educação, exemplo e por serem os alicerces sólidos e inquebráveis da minha vida pessoal.

Aos meus queridos irmãos Ronny e Cristiane por serem meus confidentes, braços direito e esquerdo e por todos os momentos alegres e travessos da nossa infância.

Ao Professor Doutor José Eurico Possebon Cyrino pela orientação, ensinamentos e por ser o principal responsável pelo meu progresso profissional.

Aos técnicos de laboratório do Setor de Piscicultura Ismael Baldessin Junior e Sergio Vanderlei Pena por viabilizar todos os meus experimentos, pela ajuda e por serem meus verdadeiros amigos nesta caminhada.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio imprescindível na realização da pesquisa.

Ao Doutor Ricardo Borghesi e estagiário Fernando Rodrigo Sesso pela ajuda na condução dos experimentos, amizade e por todos os momentos de descontração e risadas.

Aos professores Adibe Luiz Abdala, Carlos Tadeu dos Santos Dias, José Fernando Machado Menten e Valdomiro Shigueru Miyada pelos ensinamentos, colaboração e amizade.

Aos amigos da “Mansão SS”, em especial Fernando C. Oye (Dão), Fábio Shigueo (Xivas), Ricardo Ucida (Gyodai), André Higuti (Glutios), Augusto S. Tokunaga (Tokunada), Felipe G. Hirata (Po-q-mon), Alberto Sunao Stolfi (Jamanta), Sérgio H.T. Kimoto (Ki-morto), César Y. Kanashiro (Rashi), Eduardo Kawakami (K-idakma), Davi E. Maeda (μ-çoxiro), Carlos E.T. Kimoto (7-Parmo), Carlos E. Ito (Apito), Maurício Yamada (Otxá) e Oscar Y. Ichida (Fuçaro).

Aos amigos da ESALQ Roberto Leach Pimentel (Tempero), Rodrigo Xavier da Silva (Tiradentis), Rafael Merighi Iftoda (Merengue), Fabiana Fumi Sasaki (Baguiña), Henrique Mumme Harger Silva (Logan) e Jussiara Vendemiatti (Zik).

Aos amigos de pós-graduação Aline M.C. Racanicci, Ana Maria, Andréa Costa, Daniela Bacconi, Geraldo Almeida, Leandro Portz, Gustavo Braga, Silvio Romero, Álvaro Bicudo, Ricardo Sado, Anderson Ferreira, Patrícia Pulleti, Ruy Bessa, Pricila Rizzo, Juliane Gaiotto, entre outros.

Aos ex-estagiários do Setor de Piscicultura Giovanni Vitti Moro (Mapi), Daniel H.B. Padrão (Inmetro), Gaspar Miura Yamasaki (Oba-q), Gustavo Silva (Du), Rafael Barone (K-lango) e Ana Paula O. Rodrigues (Aninha).

A amiga e professora Rosana e família pelos ensinamentos, cordialidade e amizade. A amiga Patrícia W.Z. Pereira pelo fornecimento da betaína, amizade e incentivo.

Ao Sr. Leandro Hackenhaar da empresa Evonik Degussa Brasil Ltda pelas análises dos ingredientes e tecidos corporais para determinação dos aminogramas.

Ao Professor Marcelo Zacarias Moreira e toda equipe do Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA - USP, Campus Piracicaba pela análise das amostras de água e incentivo.

A toda equipe do Laboratório de Ecologia Aplicada do Departamento de Ciências Florestais - ESALQ - USP e Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) pela análise das amostras de água.

A amiga Eliana Garcia pela eficiência na formatação da tese.

Aos meus queridos tios Paulo e Tiekko Uemoto pelo apoio e carinho e ao meu primo-irmão Patrick Mineo Uemoto por ser meu parceiro em todos os momentos.

Aos meus queridos “filhos de coração” que tanto me forneceram e fornecem alegrias desde os meus primeiros anos de vida.

Por fim, a todos que contribuíram na elaboração desta humilde obra.

**Muito Obrigado!**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE TABELAS .....	14
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
2.1 O dourado... ..	20
2.2 Nutrição de peixes – exigência em aminoácidos.....	23
2.3 Lisina .....	29
2.4 Arginina.....	31
2.5 Imbalanceo e Antagonismo Lisina x Arginina.....	33
2.6 Farelo de soja.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1 Quantificação da composição de aminoácidos dos tecidos corporais .....	42
3.2 Determinação da exigência em lisina (Experimento 1).....	44
3.3 Determinação da exigência em arginina (Experimento 2) .....	52
3.4 Uso do farelo de soja e aminoácidos sintéticos (Experimento 3).....	54
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.1 Qualidade da água - lisina.....	60
4.2 Desempenho - lisina .....	60
4.3 Regressão polinomial e segmentada - lisina.....	61
4.4 Sobrevivência, RHS, RLS, RVS e comprimentos (CT e CP) - lisina .....	71

4.5	Composição centesimal da carcaça - lisina .....	74
4.6	Parâmetros sanguíneos - lisina .....	76
4.7	Relação A/E de aminoácidos .....	77
4.8	Qualidade da água - arginina e farelo de soja.....	82
4.9	Desempenho - arginina .....	82
4.10	Regressão polinomial e segmentada - arginina .....	84
4.11	Sobrevivência, RHS, RLS, RVS e comprimentos (CT e CP) - arginina .....	93
4.12	Composição centesimal da carcaça - arginina.....	94
4.13	Parâmetros sanguíneos - arginina .....	96
4.14	Desempenho - farelo de soja.....	97
4.15	Sobrevivência, RHS, RLS, RVS e comprimentos (CT e CP) - f. de soja.....	99
4.16	Composição centesimal da carcaça - farelo de soja.....	100
4.17	Parâmetros sanguíneos - farelo de soja.....	102
4.18	Parâmetros de qualidade de água - farelo de soja.....	103
5	CONCLUSÕES.....	110
	REFERÊNCIAS.....	111
	APÊNDICE.....	135

## RESUMO

### **Exigência em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816)**

Poucos são os trabalhos relacionados com a determinação das exigências nutricionais por aminoácidos de espécies nativas brasileiras, dentre as quais se destaca o dourado, *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), o maior peixe de escamas da Bacia do Prata, espécie reofílica e ictiófaga que chama atenção pelo excelente sabor da carne e pela beleza de seu tegumento. Este trabalho teve por objetivo estudar a exigência em aminoácidos e o uso de fonte de proteína de origem vegetal - farelo de soja (FS) - na nutrição do dourado. A exigência em lisina foi determinada em ensaio dose-resposta e os dados coletados foram analisados por meio de regressão polinomial e segmentada. Foi utilizada a relação  $A/E = [(aminoácido\ essencial \div total\ de\ aminoácidos\ essenciais + cistina + tirosina) \times 1.000]$ , para estimar as exigências nutricionais dos demais aminoácidos essenciais. As unidades experimentais (UE) foram constituídas por lotes de 12 juvenis de dourado ( $11,4 \pm 0,2g$ ;  $9,4 \pm 0,9cm$ ) condicionados a aceitar ração seca (43%PB e 4.600kcal EB), alojados em caixas de polipropileno com capacidade de 300L, com troca parcial de água num sistema fechado de recirculação e aeração. Os tratamentos correspondiam aos níveis crescentes de lisina: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5% na dieta num delineamento inteiramente aleatorizado - DIA (n=4). A exigência dietética em lisina para peso final (PF), ganho de peso (GP) e taxa de crescimento específico (TCE) foi de 2,15% da dieta ou 5% da proteína dietética; 2,5% de lisina 5,8% da proteína dietética, resultou no melhor índice de conversão alimentar (CA). A exigência por arginina foi determinada em ensaio dose-resposta utilizando a relação A/E e perfil de aminoácidos corporais de dourado. As UE foram constituídas por lotes de 12 juvenis de dourado ( $27,0 \pm 0,8g$ ;  $12,6 \pm 0,7cm$ ) e os tratamentos correspondiam aos níveis crescentes de arginina: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% na dieta (DIA; n=4). A exigência dietética em arginina para PF, GP, consumo de ração e TCE foi de 1,48% da dieta ou 3,43% da proteína dietética. O valor 1,40% de arginina dietética ou 3,25% de arginina na proteína acarretou a melhor CA. O uso da regressão segmentada foi o mais apropriado para determinação da exigência dietética de lisina e arginina. A relação A/E foi uma ferramenta confiável para estimar níveis de exigência em aminoácidos essenciais. Para determinar efeitos do uso do farelo de soja em dietas para a espécie, grupos de 12 juvenis de dourado ( $27,0 \pm 0,8g$ ;  $12,6 \pm 0,7cm$ ) foram submetidos a um ensaio de desempenho alimentados com dietas formuladas com base nos seguintes ingredientes: farinha de peixe+aminoácidos sintéticos (FP), farelo de soja+aminoácidos sintéticos (FS) e mistura farinha de peixe+farelo de soja+aminoácidos sintéticos (MIX) (DIA; n=4). A excreção indireta de nitrogênio e fósforo dos animais foi avaliada por meio do monitoramento dos parâmetros de qualidade de água nos aquários utilizando lotes de 20 juvenis ( $74,3 \pm 10,6g$ ;  $18,7 \pm 0,8cm$ ) nas mesmas condições experimentais e com o uso das dietas da primeira parte do ensaio (n=3). Foram coletadas periodicamente (0, 2, 4 e 6 h pós-alimentação) amostras de água para determinação de amônio ( $NH_4^+$ ), amônia total ( $NH_3$ ) e fósforo total (P). O uso do farelo de soja e a suplementação de aminoácidos

sintéticos revelaram-se alternativas eficazes para substituir ou minimizar o uso da farinha de peixe na dieta desta espécie. Devido os resultados pouco conclusivos da excreção de metabólitos nitrogenados e de fósforo, maiores esforços precisam ser realizados para esclarecer este tópico de extrema importância para a consolidação de uma aquicultura sustentável.

Palavras-chave: Dourado; Lisina; Arginina; Aminoácido; Farelo de soja; Qualidade de água

## ABSTRACT

### **Amino acids requirement and soybean meal in juvenile dourado's *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) nutrition**

Only a few research report address dietary amino acids requirement of Brazilian fish; this is true especially in regard to dourado, *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), a migratory, carnivorous Characin, which is not only the largest scale fish of the Prata Basin but also a prized aquaculture and sport fishing species. This study address dietary amino acids requirements and the use of a plant protein source – soybean meal – in the nutrition and feeding of dourado. Dietary lysine requirements were determined in dose-response assay and collected data analyzed by polynomial and broken-line regression. The A/E relationship [ $AE = (\text{essential amino acid} + \text{total essential amino acids} + \text{cystine} + \text{tyrosine}) \times 1.000$ ] was used to estimate the nutritional requirements of other essential amino acids. Groups of 12 juvenile dourado ( $11.4 \pm 0.2\text{g}$ ;  $9.4 \pm 0.9\text{cm}$ ) were stocked in polypropylene tanks (300L) with partial water exchange in a closed recirculation, aerated system, conditioned to accept dry feed (43%CP and 4,600kcal CE), and then fed experimental diets containing increasing levels of lysine: 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0 and 3.5% in a completely randomized design (n=4). Dietary lysine requirement for optimal final weight (WF), weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) was 2.15% of diet or 5% of the dietary protein; 2.5% dietary lysine or 5.8% of lysine in dietary protein yielded optimum feed conversion rate (FCR). Dietary arginine requirements were also determined in dose-response assay, also based on A/E relationship and carcass amino acid profile of dourado. Groups of 12 juvenile dourado ( $27.0 \pm 0.8\text{g}$ ;  $12.6 \pm 0.7\text{cm}$ ) were fed with experimental diets containing increasing levels of arginine: 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 and 3.0% completely randomized design (n=4). Dietary arginine requirement for WF, WG, feed consumption and SGR was 1.48% of diet or 3.43% of the dietary protein; 1.40% dietary arginine or 3.25% of arginine in the protein caused the best FCR. The use of the broken-line regression was the most appropriate technique for determination of the dietary lysine and arginine requirement. A/E relationship was a reliable tool to estimate levels of essential amino acids requirements. To study the inclusion of soybean meal in diets for the species, the growth performance of groups of 12 juvenile dourado ( $27.0 \pm 0.8\text{g}$ ;  $12.6 \pm 0.7\text{cm}$ ) fed with diets containing fish meal+ synthetic amino acids (FM), soybean meal+synthetic amino acids (SM) and mix of fish meal+soybean meal+synthetic amino acids (MIX) was evaluated. The indirect excretion of nitrogen and phosphorus was also evaluated by monitoring water quality parameters in the tanks stocked with groups of 20 juvenile dourado ( $74.3 \pm 10.6\text{g}$ ;  $18.7 \pm 0.8\text{cm}$ ) in the same experimental conditions (n=3). Water samples were collected periodically (0, 2, 4 and 6 h after-feeding) for determination of ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), total ammonia ( $\text{NH}_3$ ) and total phosphorus (P). The use of soybean meal and synthetic amino acids are an efficient alternative to substitute or to minimize the use of the fish meal in the diets for the species, however, results regarding excretion of nitrogen and

phosphorus were inconclusive, so additional efforts are needed to clarify this issue of importance for the consolidation of a sustainable aquaculture.

Keywords: Dourado; Lysine; Arginine; Amino acid; Soybean meal; Water quality

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Regressões para os valores de peso final (PF) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆) .....	62
Figura 2 - Regressões para os valores de ganho de peso (GP), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	63
Figura 3 - Regressões para os valores de consumo em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	66
Figura 4 - Regressões para os valores de conversão alimentar (CA), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	67
Figura 5 - Regressões para os valores de taxa de crescimento específico (TCE), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	68
Figura 6 - Regressões para os valores de peso final (PF) em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆) .....	85
Figura 7 - Regressões para os valores de ganho de peso (GP), em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	85
Figura 8 - Regressões para os valores de consumo em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	87
Figura 9 - Regressões para os valores de conversão alimentar (CA), em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	88

Figura 10 - Regressões para os valores de taxa de crescimento específico (TCE), em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆) .....	89
Figura 11 - Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de ganho de peso individual (GPI), em função do nível de arginina na dieta .....	91
Figura 12 - Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de consumo individual (ConsI), em função do nível de arginina na dieta .....	91
Figura 13 - Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de conversão alimentar individual (CAI), em função do nível de arginina na dieta .....	92
Figura 14 - Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de taxa de crescimento específico individual (TCEI), em função do nível de arginina na dieta .....	92
Figura 15 - Excreção indireta de amônio de juvenis de dourado alimentados com dietas à base de farinha de peixe, farelo de soja e mistura farinha de peixe e farelo de soja (mix) .....	105
Figura 16 - Excreção indireta de amônia total de juvenis de dourado alimentados com dietas à base de farinha de peixe, farelo de soja e mistura farinha de peixe e farelo de soja (mix) .....	106
Figura 17 - Excreção indireta de fósforo total de juvenis de dourado alimentados com dietas à base de farinha de peixe, farelo de soja e mistura farinha de peixe e farelo de soja (mix) .....	108

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição em aminoácidos da carcaça de alevinos e adultos de dourado (matéria original) .....	42
Tabela 2 - Composição em aminoácidos do filé de dourado (matéria original) .....	43
Tabela 3 - Média final da composição de aminoácidos de carcaças de dourado .....	44
Tabela 4 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) da fonte de proteína utilizada no Experimento 1 (farinha de peixe = 19,84%) .....	46
Tabela 5 - Níveis de energia bruta dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais .....	47
Tabela 6 - Composição das dietas experimentais isoprotéicas (43% PB) e isoenergéticas (4.600 kcal/kg) do Experimento 1 (exigência em lisina) .....	48
Tabela 7 - Teste de níveis de inclusão de hidróxido de sódio e/ou betaína nas dietas e respectivos valores de pH .....	50
Tabela 8 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) da fonte de proteína utilizada no Experimento 2 (farinha de peixe = 22,56%) .....	53
Tabela 9 - Composição das dietas experimentais isoprotéicas (43% PB) e isoenergéticas (4.600 kcal/kg) do Experimento 2 (exigência em arginina) .....	54
Tabela 10 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) da fonte de proteína utilizada no Experimento 3 (farelo de soja = 31,04%) .....	57

Tabela 11 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) das fontes de proteína utilizadas no Experimento 3 (farelo de soja = 15,52% + farinha de peixe = 9,92%) .....	58
Tabela 12 - Composição das dietas experimentais isoprotéicas (43% PB) e isoenergéticas (4.600 kcal/kg) do Experimento 3 (farelo de soja) .....	59
Tabela 13 - Médias dos parâmetros de qualidade da água durante o experimento .....	60
Tabela 14 - Parâmetros de desempenho dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina* .....	61
Tabela 15 - Parâmetros de desempenho individual dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina* .....	61
Tabela 16 - Sobrevivência, relações corporais e comprimento dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina* .....	74
Tabela 17 - Composição centesimal (em matéria natural) das carcaças de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina* .....	75
Tabela 18 - Parâmetros sanguíneos dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina* .....	77
Tabela 19 - Relação A/E e exigência nutricional estimada dos aminoácidos essenciais .....	78
Tabela 20 - Comparação entre exigências nutricionais em aminoácidos determinadas para várias espécies .....	79

Tabela 21 - Médias dos parâmetros de qualidade da água durante os Experimentos 2 e 3 .....	82
Tabela 22 - Parâmetros de desempenho dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina* .....	83
Tabela 23 - Parâmetros de desempenho individual dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina* .....	83
Tabela 24 - Sobrevivência, relações corporais e comprimento dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina* .....	94
Tabela 25 - Composição centesimal (em matéria natural) das carcaças de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina* .....	95
Tabela 26 - Parâmetros sanguíneos dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina* .....	97
Tabela 27 - Parâmetros de desempenho dos juvenis de dourado alimentados com dietas: farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)* .....	98
Tabela 28 - Parâmetros de desempenho individual dos juvenis de dourado alimentados com dietas: farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)* .....	98

Tabela 29 - Sobrevivência, relações corporais e comprimento dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)* .....	100
Tabela 30 - Composição centesimal (em matéria natural) das carcaças de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)* .....	102
Tabela 31 - Parâmetros sanguíneos dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)* .....	103

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de pescado oriundo da pesca extrativista já se encontra estagnada e sem perspectiva de crescimento. A demanda por fontes protéicas saudáveis - dentre as quais se destaca o pescado - aumenta a cada dia e só poderá ser suprida pela aquicultura, que nos últimos anos apresentou um crescimento considerável (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2007).

Avanços recentes dos sistemas e definição dos regimes e estratégias de produção de peixes exigem que a piscicultura brasileira seja conduzida de forma mais intensiva, integrando geração de novas tecnologias, formação de recursos humanos e desenvolvimento de novos materiais. Estudos ligados à nutrição, manejo, reprodução, processamento e comercialização são imprescindíveis para o sucesso da criação e sustentabilidade da atividade.

Segundo Jobling et al. (2001), devido aos elevados custos ligados à nutrição na piscicultura, o aproveitamento adequado dos alimentos tem grande importância no sucesso da atividade e na redução do impacto ao meio ambiente. Estudos sobre a nutrição e determinação de exigências nutricionais são, portanto, ferramentas importantes para a consolidação de uma piscicultura comercial racional e com viabilidade econômica.

Poucos são os trabalhos relacionados com a determinação das exigências nutricionais de espécies nativas brasileiras, aminoácidos em particular, dentre as quais se destaca o dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), o maior peixe de escamas da Bacia do Prata, espécie reofilica e ictiófaga que chama atenção pelo excelente sabor da carne, pela beleza de tegumento e qualidades para a pesca esportiva, que garantem à espécie alto valor econômico.

A fonte mais tradicional de proteína e energia em dietas para organismos aquáticos é a farinha de peixe, cujo suprimento deve estar praticamente esgotado em meados da próxima década (NAYLOR, 1996; BARRET; ODUM, 2000; NAYLOR et al., 2001; VALDIMARSSON; JAMES, 2001; HILBORN; PUNT; ORENSANZ, 2004). Deste modo, a busca por sucedâneos à farinha de peixe deve ser intensa e incessante e o

uso do farelo de soja nas dietas de organismos aquáticos vem aumentando gradativamente, porém ainda existem muitos entraves relacionados ao uso deste ingrediente na alimentação e nutrição de espécies carnívoras (GATLIN III et al., 2007) e poucos são os estudos nacionais relacionados ao uso deste ingrediente para o dourado.

A poluição dos recursos hídricos, especialmente os de água doce, é cada vez mais questionada e recriminada. A água potável é um bem natural que poderá, em curto espaço de tempo, ser escassa e, desta forma, muitos problemas relacionados a este recurso poderão ser originados. Em contrapartida, o uso da água para a atividade de piscicultura não deve ser desestimulado. Porém, maiores cuidados em relação a minorar a emissão de poluentes e a manutenção da qualidade da água devem ser regra para a viabilização da piscicultura.

Os objetivos deste trabalho foram de determinar a exigência dos aminoácidos lisina e arginina, utilizando e comprovando a eficácia da relação A/E e o uso dos perfis corporais de aminoácidos do dourado como ferramentas para formulação de dietas para a espécie. O estudo foi estendido ao uso do ingrediente farelo de soja e aminoácidos sintéticos na nutrição de juvenis de dourado e avaliar os níveis de excreção de metabólitos de animais alimentados com fontes protéicas de origem animal e/ou vegetal.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O dourado

A aquicultura brasileira nasceu na década de 30, com Rodolpho von Ihering, no estado de São Paulo, que ao presenciar as piracemas nos rios Mogi Guaçu e Piracicaba, começou a pensar na domesticação de algumas espécies nobres destes rios como a piapara, *Leporinus sp.*, o curimbatá, *Prochilodus lineatus*, e o dourado, *Salminus maxillosus*, (CASTAGNOLLI, 2004). O dourado é o maior peixe de escama da Bacia do Prata e chama atenção pelo excelente sabor da carne, pela beleza de seu tegumento matizado de um amarelo dourado, pelo valor econômico e pelas qualidades para a pesca esportiva. O pirajú ou pirajuba - denominações indígenas do dourado - é um peixe da família Characidae, subfamília Salmininae, gênero *Salminus*. A espécie habita a Bacia do Prata, cuja parte Brasileira é em geral chamada de Bacia do Paraná em toda a sua extensão, além de ser espécie nativa no estado do Rio Grande do Sul, habitando o Rio Guaíba e seus afluentes (MORAIS-FILHO; SCHUBART, 1955). Também, habita a região pantaneira e os rios Uruguai e São Francisco (FRACALOSSO et al., 2004).

Atualmente são conhecidos três espécies de dourado. *Salminus affinis* habita o norte da Colômbia e parte do Equador; *Salminus brasiliensis*, incluindo os sinônimos *Salminus maxillosus* e *Salminus brevidens*, é a espécie mais conhecida e habita a porção sul da América do Sul; e *Salminus hilarii*, mais conhecida no Brasil como tabarana, é encontrada nos rios São Francisco, Paraná, Tocantis, Amazonas e Orinoco (RODRIGUEZ-OLARTE; TAPHORN, 2006). Em trabalho recente, Lima e Britski (2007) identificaram uma nova espécie de dourado na bacia do rio São Francisco. *Salminus franciscanus*, que distingue-se das demais por possuir diferenças anatômicas em relação aos dentes e nadadeira caudal, bem como caracteres merísticos, e.g. número de escamas.

Larvas e juvenis de dourado são reconhecidos como animais carnívoros generalistas, ou seja predam uma ampla gama de alimentos de origem animal. Neste grupo se destacam além de larvas de peixes de outras espécies, larvas de inseto, microcrustáceos, e organismos do zooplâncton como cladóceros e copépodos, entre

outros (RODRIGUEZ-OLARTE; TAPHORN, 2006; RIBEIRO; NUÑER, 2008). Em confinamento, larvas de dourado apresentam melhor desempenho quando alimentados com larvas do peixe curimatá; náuplios do microcrustáceo *Artemia salina* não promoveram bom crescimento e sobrevivência (<6%) da espécie, além de levarem a acentuado canibalismo (>92%). Em pisciculturas comerciais tem então se popularizado o uso de larvas de peixes “forrageiros” para alimentação de larvas de dourado (SCHUTZ; NUÑER, 2007).

O dourado adulto é uma espécie ictiófaga ou piscívora por excelência, ou seja, se alimenta exclusivamente de peixes e possui cavidade bucofaringeana anatomicamente adaptada à predação. A fenda oral ampla, o alargamento caudal da cavidade oral e a reduzida espessura do aparelho dentário faringeano favorecem a tomada e a ingestão de presas de maior porte. Nesta espécie, os dentes não concorrem para a preparação pré-digestiva do alimento, apenas penetram na presa, auxiliando sua apreensão (RODRIGUES; MENIN, 2006). Além disso, o dourado é um predador visual de intensa locomoção, ou seja necessita de incidência de luz no ambiente para visualizar e atacar a presa. Na ausência de luz, foi documentado que os dourados podem detectar presas por meio do uso dos receptores mecânicos localizados na linha lateral e desenvolvem um comportamento atípico de espera (SCHUTZ; NUÑER, 2007).

O dourado é uma espécie reofílica ou migratória, que necessita percorrer grandes distâncias rio acima para atingir os sítios de reprodução conhecidos como tributários, no fenômeno de migração conhecido popularmente como piracema. Com o início da estação chuvosa e aumento do fotoperíodo e temperatura, o dourado é estimulado para o processo migratório de reprodução. No Sudeste do Brasil, este período corresponde aos meses quentes compreendidos de outubro a março (ESTEVES; PINTO LOBO, 2001; MACHADO, 2003).

Fêmeas de dourado têm crescimento acentuado. O dimorfismo sexual não é facilmente visível e é transitório. Somente na época de reprodução, machos apresentam leve enrugamento da nadadeira anal, perceptível ao tato (WEINGARTNER; ZANIBONI-FILHO, 2005; RODRIGUEZ-OLARTE; TAPHORN, 2006; LIMA; BRITSKI, 2007). Em adição, Veiverberg et al. (2008), em estudo relacionado ao

rendimento de cortes de diferentes espécies de peixes nativos, observaram rendimento superior de filé de dourados (média de 43,45%) se comparados ao jundiá, *Rhamdia quelen* (média de 30,34%) e tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (média de 32,33%).

Morais-Filho e Schubart (1955) já mencionavam problemas como a pesca excessiva de dourados jovens na Cachoeira de Emas (Pirassununga-SP), a destruição dos caminhos naturais de migração pelas barragens, inundações dos tributários de desova pelas represas e o lançamento de resíduos industriais e domésticos. Se tais problemas já preocupavam há mais de meio século, atualmente sua intensificação tem resultado na escassez e mesmo extinção do dourado e outras espécies de peixes em algumas localidades.

Devido a alta esportividade, a espécie tornou-se um dos maiores atrativos da pesca esportiva nos rios da Bacia do Prata. Conseqüentemente, o dourado e outras espécies esportivas passaram a representar uma fonte de renda interessante para populações ribeirinhas, que podem trabalhar como guias de pesca (AMUTIO et al., 1986). Atualmente, é também possível encontrar exemplares de dourado nos pesque-pagues mais estruturados, resultado do intenso crescimento da atividade, especialmente, no período entre 1993 a 1996 (VENTURIERI, 2002).

Juntamente com a criação dos pesque-pagues, a procura por peixes esportivos, especialmente o dourado, impulsionou as pisciculturas para reprodução desta espécie, mesmo que ainda problemas relacionados com acentuado canibalismo sejam considerados entraves para a produção (BARAS; JOBLING, 2002; GOMIERO; BRAGA, 2004; ROCHA; CARVALHO; URBINATI, 2004; SCHUTZ; NUÑER, 2007; RIBEIRO; NUÑER, 2008). Do ponto de vista ambiental, a reprodução artificial é benéfica, pois auxilia na preservação e reposição dos estoques naturais. Porém, o impedimento da piracema pelos barramentos dos rios ainda representa um sério problema à preservação das espécies migradoras, esportivas ou não.

Os primeiros trabalhos relacionados com a nutrição do dourado foram realizados por Borgheti, Canzi e Fernandez (1990) e Borgheti et al. (1990) que utilizaram juvenis para determinar o melhor nível protéico para nutrição da espécie e larvas de dourado para testar dietas com andrógeno natural (testosterona),

respectivamente. Esforços relacionados com o estudo da nutrição, manejo e reprodução do dourado têm sido intensificados (COSER et al., 1984; SOUZA; SANCHES; RANTIN, 2001; GAZZOLA, 2003; MACHADO, 2003; SCHUTZ, 2003; VEGA-ORELLANA, 2003; MACHADO, 2004; MAI, 2004; ADAMANTE, 2005; RIBEIRO, 2005; SERAFINI, 2005; BRAGA et al., 2007; BRAGA; BORGHESI; CYRINO, 2008), mas são ainda insuficientes para determinar um padrão de exigência nutricional e de manejo para produção racional, sustentável e ecologicamente correta da espécie.

## **2.2 Nutrição de peixes – exigências em aminoácidos**

Para que o crescimento, reprodução e outras funções fisiológicas dos peixes confinados ocorram normalmente, é necessário que as exigências nutricionais sejam adequadamente atendidas, considerando-se as diferenças entre as espécies. Os alimentos encontrados pelos peixes na natureza e em condições extensivas de produção têm alta qualidade, apresentando composição nutricional próxima às exigências das espécies e, portanto, devem ser considerados na nutrição sob essas condições. Já em condições de produção em regime intensivo, onde o alimento natural é restrito, todos os nutrientes essenciais devem ser obtidos do alimento fornecido, o qual deve conter ingredientes altamente digestíveis e em proporções que permitam seu máximo aproveitamento (JOBILING et al., 2001).

Entre os nutrientes exigidos, proteínas e lipídios contribuem para a produção de energia em peixes, assim como nos animais terrestres. Porém, nos peixes, a exigência protéica é quantitativamente maior que a energética, como consequência de menor dispêndio de energia para locomoção, excreção nitrogenada e incremento calórico, e de maior capacidade de utilização de energia a partir do catabolismo de proteínas em relação aos carboidratos, os quais têm aproveitamento diferenciado de acordo com o hábito alimentar da espécie, sendo pequeno para os peixes carnívoros e maior para os onívoros (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 1993).

As proteínas são os principais constituintes orgânicos do tecido dos peixes, perfazendo 65 a 75% do total da matéria seca corporal. As diferentes fontes protéicas não são idênticas nutricional e biologicamente. O valor biológico de uma proteína varia

com a composição dos aminoácidos e suas respectivas disponibilidades. A deficiência ou baixa disponibilidade de aminoácidos essenciais leva a pobre utilização da proteína e, conseqüentemente menor crescimento e diminuição da eficiência alimentar dos peixes (ANDERSON et al., 1995; MASUMOTO et al., 1996).

O sucesso econômico da produção de peixes em geral depende principalmente do custo dos alimentos e particularmente das proteínas, que são primordiais para o crescimento animal e dessa forma, o componente mais caro das dietas artificiais (BORLONGAN, 1991; HERNÁNDEZ et al., 2007). Os peixes consomem proteínas na forma de alimento para obter aminoácidos. Os aminoácidos são exigidos pelos peixes basicamente para dois propósitos: primeiramente, para os processos que compreendem a manutenção da vida animal e segundo, para o crescimento, que consiste principalmente na deposição de proteína (COWEY, 1994; LIEBERT, 2005).

Liebert (2005) e Liebert e Benkendorff (2007) preconizam que para determinar as exigências por aminoácidos são necessárias avaliações criteriosas que precisam considerar fatores como espécie, idade e taxa de crescimento dos peixes, além disso, as perdas de aminoácidos pelos processos de absorção e utilização pós-absorção devem ser contabilizadas e melhor estudadas. A exigência para manutenção pode ser definida como a quantidade de um certo aminoácido que é ingerido pelo peixe para manter o seu equilíbrio em nitrogênio, que significa nenhum acréscimo de proteína (anabolismo) e em contrapartida, nenhuma quebra de proteína corporal para suprir a exigência (catabolismo) (ABBOUDI et al., 2006).

Grande quantidade de aminoácidos ingeridos é deaminada e seus esqueletos carbônicos são usados como fonte de energia. Dentre os compostos nitrogenados formados a partir de aminoácidos destacam-se: purinas (glicina ou glutamina), poliaminas e componentes metílicos (arginina e metionina), catecolaminas (fenilalanina), hormônios da tireóide (tirosina), carnitina (lisina), creatina (arginina ou glicina), histamina (histidina), taurina (cistina) e serotonina (triptofano).

Os aminoácidos são divididos em aminoácidos essenciais e não essenciais. A deficiência em aminoácidos essenciais em peixes provoca redução na utilização da proteína e, conseqüentemente, retarda o crescimento, diminui o ganho de peso e a

eficiência alimentar e reduz a resistência a doenças, pelo comprometimento dos mecanismos de resposta imunológica (STEFFENS, 1989; WILSON, 2002).

Fatores como espécie, idade dos peixes, hábito alimentar, sexo, variabilidade genética, níveis de energia e de proteína bruta dietética, fontes de proteína, presença de aminoácidos cristalinos na dieta, digestibilidade dos aminoácidos, formulação da dieta, práticas de alimentação, condições ambientais e de criação resultam em variações nas exigências nutricionais. Pela dificuldade em executar inúmeros experimentos com testes de dose-resposta para quantificação individual de cada aminoácido essencial, nutricionistas desenvolveram o conceito de proteína ideal - uso de relações ideais de aminoácidos como base para cálculo dos perfis de aminoácidos dietéticos - para solucionar este problema de determinação de exigências (WANG; FULLER, 1989; MOON; GATLIN III, 1991; CHUNG; BAKER, 1992; NRC, 1993 e RUCHIMAT et al., 1997).

O conceito de proteína ideal foi inicialmente descrito por Mitchell e colaboradores na década de 60 (PARSONS; BAKER, 1994 *apud* MIYADA, 2001). Resumidamente, o conceito define que existe uma combinação de aminoácidos ou proteína que é completa e prontamente disponível na digestão e metabolismo dos alimentos, e que esta combinação pode ser idêntica à composição (perfil) em aminoácidos do corpo e às exigências do animal para crescimento e manutenção das atividades metabólicas. A utilização do conceito de proteína ideal na nutrição de peixes permite ministrar aos mesmos, de forma precisa, todos os aminoácidos dietéticos exigidos e ainda diminuir a excreção nitrogenada (amônia) pelos peixes.

Para ser considerada ideal, uma proteína, ou uma combinação de proteínas, não deve apresentar excesso ou deficiência de aminoácidos. Todos os 20 aminoácidos devem estar presentes na dieta em quantidades precisas e nos níveis exigidos para máxima deposição corporal, além de suprir os gastos com manutenção. Na elaboração deste conceito, proposto como ideal na nutrição de animais monogástricos, todos os aminoácidos essenciais são expressos como taxas ideais ou porcentagem de um aminoácido referência, normalmente o mais limitante. Uma vez determinado o

aminoácido mais limitante, a exigência dietética para todos os aminoácidos pode ser rapidamente estimada (WILSON, 2002; PEZZATO et al., 2004; BOTARO et al., 2007).

O perfil ideal de aminoácidos oriundo da dieta pode ser definido como aquele que proporciona um ótimo crescimento. Este perfil ideal depende da eficiência de absorção individual de cada aminoácido (CONCEIÇÃO; GRASDALEN; RONNESTAD, 2003). Várias referências protéicas podem ser utilizadas como padrão de aminoácidos, por exemplo, a proteína de ovo de galinha, tecido ovariano, ovas, músculo ou carcaça de peixe (ROLLIN et al., 2003). Para formular dietas testes para juvenis de salmão, Arai (1981) introduziu a relação A/E, definida como a relação entre o conteúdo de cada aminoácido essencial e o total de aminoácidos essenciais na carcaça, incluindo cistina e tirosina, multiplicado por 1.000, e observou que peixes alimentados com as dietas formuladas segundo este conceito apresentavam maior crescimento e melhor eficiência alimentar.

Para Small e Soares Jr. (1998), o perfil de aminoácidos do tecido muscular de “striped bass”, *Morone saxatilis*, expresso como relação A/E, tem alta similaridade com as exigências nutricionais desta espécie. Sendo assim, os autores consideraram que usando esta metodologia, rações nutricionalmente adequadas, que não subestimam as exigências em aminoácidos ou incorporam proteína em excesso, podem ser rapidamente formuladas, reduzindo custos e tempo para o desenvolvimento e produção de rações para novas espécies.

Entretanto, Alam et al. (2002b) relataram que o uso do perfil de aminoácidos da carcaça de larvas e juvenis de linguado japonês e perfil de aminoácidos das ovas de “red sea bream”, *Pagrus major*, condicionaram menor desempenho de juvenis de linguado japonês, *Paralichthys olivaceus*, se comparado a dietas com o perfil de aminoácidos da farinha de peixe comum. Passados três anos, Alam et al. (2005) em novo estudo concluíram que juvenis de “red sea bream” podem aceitar altas quantidades de aminoácidos sintéticos e além disso, determinaram que o perfil de aminoácidos da carcaça de juvenis da mesma espécie pode ser uma apropriada referência para inclusão de aminoácidos dietéticos.

De acordo com Gunasekera, Shim e Lam (1997), o perfil de aminoácidos encontrados nos oócitos de fêmeas de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, mantém-se constante, mesmo que o nível de proteína na ração das fêmeas esteja abaixo da exigência nutricional da espécie. Em compensação, tecidos musculares de peixes alimentados com dietas pobres em proteína apresentam baixos níveis de aminoácidos. Desta forma, não basta determinar o perfil de aminoácidos de qualquer animal para definir o perfil de aminoácidos dietéticos; é necessário verificar e garantir que os animais utilizados para análise de aminoácidos e definição do perfil dos aminoácidos dietéticos, peixes em particular, estejam em bom estado de nutrição. De qualquer forma, a caseína, a gelatina, a farinha de peixe, o farelo de glúten de milho, o farelo de glúten de trigo, o farelo de soja, o farelo de milho e o tecido muscular de peixes são as principais fontes de proteína utilizadas como padrões de perfis de aminoácidos (GRIFFIN et al., 1992; BORLONGAN; COLOSO, 1993; RUCHIMAT et al., 1997; TIBALDI; TULLI, 1999; SMALL; SOARES JR., 2000; MEYER; FRACALOSSO, 2005; PERES; OLIVA-TELES, 2005; PERES; OLIVA-TELES, 2007).

A utilização de aminoácidos sintéticos tem permitido a elaboração de dietas com melhor balanceamento de aminoácidos. Os resultados obtidos com aminoácidos sintéticos parecem estar estreitamente relacionados aos ingredientes empregados, de acordo com sua inclusão e valor nutricional de seus aminoácidos, assim como do balanceamento da energia e dos demais nutrientes da ração. Portanto, os aminoácidos sintéticos devem ser utilizados para se obter rações com adequadas proporções de aminoácidos, no intuito de se maximizar a utilização da proteína da ração.

Aminoácidos livres são rapidamente absorvidos, muitas vezes em grande quantidade, sendo o excesso eliminado via catabolismo e produção de amônia. Desta forma, aminoácidos livres podem ser utilizados pelos peixes menos eficientemente que os aminoácidos ligados à fonte de proteína e, para evitar a perda de aminoácidos livres, o fornecimento restrito de ração e o aumento no número de refeições diárias (por exemplo intervalos de 3 horas) podem reduzir a perda de aminoácidos livres (BRITZ; BACELA; HECHT, 1997; RODEHUTSCORD et al., 2000b; FURUYA et al., 2005). Tibaldi, Tulli e Lanari (1994) relataram que oito refeições diárias melhoraram a utilização dos

aminoácidos cristalinos e crescimento dos juvenis de “sea bass”, *Dicentrarchus labrax*. A conclusão dos autores foi ratificada pelos resultados da análise de aminoácidos livres no sangue, que revelou que os aminoácidos permaneceram em níveis estáveis com a alta frequência de arraçoamento. Os resultados de Li e Robinson (1998), que alimentando juvenis de bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, apenas uma única vez ao dia não observaram melhor desempenho dos peixes arraçados com suplementação de aminoácidos cristalinos, corroboram as observações de Tibaldi, Tulli e Lanari (1994). Finalmente, Zarate e Lovell (1997) relataram que a eficiência de utilização da lisina ligada à fonte protéica em relação ao desempenho de juvenis de bagre do canal é cerca de 197% superior àquela de juvenis alimentados com aminoácidos.

Para comprovar a alta absorção dos aminoácidos cristalinos livres, Schuhmacher, Wax e Gropp (1997) definiram que maiores picos de aminoácidos no plasma sanguíneo são observados em trutas arco-íris alimentadas com aminoácidos livres. Neste caso, o pico de aminoácidos ocorre mais rapidamente e em altos valores. Desta forma, segundo estes pesquisadores, a maior quantidade de aminoácidos cristalinos no plasma sanguíneo pode levar a intensa atividade catabólica.

Applebaum e Ronnestad (2004) examinaram a habilidade de larvas de “halibut” do Atlântico, *Hippoglossus hippoglossus*, em absorver, incorporar e catabolizar aminoácidos livres não essenciais (alanina e glutamina) e essenciais (arginina e lisina) utilizando soluções destes aminoácidos marcados com  $^{14}\text{C}$ . A absorção intestinal dos aminoácidos livres foi rápida, com média de 71% de absorção em apenas 30 minutos pós-alimentação. A evacuação dos aminoácidos livres foi muito baixa (apenas 6%), comprovando a alta absorção intestinal (94%).

Resultados com pós-larvas do linguado senegalês, *Solea senegalensis*, e larvas de arenque, *Clupea harengus*, demonstraram alta retenção corporal (>60%) de aminoácidos essenciais marcados com  $^{14}\text{C}$ . Em contraste, em relação aos aminoácidos não essenciais foram observados alto catabolismo (>40%) e baixa retenção (<57%), comprovando-se assim o uso preferencial de aminoácidos não essenciais como substrato energético (CONCEIÇÃO; GRASDALEN; RONNESTAD, 2003).

Zarate e Lovell (1997) verificaram que depois de 15 segundos em contato com a água, 13% da lisina presente em dietas formuladas para bagre do canal, na forma de lisina livre é perdida, enquanto que em dietas contendo lisina ligada à fonte de proteína, a perda é de apenas 2%. Para evitar a lixiviação de aminoácidos cristalinos, Tibaldi, Tulli e Lanari (1994), Berge, Lied e Sveier (1997), Rollin et al. (2003) e Peres e Oliva-Teles (2008) recomendam o uso de caseína ou ágar como revestimento. Outra vantagem do uso destes produtos é o efeito de retardamento na absorção dos aminoácidos cristalinos no sistema digestório dos peixes. Para Alam et al. (2002a), o revestimento das rações com carboximetilcelulose é eficaz para evitar a lixiviação de aminoácidos. Shipton, Britz e Walker (2002) testaram duas técnicas de microencapsulação de lisina livre com gelatina e celulose na nutrição de “abalone” sul africano *Haliotis midae*, porém estes autores não verificaram nenhuma melhora nos resultados de crescimento dos animais experimentais com o uso destas técnicas.

Por fim a deficiência de proteína dietética e, principalmente, de aminoácidos, pode prejudicar a função imunológica e aumentar a susceptibilidade a infecção de doenças. Alguns estudos indicam funções importantes de alguns aminoácidos - alanina, arginina, glutamina e cistina - relacionados à ativação e proliferação de linfócitos T e B e de macrófagos; a produção de anticorpos; entre outras funções (LI et al., 2007). Além disso, a deficiência de alguns aminoácidos prejudica a produção de eritrócitos (eritropoiese) e hemoglobina, causando anemia (CAMARGO; POUHEY; MARTINS, 2005).

### **2.3 Lisina**

A lisina, um aminoácido essencial, é frequentemente o aminoácido mais limitante em alimentos para peixes tropicais (BROWN; DAVIS; ROBINSON, 1988; GRIFFIN; BROWN; GRANT, 1992; SCHUHMACHER; WAX; GROPP, 1997; ENCARNAÇÃO; LANGE; BUREAU, 2006; ABBOUDI et al., 2006; EL-HAROUN; BUREAU, 2007; BALL; URSCHER; PENCHAZ, 2007; PERES; OLIVA-TELES, 2008). Segundo o NRC (1993), a exigência em lisina para peixes varia entre 1,2 a 2,9% da dieta (3,7 a 6,1% da proteína dietética), sendo os valores mais altos normalmente

relacionados a peixes carnívoros. Coyle, Tidwell e Webster (2000) relataram que a exigência em lisina do “black bass”, *Micropterus salmoides*, é de 2,8% da dieta ou 6,0% da proteína dietética. Dairiki, Dias e Cyrino (2008) determinaram para a mesma espécie, exigência de 2,1% de lisina na dieta e de 4,9% de lisina na proteína dietética.

Níveis deficientes de lisina em dietas para truta arco-íris causam, principalmente, redução na taxa de formação do colágeno (STEFFENS, 1989). As fontes de proteína utilizadas nas rações de peixes devem conter níveis adequados de lisina para cada espécie, caso contrário, as dietas devem ser suplementadas com este aminoácido. Níveis adequados de lisina, melhoram consideravelmente, a taxa de sobrevivência e crescimento dos peixes, além de prevenir mortes por erosões na nadadeira caudal e deformações nas nadadeiras dorsal, peitoral e ventral (HALVER, 1989; KEEMBIYEHETTY; GATLIN III, 1992).

A lisina é o aminoácido mais importante entre os aminoácidos essenciais para o crescimento e pode ser utilizado como aminoácido de referência porque (a) é um aminoácido estritamente essencial, não apresentando nenhuma via de síntese endógena; (b) ao contrário dos aminoácidos sulfurados, possui metabolismo básico e único, orientado para deposição de proteína corporal; e (c) as análises laboratoriais para determinação dos seus níveis nos ingredientes, rações e tecidos são bastante precisas (WILSON, 2002; WILSON, 2003; PERES; OLIVA-TELES, 2008). Rodehutschord et al. (2000b) observaram que a lisina, na forma de aminoácido cristalino L-lisina.HCl, é 100% disponível para trutas arco-íris e a suplementação de lisina pode aumentar a concentração de proteína e diminuir a concentração de lipídios corporal, fenômeno interessante do ponto de vista de produção de alimento mais saudável. Em outro trabalho comparando formas de lisina, Rodehutschord et al. (2000a) verificaram que trutas arco-íris alimentadas com dietas contendo L-lisina sulfato também apresentam desempenho otimizado, ou seja, ambas as formas de lisina cristalinas, obtidas por fermentação bacteriana estão, aparentemente, prontamente disponíveis para peixes.

A lisina cristalina é o terceiro aminoácido mais produzido em escala comercial e pode ser obtida por fermentação (80% do total produzido) e por síntese química (20% restantes). Coello et al. (2002, 2003) demonstraram que a silagem de peixe - obtida a

partir de resíduos de cabeça, nadadeiras, fragmentos de esqueleto e carcaças - adicionada de carboidratos pode ser eficiente substrato para produção de L-lisina por fermentação pela bactéria *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21.543. Assim, ao invés de usar um substrato comum - fontes de carbono, nitrogênio e nutrientes inorgânicos - pode-se obter L-lisina por meio do uso de subprodutos do processamento de peixes, extremamente baratos e de fácil produção.

A lisina pode ser adicionada em dietas para peixes por meio da inclusão de subprodutos de origem animal, e.g farinhas de carne, de sangue e de subprodutos avícolas. Porém, deve-se ressaltar que o uso descontrolado destes ingredientes pode acarretar problemas relacionados ao desequilíbrio de aminoácidos, uma vez que estas fontes são ricas em lisina, porém deficientes em outros aminoácidos essenciais, como a isoleucina (EL-HAROON; BUREAU, 2007). Além disso, devido à alta diversidade de formas de processamento e qualidade destas farinhas, muitas vezes a biodisponibilidade da lisina é prejudicada.

Estudos relacionados ao uso da lisina dietética no metabolismo de trutas arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (HIGGINS et al., 2005) e a atuação deste aminoácido no sistema endócrino de salmões do Atlântico *Salmo salar* (HEVROY et al., 2007) são recentes, inéditos e escassos. Em relação ao dourado, espécie nativa nacional, trabalhos deste natureza, inclusive os mais simples - exigência - ainda são inexistentes.

## 2.4 Arginina

A arginina é um aminoácido básico (ponto isoelétrico pH=11,1) essencial para peixes (LALL et al., 1994; BERGE; LIED; SVEIER, 1997; BRITZ; BACELA; HECHT, 1997; TULLI et al., 2007; KUÇUKBAY et al., 2008). Entretanto, ao contrário da lisina, a arginina não é um dos aminoácidos mais limitantes em ingredientes na produção de dietas para peixes. Segundo o NRC (1993), a exigência em arginina para peixes varia entre 1,0 a 2,8% da dieta (3,3 a 6,0% da proteína dietética). A exigência por arginina varia entre espécies e classes: animais ruminantes, coelhos e ratos possuem baixa exigência por arginina dietética; já felinos, cães, aves e peixes possuem alta exigência. Em alguns casos, a arginina dietética é necessária para algumas fases da vida animal. No

caso de suínos jovens, por exemplo, a exigência é alta. Porém, suínos maduros e em gestação podem exigir baixas quantidade de arginina dietética ou até mesmo dispensar a suplementação devido à alta produção de arginina endógena nestas fases (BALL; URSCHER; PENCHAZ, 2007).

A arginina, ao contrário da lisina, é envolvida em muitas vias metabólicas, tais como síntese de proteínas, produção de uréia, metabolismo de ácido glutâmico e prolina, síntese de creatina, óxido nítrico e poliaminas (NIKOLIC et al., 2007; REBECA, 2008). Em peixes de água doce, a atividade do ciclo de uréia - que é uma via de síntese de arginina - é muito baixa se comparada com mamíferos.

Em relação à participação da arginina no ciclo da uréia, os peixes em geral mesmo sendo caracterizados como animais amoniotélicos (liberam nitrogênio predominantemente na forma  $\text{NH}_4^+$  por difusão passiva na água), também podem excretar nitrogênio na forma de uréia (em especial os peixes pulmonados, como o “mudskipper”, *Periophthalmodon schlosseri*, em tempo de seca, e os ciclídeos africanos que vivem em lagos com pH elevado). Poucos são os estudos que comprovam a existência de um ciclo ativo da uréia em peixes em geral. Por meio deste ciclo, a arginina pode ser formada a partir de várias reações catalizadas por enzimas e outros compostos como a ornitina e a citrulina. Dessa forma, assim como ocorre em diversos animais ureotélicos (mamíferos terrestres) a deficiência por arginina na dieta pode ser suprida pela arginina oriunda deste ciclo (CHIU; AUSTIC; RUMSEY, 1986; BERGE; LIED; SVEIER, 1997; LUZZANA; HARDY; HALVER, 1998; RANDALL; TSUI, 2002; BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2004).

Kaushik et al. (1988) observaram em trutas arco-íris que o catabolismo de arginina - avaliado pelos níveis de uréia plasmática e de excreção da uréia urinária - aumentou quando os animais foram alimentados com arginina dietética acima de 1,4%. Além disso, verificaram um aumento dos níveis séricos de creatina com níveis elevados de arginina dietética. Comprovaram, assim, que a produção de uréia em peixes de água doce pelo ciclo da uréia é realizada e o mesmo foi altamente influenciado pelo nível de arginina na dieta e mais precisamente controlado pelo nível de arginina livre no fígado.

Estudos prévios com mamíferos têm estabelecido que a síntese de arginina - por meio da utilização de citrulina derivada do glutamato - pode ser a principal fonte endógena de arginina. Buentello e Gatlin III (2000) avaliaram a resposta de juvenis de bagre do canal alimentados com dietas em que a arginina era substituída por glutamato ou glicina (dois aminoácidos não essenciais), e concluíram que em dietas com níveis baixos de suplementação de arginina sintética, a citrulina, derivada do precursor glutamato, pode substituir e suprir a deficiência de arginina. A glicina adicionada não promoveu melhora no desempenho e conseqüentemente foi descartada como precursora de compostos para produção de arginina endógena. Os mesmos autores concluíram ainda que o glutamato pode substituir cerca de 33% da arginina nas dietas para a espécie e o glutamato é um substrato eficiente para síntese *de novo* de arginina.

A suplementação de arginina em dietas para peixes pode ser feita pela arginina sintética, porém esta arginina é facilmente lixiviada em contato com a água, e a velocidade de lixiviação é muito rápida - 5 horas para perda total de arginina em uma dieta teste na água - e, além disso, com a lixiviação ocorre um aumento significativo do pH da água. Para evitar a elevada perda deste aminoácido, técnicas como o revestimento da arginina com óleo, carboximetilcelulose ou outras substâncias são atualmente empregadas com sucesso (BRITZ; BACELA; HECHT, 1997; ALAM et al., 2002a).

## **2.5 Imbalance e Antagonismo Lisina x Arginina**

Para se obter um bom crescimento e ótima conversão alimentar, peixes precisam obter aminoácidos de fontes protéicas que tenham um perfil equilibrado de aminoácidos. Imbalances de aminoácidos podem acarretar em baixa utilização da proteína dietética (BERGE; SVEIER; LIED, 2002). Nestes casos a suplementação de aminoácidos sintéticos se faz necessária.

Fisher et al. (1960) determinaram que frangos são susceptíveis ao imbalance de aminoácidos. Os mesmos autores citam que uma condição de imbalance pode ser criada por meio da adição de uma mistura deficiente em um aminoácido essencial e esta é acentuada no intervalo acima da exigência para manutenção e abaixo da exigência para

ótima taxa de crescimento. Além disso, observaram que um dos principais sinais relacionado ao desequilíbrio de aminoácidos é a redução do consumo do alimento.

Em estudo com alevinos de trutas arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, alimentados com diferentes fontes proteicas vegetais (glutenose de trigo, glutenose de milho, entre outros), Thu et al. (2007) observaram redução de consumo de alimento decorrente do desequilíbrio dietético de aminoácidos. Os autores atribuíram o problema aos diferentes perfis de composição de aminoácidos destas fontes proteicas vegetais, bem como à (baixa) digestibilidade e aceitabilidade dos ingredientes. Lall et al. (1994) citam que peixes alimentados com dietas com deficiência ou desequilíbrio de um aminoácido essencial possuem baixa taxa de oxidação do mesmo aminoácido. A taxa de oxidação aumenta gradualmente até se estabilizar à medida que o nível de suplementação do aminoácido encontra a exigência do peixe (denominado o ponto ótimo).

Estudando diferentes espécies de animais, Ball, Urschel e Penchaz (2007) concluíram que animais jovens e em crescimento são mais susceptíveis aos problemas relacionados com desequilíbrios e antagonismos de aminoácidos. Nestes casos, a suplementação do aminoácido deficiente e do antagonizado podem reduzir ou solucionar estes problemas, respectivamente.

Alguns estudos relacionados com o antagonismo lisina e arginina para peixes têm sido conduzidos por meio da adaptação de modelos desenvolvidos inicialmente para mamíferos. Dabrowski et al. (2007) citam que, para ratos, qualquer problema de deficiência nutricional em aminoácidos é visualizado rapidamente pela perda de apetite e baixa ingestão de alimento. Para os peixes, esta recusa por alimento não ocorre de forma acentuada e depende muito da palatabilidade da ração.

Kaushik et al. (1988) observaram em juvenis de truta arco-íris, diminuição da digestibilidade da lisina em tratamentos com excesso de arginina. Como conclusão, atribuíram esta diminuição da digestibilidade da lisina pela competição entre os dois aminoácidos pela via de absorção intestinal e identificaram este problema como sinal evidente de antagonismo lisina x arginina.

A arginina é hidrolisada numa reação catalisada pela arginase para formação de uréia e ornitina na fase final do ciclo da uréia (HUNTER, 1929; BERG; TYMOCZKO;

STRYER, 2004; NIKOLIC et al., 2007; REBECA, 2008). Alguns trabalhos identificaram a atividade desta enzima como um dos sinais primários para a caracterização do ciclo da uréia e de possível antagonismo lisina e arginina em peixes (LALL et al., 1994; BERGE; LIED; SVEIER, 1997). Porém, segundo os mesmos autores, não é possível determinar com acurácia a exigência em arginina pela medição da atividade da arginase no fígado e rim de peixes alimentados com diversos níveis de arginina dietética.

A menor porcentagem de sobrevivência, em especial nas dietas com excesso de lisina dietética, pode estar relacionada com o antagonismo entre os aminoácidos lisina e arginina. Tibaldi, Tulli e Lanari (1994) citam que a desproporcionalidade de lisina e arginina na dieta pode provocar redução no consumo de alimento e competição de cada aminoácido pela via de absorção no intestino. Ainda, segundo Berge, Sveier e Lied (1998), altas concentrações de lisina podem estimular a atividade da enzima arginase no fígado dos peixes. A arginase é uma enzima importante na decomposição de arginina em ornitina e uréia (excreção). Uma vez estimulada, a produção de uréia por meio da arginase é intensificada e conseqüentemente, a arginina para formação de proteína é perdida neste processo. Segundo Berge, Sveier e Lied (2002) o principal sinal de desbalanço de lisina e arginina - antagonismo e competição pela via de absorção - é o menor crescimento dos peixes. Berge, Bakke-McKellep e Lied (1999) comprovaram através de estudos de intestinos de salmão do Atlântico *in vitro*, que os aminoácidos básicos lisina e arginina dividem o mesmo transportador na membrana da borda escova do intestino (relacionada com a absorção) e conseqüentemente detectaram interações entre estes dois aminoácidos, porém os sinais desta interação não foram evidentes e claros. Efeitos de antagonismo também podem ser observados em outros aminoácidos essenciais, tais como a leucina, a isoleucina e a valina (em trutas arco-íris), porém neste caso, poucos são os trabalhos que explicam este tipo de antagonismo entre estes aminoácidos de cadeia ramificada e os sinais característicos deste problema se resumem à redução de consumo de ração e a diminuição da concentração destes nos tecidos corporais (YAMAMOTO; SHIMA; FURUITA, 2004).

## 2.6 Farelo de soja

A farinha de peixe, principal fonte protéica utilizada na formulação de dietas para aquicultura, contém 51 a 72% de proteína bruta e 1,67 a 4,21% de fósforo. A farinha de peixe é considerada alimento padrão em ensaios experimentais em função de seu elevado valor biológico, consequência de seu equilíbrio em aminoácidos, níveis de Ca e P, alto conteúdo de ácidos graxos insaturados e níveis de vitaminas lipo e hidrossolúveis (PEZZATO, 1995; MASUMOTO et al., 1996; GLENCROSS; BOOTH; ALLAN, 2007; LUNGER et al., 2007; PIEDECAUSA et al., 2007). Espe et al. (2007) preconizam o uso da farinha de peixe como ingrediente indispensável na confecção de dietas para peixes, uma vez que, em estudos prévios, determinaram que dietas confeccionadas sem este ingrediente causam diminuição de até 13% no consumo de ração e, conseqüentemente, de até 10% do crescimento de salmões do Atlântico.

O uso de fontes vegetais na formulação de rações permite a obtenção de dietas menos poluentes e mais econômicas, pois além da alta concentração de fósforo, a farinha de peixe é um ingrediente caro, com baixa padronização de produção e está relacionada ao desembarque de pescado, que é cada vez menor como resultado da redução dos estoques pesqueiros (NAYLOR, 1996; BARRET; ODUM, 2000; NAYLOR et al., 2001; VALDIMARSSON; JAMES, 2001; HILBORN; PUNT; ORENSANZ, 2004). Cheng et al. (2003b) relatam que, nos anos em que ocorre o fenômeno “El Niño”, a produção de farinha de peixe decresce 20%, evidenciando a estreita relação da produção de farinha de peixe com as capturas mundiais.

Reduções nos custos de produção podem ser obtidas otimizando as estratégias de alimentação, pelo correto balanceamento das dietas e pelo uso de fontes de origem vegetal. Todas estas práticas são importantes para garantir a sustentabilidade da aquicultura e a diminuição da dependência da farinha e o óleo de peixe oriundos da pesca extrativista (AI; XIE, 2006; AI et al., 2006; FORDE-SKJAERVIK et al., 2006; WANG et al., 2006; GATLIN III et al., 2007; GLENCROSS; BOOTH; ALLAN, 2007; LUNGER et al., 2007; AKNESS et al., 2008; MARTÍNEZ-LLORENS et al., 2008).

As fontes protéicas de origem vegetal normalmente apresentam menor digestibilidade, são deficientes em metionina, lisina, treonina e triptofano, podem

possuir altos níveis de fibra e demandam processamento adequado para destruição dos fatores antinutricionais que podem prejudicar o desempenho dos peixes (WEBSTER; GOODGAME-TIU; TIDWELL, 1995; ESPE et al., 2007; ZHANG, et al., 2008). Entretanto, apresentam-se como opção mais econômica para a confecção de dietas para peixes (LOVELL, 1985).

A taurina é considerada um aminoácido não essencial para peixes e normalmente a suplementação deste aminoácido é realizada por meio da inclusão de fontes protéicas de origem animal. Lunger et al. (2007) destacam a ausência da taurina em farelos vegetais e, dessa forma, elevadas taxas de inclusão de proteínas vegetais podem acarretar na diminuição da disponibilidade deste aminoácido, especialmente na nutrição de peixes carnívoros e jovens, animais que demandam maior quantidade de aminoácidos nas dietas para manutenção e crescimento. Matsunari et al. (2008) destacam que a inclusão de apenas 0,5% de taurina na dieta pode melhorar o crescimento e o desempenho de juvenis de “red sea bream”, *Pagrus major*; Gaylord et al. (2007) concluíram que juvenis de trutas arco-íris apresentaram melhor desempenho quando alimentados com suplementação de taurina dietética.

O uso de fontes protéicas de origem vegetal precisa estar acompanhado da inclusão de aminoácidos sintéticos para suprir possíveis deficiências de aminoácidos e consequentemente satisfazer a exigência animal (THU et al., 2007; GATLIN III et al., 2007). Ambardekar e Reigh (2007) citam que na produção de bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, são utilizados ao menos 90% de ingredientes de origem vegetal e relatam que a deficiência de alguns aminoácidos essenciais oriundos destes produtos é suprida com a inclusão de aminoácidos cristalinos sintéticos.

O farelo de soja, subproduto resultante da extração de óleo do grão de soja, *Glycine max* (L.), apresenta razoável balanço de aminoácidos; pode substituir até 50% da farinha de peixe em dietas para trutas e 94% para espécies onívoras; é um ingrediente mais barato do que a farinha de peixe e apresenta grande disponibilidade (LOVELL, 1990; DAVIS; JIRSA; ARNOLD, 1995; CHOU et al., 2004; AI; XIE, 2005; AI; XIE, 2006; HEIKKINEN et al., 2006; REFSTIE et al., 2006; TIBALDI et al., 2006; VENOU et al., 2006; WANG et al., 2006; HERNÁNDEZ et al., 2007). O farelo de soja, que

contém 44,8 a 50% de proteína e somente 0,6 a 0,7% de fósforo (NRC, 1993), é o ingrediente mais estudado como fonte protéica vegetal para peixes.

Segundo Sardar et al. (2008), a proteína da soja é caracterizada principalmente pela deficiência em metionina. Os autores preconizam a inclusão de metionina sintética em dietas baseadas em farelo de soja para promover ótimo crescimento e bom estado imunológico dos peixes em geral. Além disso, o farelo de soja possui fatores antinutricionais como inibidores de tripsina, lecitinas e saponinas; presença de ácido fítico (que complexa e torna indisponível minerais essenciais); oligossacarídeos indigestíveis (rafinose e estaquiase); polissacarídeos não amiláceos; compostos alergênicos, e dependendo da espécie de peixe, pode ser um ingrediente não palatável (DAVIS; JIRSA; ARNOLD, 1995; EL-SAYDY, 2002; CHOU et al., 2004; AI; XIE, 2005; ZHOU et al., 2005; BONALDO et al., 2006; FORDE-SKJAERVIK et al., 2006; TIBALDI et al., 2006; GATLIN III et al., 2007; HANSEN et al., 2007b).

O fósforo é um dos macrominerais essenciais para peixes. Dietas com elevada inclusão de farelo de soja são caracterizadas por apresentar apenas um terço do fósforo disponível para a nutrição de peixes (LOVELL, 1990). O restante é complexado pelo ácido fítico presente neste ingrediente. Biswas et al. (2007) preconizam o uso da enzima fitase - fornecida de forma exógena misturada às dietas - num nível adequado de inclusão de 2.000 unidades de fitase ativa em juvenis de “red sea bream”, *Pagrus major*. Com o uso da fitase o complexo fitato-fósforo é quebrado e dessa forma o fósforo é absorvido e aproveitado pelos peixes e conseqüentemente, menor é a excreção de fósforo no meio aquático. Dietas com a inclusão de 1.000 e 2.000 unidades de fitase ativa apresentaram melhor digestibilidade da proteína e disponibilidade do fósforo e conseqüentemente promoveram um melhor desempenho e maior deposição de cálcio e magnésio no tecido ósseo e escamas de juvenis de tilápia do Nilo (PORTZ; LIEBERT, 2004).

Portz e Cyrino (2004) demonstraram que as proteínas vegetais podem ser usadas em rações para o “black bass”, diminuindo conseqüentemente a dependência de farinha de peixe como fonte primária de proteína e reduzindo com isso, o custo final da ração. Cheng et al. (2003a, 2003b) relataram bom desempenho de trutas arco-íris,

*Onchorhynchus mykiss*, alimentadas com proteína vegetal substituindo 50% a 53% da farinha de peixe e suplementação de lisina na dieta. Cheng et al. (2003a) observaram ainda que o uso de proteína vegetal e suplementação de lisina enseja menores taxas de excreção de amônia e fósforo, em comparação a trutas arco-íris alimentadas somente com farinha de peixe, e que a porcentagem de proteína na ração pode ser reduzida de 46% para 43% com o uso de fonte vegetal e lisina sintética (CHENG et al., 2003b).

Em contrapartida, Davies e Morris (1997) observaram piora no desempenho de trutas arco-íris alimentadas com dietas em que 66% da farinha de peixe era substituída por farelo de soja, mesmo com suplementação de aminoácidos cristalinos. Também Mambrini et al. (1999) relataram que a substituição total da farinha de peixe por concentrado protéico de soja com suplementação de DL-metionina resulta em menor crescimento de trutas arco-íris. Martínez-Llorens et al. (2008) observaram pior desempenho de juvenis de “gilthead sea bream” alimentados com dietas com nível de inclusão de farelo de soja acima de 39,5% e inclusão de aminoácidos sintéticos e atribuíram o pobre crescimento ao comprometimento da mucosa intestinal - afetando a taxa de absorção de nutrientes - com o uso excessivo de farelo de soja.

Heikkinen et al. (2006) afirmam que o uso exclusivo ou elevado de farelo de soja em dietas para trutas arco-íris causa mudanças morfológicas e funcionais no epitélio intestinal. Nesse caso, houve encurtamento das dobras das mucosas, vacuolarização anormal, perda de integridade das mucosas e inflamação de células. Além disso, ocorre nestas condições uma diminuição da concentração de bactérias (*Aeromonas*, *Sphingomonas*, *Chryseomonas*, *Lactococcus* e *Lactobacillus*) benéficas no intestino dos animais pela alta inclusão de farelo de soja. Olsen et al. (2007) observaram mudança na morfologia intestinal com o uso de dietas com alta inclusão de fontes protéicas de origem vegetal. Nesse caso, houve moderada hipertrofia e hiperplasia das células cálice intestinais causada pelo excesso de fitato e fibra provenientes destas fontes. Animais alimentados com inclusão total de proteína vegetal apresentaram enterite (inflamação) intestinal.

O tratamento térmico dos grãos de soja é necessário para promover a denaturação de inibidores de tripsina e maximizar o valor nutricional, em contrapartida,

o superaquecimento pode resultar na destruição e/ou diminuição da digestibilidade da proteína e dos aminoácidos, dessa forma reduzindo o valor nutricional da soja (VENOU et al., 2006). Barrows, Stone e Hardy (2007) recomendam o uso do processo de extrusão - um curto tempo de exposição dos ingredientes (18s) à temperatura de 127°C - para confecção de dietas mais palatáveis, estáveis em contato com a água, duráveis e com melhor biodisponibilidade de nutrientes, que resultam em bom desempenho dos peixes. Além disso, atualmente métodos alternativos como o bioprocessamento do farelo de soja são empregados para retirada de açúcares indigestíveis (oligossacarídeos), ácido fítico e principalmente fatores antinutricionais. Com isso, o farelo de soja bioprocessado apresenta maior nível protéico (60% PB) e maior valor nutritivo (FORDE-SKJAERVIK et al., 2006; REFSTIE et al., 2006; RINGO et al., 2006).

Braga, Borghesi e Cyrino (2008) em estudo recente avaliaram diferentes ingredientes de origem vegetal e animal na nutrição de juvenis de dourado, e registraram um alto aproveitamento destes alimentos pela espécie, inclusive os de origem vegetal, por meio de ensaio de digestibilidade aparente. Os coeficientes de digestibilidade da proteína, energia e aminoácidos oriundos do farelo de soja foram altos (>85%). Além disso, observaram uma alta aceitação das dietas à base vegetal. Borghesi (2008) com uso da mesma espécie e condição experimental semelhante observou a mesma tendência, inclusive para o ingrediente farelo de soja.

Estudos recentes ligam a nutrição e substituição de fontes de origem animal - em especial a farinha de peixe - por ingredientes alternativos de origem vegetal, dentre os quais se destaca o farelo de soja. Análises sensoriais em laboratórios de tecnologia de pescado não revelaram diferenças das características organolépticas de filés oriundos de peixes alimentados com dietas formuladas à base de proteína animal das dietas formuladas à base de ingredientes de origem vegetal (DE FRANCESCO et al., 2007; HERNÁNDEZ et al., 2007).

Atualmente, devido ao constante uso e grande aceitabilidade do farelo de soja como ingrediente prático nas dietas de peixes, novos ingredientes são constantemente testados e avaliados, visando uma diversificação, utilização de subprodutos e diminuição dos custos de produção. O farelo de algodão, o farelo de glútem de milho, o farelo de

glútem de trigo, o farelo de canola, a combinação de diferentes fontes protéicas de origem vegetal e/ou animal entre outros surgem como alternativas viáveis na nutrição de diversas espécies de peixes (WEBSTER et al., 1997; KIKUCHI, 1999; SOARES et al., 2000; FURUYA et al., 2001; GALDIOLI et al., 2002; AI et al., 2006; HELLAND; GRISDALE-HELLAND, 2006; DE FRANCESCO et al., 2007; GLENCROSS; BOOTH; ALLAN, 2007; HANSEN et al., 2007a; OLSEN et al., 2007; HU et al., 2008; ROBINSON; LI, 2008; SHAFAEIPOUR et al., 2008; ZHANG, et al., 2008).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Quantificação da composição de aminoácidos dos tecidos corporais

Juvenis e adultos de dourado foram adquiridos de pescadores profissionais do Rio Piracicaba na região conhecida como Tanquan entre junho e julho de 2006. Amostras de carcaça total e filé dos peixes foram retiradas, trituradas, liofilizadas e analisadas para a determinação da composição bromatológica e de aminoácidos, que serviram como base para formulação das dietas semipurificadas dos ensaios biológicos. Amostras das carcaças e filés de dourados foram analisados por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) para determinação do perfil de aminoácidos (Evonik Degussa Brasil Ltda., São Paulo, SP).

Tabela 1 - Composição em aminoácidos da carcaça de alevinos, juvenis e adultos de dourado (matéria original)

Aminoácido	Alevino 0,003kg	Alevino 0,003kg	Juvenil 0,92kg	Juvenil 0,92kg	Adulto 1,85kg	Adulto 1,85kg
	----- % -----					
Alanina	4,70	7,05	3,19	6,76	4,23	6,75
Arginina	4,52	6,78	3,08	6,53	4,12	6,57
Ácido Aspártico	7,23	10,85	5,30	11,24	6,91	11,03
Glicina	4,95	7,43	2,86	6,06	3,88	6,19
Isoleucina	3,04	4,56	2,31	4,90	3,09	4,93
Leucina	5,53	8,30	4,10	8,69	5,42	8,65
Ácido Glutâmico	10,40	15,61	7,44	15,78	9,87	15,75
Lisina	6,21	9,32	4,64	9,84	6,24	9,96
Cistina	0,69	1,04	0,48	1,02	0,66	1,05
Metionina	1,95	2,93	1,43	3,03	1,90	3,03
Fenilalanina	2,91	4,37	2,11	4,47	2,79	4,45
Tirosina	ND	-	ND	-	ND	-
Treonina	3,15	4,73	2,30	4,88	3,06	4,88
Triptofano	ND	-	ND	-	ND	-
Prolina	3,11	4,67	1,92	4,07	2,60	4,15
Valina	3,50	5,25	2,55	5,41	3,36	5,36
Histidina	1,76	2,64	1,37	2,91	1,77	2,82
Serina	2,98	4,47	2,08	4,41	2,77	4,42
Total	66,63	100,00	47,16	100,00	62,67	100,00

ND = Não determinado.

Tabela 2 - Composição em aminoácidos do filé de dourado (matéria original)

Aminoácido	Peso do exemplar amostrado					
	1,75kg	1,75kg	2,05kg	2,05kg	2,8kg	2,8kg
	----- % -----					
Alanina	5,37	6,42	5,23	6,44	5,01	6,36
Arginina	5,17	6,18	5,24	6,45	4,95	6,28
Ácido Aspártico	9,57	11,44	9,37	11,54	8,93	11,34
Glicina	4,08	4,88	3,85	4,74	3,81	4,84
Isoleucina	4,27	5,11	4,15	5,11	4,01	5,09
Leucina	7,40	8,85	7,28	8,97	6,99	8,88
Ácido Glutâmico	13,40	16,02	12,90	15,89	12,70	16,12
Lisina	8,96	10,72	8,65	10,66	8,43	10,70
Cistina	0,94	1,12	0,91	1,12	0,87	1,10
Metionina	2,60	3,11	2,53	3,12	2,48	3,15
Fenilalanina	3,77	4,51	3,63	4,47	3,48	4,42
Tirosina	ND	-	ND	-	ND	-
Treonina	4,15	4,96	4,03	4,96	3,92	4,98
Triptofano	ND	-	ND	-	ND	-
Prolina	3,00	3,59	2,74	3,38	2,88	3,66
Valina	4,71	5,63	4,60	5,67	4,42	5,61
Histidina	2,68	3,20	2,62	3,23	2,54	3,22
Serina	3,55	4,25	3,45	4,25	3,34	4,24
Total	83,62	100,00	81,18	100,00	78,76	100,00

ND = Não determinado.

Tabela 3 - Média final da composição em aminoácidos de carcaças de dourado

Aminoácido	Black bass	Dourado			Média
	Portz e Cyrino (2003)	Alevino	Juvenil	Adulto	
	----- % -----				
Arginina	8,85	6,52	6,28	6,31	6,37
Histidina	2,08	2,54	2,79	2,71	2,68
Fenilalanina	4,02	4,20	4,30	4,27	4,26
Isoleucina	4,00	4,39	4,71	4,73	4,61
Leucina	7,44	7,98	8,36	8,30	8,21
Lisina	7,93	8,96	9,46	9,55	9,32
Metionina	2,61	2,81	2,91	2,91	2,88
Treonina	4,29	4,55	4,69	4,68	4,64
Triptofano	0,83	0,81*	0,82*	0,86*	0,83
Valina	4,49	5,05	5,20	5,14	5,13
Ácido Aspártico	11,61	10,43	10,80	10,58	10,60
Ácido Glutâmico	13,82	15,01	15,17	15,11	15,09
Alanina	6,47	6,78	6,50	6,47	6,59
Cistina	0,74	1,00	0,98	1,01	0,99
Glicina	7,87	7,14	5,83	5,94	6,30
Prolina	5,67	4,49	3,91	3,98	4,13
Serina	4,20	4,30	4,24	4,24	4,26
Tirosina	2,95	3,03*	3,06*	3,21*	3,10
Total	99,88	100,00	100,00	100,00	100,00

\* Valores estimados a partir de Portz e Cyrino (2003)

### 3.2 Determinação da exigência em lisina (Experimento 1)

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes do Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, *Campus* “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP (22°42’30”S 47°38’00”W; altitude 546m). Grupos de 12 juvenis de dourados (11,4 ± 0,20g; 9,4 ± 0,89cm) obtidos de piscicultura comercial foram adaptados às condições laboratoriais por 15 dias e condicionados a aceitar ração seca. Em seguida foram adaptados à rotina experimental por uma semana e então anestesiados em solução de benzocaína (500mg/10L água) (HAULER; CARTER, 2001; HAULER; CARTER; EDWARDS, 2007) e submetidos a biometria inicial alojados em gaiolas de PVC atóxico (60L; malha 5mm) instaladas em 24 caixas de polipropileno com capacidade de 300L, com troca parcial de água num sistema fechado de recirculação e aeração forçada por

soprador e pedras difusoras. A aleatorização das unidades experimentais foi realizada com a ferramenta eletrônica Edgar II (2007).

Os ensaios foram realizados sob fotoperíodo 12 horas luz: 12 horas escuro, mantido por 8 lâmpadas de 80W, controladas por temporizador. Práticas de limpeza das caixas por sifonagem foram realizadas a intervalos regulares durante o período experimental. Os parâmetros de qualidade de água foram monitorados eletronicamente duas vezes por semana (oxímetro YSI Mod. 55; potenciômetro de bancada Inolab WTW).

Os peixes foram alimentados *ad libitum* por 60 dias em quatro refeições (08h00min, 11h00min, 14h00min e 17h00min). A fonte de proteína escolhida para compor as rações experimentais, foi a farinha de peixe. A média dos perfis de aminoácidos da carcaça (Tabela 3) foi utilizada como perfil de referência e o teor de proteína da dieta foi mantido em 43%, segundo recomendações de Portz (2001), Ruchimat et al. (1997), Mai et al. (2006b) e Peres e Oliva-Teles (2008). A relação energia: proteína utilizada (10,7kcal de EB/ g de PB) foi baseada nos resultados estabelecidos por Borghesi (2008) para o dourado em condições experimentais semelhantes (10,20 ~ 10,65kcal de EB/ g de PB).

Aminoácidos sintéticos foram utilizados com a finalidade de igualar o perfil de aminoácidos às proporções encontradas na carcaça de dourado, seguindo método alternativo citado por De Silva e Anderson (1995), com base no conceito de proteína ideal (Tabela 4). Como preconizado por Borlongan (1991) e Ngamsnae, De Silva e Gunasekera (1999), o óleo de salmão foi adicionado para garantir níveis adequados de ácidos graxos essenciais como fonte de energia e palatabilizante das dietas experimentais. Foram utilizados a dextrina como fonte de carboidratos, carboximetilcelulose com função de ligar os aminoácidos sintéticos, o BHT como um antioxidante e a celulose como fonte de fibra não nutritiva.

Tabela 4 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) da fonte de proteína utilizada no Experimento 1 (farinha de peixe = 19,84%)

Aminoácido	Dourado	Farinha de peixe*	Farinha de peixe	Referência	Mistura
		61,64% PB <sup>1/</sup>	19,84% FP <sup>2/</sup> (1)	para 43% PB (2)	aas sint. <sup>3/</sup> (2) - (1)
----- % -----					
Arginina	6,37	4,43	0,88	2,74	1,86
Histidina	2,68	1,75	0,35	1,15	0,81
Fenilalanina	4,26	2,60	0,52	1,83	1,32
Isoleucina	4,61	2,69	0,53	1,98	1,45
Leucina	8,21	4,83	0,96	3,53	2,57
Lisina	9,32	<b>5,04</b>	<b>1,00</b>	4,01	
Metionina	2,88	1,89	0,37	1,24	0,86
Treonina	4,64	2,90	0,58	2,00	1,42
Triptofano	0,83	0,79	0,16	0,36	0,20
Valina	5,13	3,31	0,66	2,21	1,55
Ácido Aspártico	10,60	6,14	1,22	4,56	3,34
Ácido Glutâmico	15,09	8,75	1,74	6,49	4,75
Alanina	6,59	5,58	1,11	2,83	1,73
Cistina	0,99	0,53	0,10	0,43	0,32
Glicina	6,30	9,21	1,83	2,71	0,88
Prolina	4,13	4,97	0,99	1,78	0,79
Serina	4,26	2,93	0,58	1,83	1,25
Tirosina	3,10	1,96	0,39	1,33	0,94
Total	100,00	70,29	13,95	43,00	26,04

\* Determinado em laboratório.

<sup>1/</sup> Proteína bruta.

<sup>2/</sup> Farinha de peixe.

<sup>3/</sup> Aminoácidos sintéticos.

Tabela 5 - Níveis de energia bruta dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Ingrediente	Energia
	kcal/kg
Ácido aspártico	2.935
Ácido glutâmico	3.540
Celulose	3.826
Carboximetilcelulose	3.215
Premix vitamínico	2.452
Dextrina branca	3.681
Mistura de aas	4.452
Lisina	5.102
Óleo de salmão	8.831
Farinha de peixe	4.418
Farelo de soja	4.311

Valores determinados em bomba calorimétrica (PARR 1563 e 1261).

As dietas experimentais semipurificadas (NRC, 1993), isoprotéicas (43%PB) e isoenergéticas (4600 kcal/kg EB), foram preparadas de modo a conter níveis crescentes de lisina - 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5% da dieta - considerados os tratamentos de um delineamento experimental inteiramente aleatorizado (DIA; n=4). Antes da granulação a mistura de aminoácidos sintéticos foi homogeneizada separadamente. Posteriormente todos os ingredientes da ração experimental foram homogeneizados em batedeira planetária, adicionados de 10% de água e granulados em moedor industrial. Os grânulos foram secos em estufa de circulação forçada (24 horas; 45°C), moídos e separados em lotes de tamanho uniforme 1 a 2mm por meio de conjunto de peneiras. Embalagens com dietas para uso imediato foram pesadas e mantidas em refrigerador ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ); as dietas foram conservadas em recipientes herméticos em supercongelador vertical ( $-20^\circ\text{C}$ ) antes do uso.

Tabela 6 - Composição das dietas experimentais isoprotéicas (43% PB) e isoenergéticas (4.600 kcal/kg EB) do Experimento 1 (exigência em lisina)

Ingrediente	Tratamento					
	1% Lisina	1,5% Lisina	2% Lisina	2,5% Lisina	3% Lisina	3,5% Lisina
	----- % -----					
Mistura de aas	26,82 <sup>1/</sup>					
Farinha de peixe	19,84	19,84	19,84	19,84	19,84	19,84
Premix mineral <sup>4/</sup>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix vitamínico <sup>5/</sup>	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Carboximetilcelulose	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Dextrina	23,00	22,74	22,82	23,50	23,25	23,74
Óleo de salmão	13,14	12,92	12,71	12,55	12,30	12,14
Celulose	8,14	8,50	8,50	7,82	8,24	7,76
Ácido aspártico <sup>6/</sup>	1,52	1,28	1,04	0,80	0,56	0,37
Ácido glutâmico <sup>6/</sup>	1,52	1,28	1,04	0,79	0,55	0,25
L-Lisina.HCl	0,00 <sup>2/</sup>	0,61 <sup>3/</sup>	1,21 <sup>3/</sup>	1,82 <sup>3/</sup>	2,42 <sup>3/</sup>	3,03 <sup>3/</sup>
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

<sup>1/</sup> Correção pelo princípio ativo dos aminoácidos sintéticos.

<sup>2/</sup> 1% de lisina proveniente da farinha de peixe.

<sup>3/</sup> Inclusão de lisina sintética (80,6% L-lisina.HCl).

<sup>4/</sup> Níveis de garantia da mistura mineral (Agrocere<sup>®</sup>) por kg de produto: Fe 100.000mg; Cu 15.000mg; Zn 150.000mg; I 4.500mg; Mn 60.000mg; Se 400mg e Co 2.000mg.

<sup>5/</sup> Níveis de garantia da mistura vitamínica (Agrocere<sup>®</sup>) por kg de produto: vit. A 6.000.000 UI; vit. D<sub>3</sub> 2.250.000 UI; vit. E 75.000mg; vit. K 3.000mg; tiamina (B<sub>1</sub>) 5.000mg; riboflavina (B<sub>2</sub>) 10.000mg; niacina 30.000mg; piridoxina 8.000mg; ácido pantotênico 30.000mg; biotina 2.000mg; ácido fólico 3.000mg; cianocobalamina 20.000µg e ácido ascórbico (vit. C) 192.500mg.

<sup>6/</sup> Mistura de ácido aspártico e ácido glutâmico, utilizada para ajuste da quantidade de nitrogênio (proteína) em todas as dietas.

O controle do consumo de ração foi feito por meio da pesagem das sobras de alimento nos recipientes relativos a cada unidade experimental. Durante todo período experimental foram realizadas observações visuais dos animais para caracterização de possíveis sinais de deficiência nutricional. Foram analisados dez índices de desempenho zootécnicos:

- Peso inicial (PI);
- Peso final (PF);
- Ganho de peso - GP = [(peso final) – (peso inicial)];

- Consumo de ração;
- Conversão alimentar – CA = [(consumo de ração) ÷ (ganho de peso)];
- Taxa de crescimento específico  

$$TCE = \{[\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})] \div \text{período}\} \times 100;$$
- Sobrevivência  

$$S = [(\text{número de animais final} \div \text{número de animais inicial}) \times 100];$$
- Relação hepato-somática  

$$RHS = [(\text{peso do fígado} \div \text{peso da carcaça}) \times 100];$$
- Relação lipo-somática  

$$RLS = [(\text{peso da gordura intraperitoneal} \div \text{peso da carcaça}) \times 100];$$
- Relação viscero-somática  

$$RVS = [(\text{peso das vísceras} \div \text{peso da carcaça}) \times 100].$$

Foi constatado um problema de aceitação das dietas experimentais no período de adaptação animal. Não foi observada melhora do consumo de ração com o passar do tempo como preconizado por Dabrowski et al. (2007). O motivo da falta de palatabilidade das dietas foi relacionado com a acidez proveniente dos aminoácidos ácidos (aspártico e glutâmico). Seguindo os trabalhos de Wilson et al. (1977), Wang et al. (2005), Whiteman e Gatlin III (2005), Luo et al. (2006) e Montes-Girao e Fracalossi (2006), foi adicionado o hidróxido de sódio (NaOH) com o intuito de alcalinizar ou diminuir a acidez e, conseqüentemente, promover uma melhor aceitação das dietas experimentais.

Em conjunto com o uso de NaOH, foi adicionada às dietas experimentais a betaína. Clarke et al. (1994), Papatryphon e Soares-Jr. (2000), Papatryphon e Soares-Jr (2001), Kasper, White e Brown (2002), Felix e Sudharsan (2004) e Saoud e Davis (2005) preconizam o uso da betaína (trimetilglicina). - um alcalóide abundante em extratos de crustáceos e plantas - como atrativo e potente estimulante dos receptores gustativos de peixes. No caso do dourado, a aceitação deste ingrediente foi rápida e melhorou a palatabilidade e conseqüente ingestão das dietas experimentais.

Seguindo instruções de Robinson, Wilson e Poe (1981), Borlongan (1991) e Ngamsnae, De Silva e Gunasekera (1999) foram determinados os valores de pH das dietas contendo níveis de NaOH e betaína (Tabela 7). Por meio da observação visual do consumo e aceitação da dieta, foram determinados como melhor nível de inclusão 1,5% de betaína e 2,5% de NaOH. Dessa forma, as dietas confeccionadas foram reprocessadas com a inclusão do palatabilizante betaína e o corretivo NaOH.

Tabela 7 - Teste de níveis de inclusão de hidróxido de sódio e/ou betaína nas dietas e respectivos valores de pH

Ingrediente	Valor pH*
1,5% Betaína	4,15
1,5% Betaína + 1% NaOH	4,47
1,5% Betaína + 2% NaOH	5,08
1,5% Betaína + 2,5% NaOH	5,32
1,5% Betaína + 3% NaOH	6,22
1,5% Betaína + 3,5% NaOH	7,62
1,5% Betaína + 4% NaOH	8,38

\* Valores determinados com uso de potenciômetro digital de bancada.

Ao final do período experimental, os fígados, gordura e vísceras dos peixes foram retirados por laparotomia abdominal e pesados para determinação das relações hepato-somática, lipo-somática e víscero-somática. Foram sacrificados animais para posterior análise de composição centesimal. As análises químico-bromatológicas dos ingredientes e carcaças foram realizadas de acordo com os procedimentos da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2000) pelo laboratório CBO, Assessoria e Análise (Campinas, SP).

Amostras de sangue foram retiradas de três animais por unidade experimental com agulhas heparinizadas e analisadas de acordo com Keembiyehetty e Gatlin III (1992), Griffin, Brown e Grant (1992) e Ranzani-Paiva et al. (2003). O sangue coletado foi centrifugado (5.000 rpm, 10 min.) para obtenção do plasma, que foi congelado (-18°C) para posterior determinação da glicose sanguínea. Foram determinados os

parâmetros básicos sanguíneos: hematócrito (com auxílio de cartão de leitura para hematócrito) e proteína plasmática (com uso de refratômetro).

Quando existem fatores quantitativos com mais de dois níveis, é usual buscar uma ligação funcional entre os níveis desses fatores e a variável de estudo (GOMES; GARCIA, 2002), a exemplo da análise de regressão polinomial utilizada neste estudo. A resolução da equação da regressão polinomial permite “estimar” o nível de exigência do nutriente estudado (TIBALDI; TULLI, 1999) e representá-lo graficamente.

O uso do método da regressão segmentada (“broken line”) na análise de resultados de experimentos dose-resposta de níveis de exigências nutricionais permite determinar com precisão o nível mínimo de um nutriente que garante o máximo desempenho de uma espécie. Esta resposta é considerada importante na determinação da relação custo-benefício na composição de rações para peixes. A aplicação deste método de análise pelo uso do procedimento PROC NLIN do sistema computacional estatístico SAS<sup>1</sup> é um procedimento simples, rápido e eficiente na determinação das exigências nutricionais, porém pode subestimar valores determinados por outros modelos tradicionalmente utilizados, que podem não ser necessariamente mais precisos (ROBBINS, 1986; ZEITOUN et al., 1976; PORTZ; DIAS; CYRINO, 2000).

Todos os dados coletados foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias de Tukey ( $\alpha=0,05\%$ ) por meio do uso do sistema computacional SAS (SAS, 2000). Para os dados de desempenho, foram estabelecidas regressões polinomiais e regressões segmentadas com o uso do PROC NLIN do sistema computacional SAS seguindo recomendações de Portz, Dias e Cyrino (2000).

Foi calculada a relação  $A/E = [(\text{aminoácido essencial} \div \text{total de aminoácidos essenciais} + \text{cistina} + \text{tirosina}) \times 1.000]$  para verificar a validação do uso do perfil de aminoácidos dos tecidos corporais como base para determinação da exigência nutricional. Usando como referência o aminoácido essencial lisina, foi estimada a exigência nutricional dos outros aminoácidos essenciais para o dourado. Com a

---

<sup>1</sup> STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE – SAS. SAS/STAT: User’s Guide, Statistics version 8. Cary, NC, USA. 2000. 3884 p.

exigência estimada, foram confeccionadas as dietas dos Experimentos 2 e 3 (determinação da exigência em arginina e uso do farelo de soja, respectivamente).

### **3.3 Determinação da exigência em arginina (Experimento 2)**

Para este ensaio foram confeccionadas dietas semipurificadas com base no perfil de aminoácidos essenciais estimado pelo uso da relação A/E (Tabela 19) e pelo perfil encontrado nos tecidos corporais do dourado (para os aminoácidos não essenciais). A fonte de proteína escolhida para compor as rações experimentais foi a farinha de peixe. As unidades experimentais foram constituídas por lotes de 12 juvenis de dourado ( $26,98 \pm 0,81\text{g}$ ;  $12,62 \pm 0,69\text{cm}$ ) condicionados a aceitar ração seca (43% de proteína bruta; 4.600kcal de energia bruta e com correção de pH), alojados em caixas de polipropileno com capacidade de 300L, com troca parcial de água num sistema fechado de recirculação e aeração. Os tratamentos correspondiam aos níveis crescentes de arginina: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% na dieta ( $n=4$ ), num delineamento inteiramente aleatorizado (DIA).

Os passos para confecção das dietas experimentais e condução deste ensaio foram semelhantes ao Experimento 1 (lisina). Os parâmetros de desempenho, análises de composição centesimal e sanguíneos foram determinados e analisados também seguindo a metodologia descrita para o Experimento 1.

As dietas com os níveis de arginina acima e abaixo da exigência estimada (1,48% da dieta - Tabela 19) foram confeccionadas (Tabelas 8 e 9) para verificação do possível problema relacionado com o antagonismo arginina e lisina. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias de Tukey ( $\alpha=0,05\%$ ) por meio do uso do sistema computacional SAS. O desdobramento da análise de variância foi realizada por meio da análise de regressão polinomial e regressão segmentada “broken line” (PROC NLIN) do sistema computacional SAS (PORTZ; DIAS; CYRINO, 2000) e pelo uso do software STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK., USA).

Tabela 8 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) da fonte de proteína utilizada no Experimento 2 (farinha de peixe = 22,56%)

Aminoácido	Dourado	Farinha de peixe*	Farinha de peixe	Referência	Mistura
		61,64% PB	1% Arginina 22,56% FP (1)	para 43% PB (2) <sup>§</sup>	aas sintét. (2) - (1)
----- % -----					
Arginina	6,37	<b>4,43</b>	<b>1,00</b>	<b>3,45</b>	
Histidina	2,68	1,75	0,39	1,45	1,06
Fenilalanina	4,26	2,60	0,59	2,31	1,72
Isoleucina	4,61	2,69	0,61	2,50	1,89
Leucina	8,21	4,83	1,09	4,45	3,36
Lisina	9,32	5,04	1,14	5,05	3,91
Metionina	2,88	1,89	0,43	1,56	1,13
Treonina	4,64	2,90	0,65	2,51	1,86
Triptofano	0,83	0,79	0,18	0,45	0,27
Valina	5,13	3,31	0,75	2,78	2,03
Ácido Aspártico	10,60	6,14	1,38	1,83	0,45
Ácido Glutâmico	15,09	8,75	1,97	3,76	1,79
Alanina	6,59	5,58	1,26	2,83	1,57
Cistina	0,99	0,53	0,12	0,43	0,31
Glicina	6,30	9,21	2,08	2,71	0,63
Prolina	4,13	4,97	1,12	1,78	0,65
Serina	4,26	2,93	0,66	1,83	1,17
Tirosina	3,10	1,96	0,44	1,33	0,89
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>70,29</b>	<b>15,86</b>	<b>43,00</b>	<b>24,69</b>

\* Determinado em laboratório.

<sup>§</sup> Nova exigência determinada pela relação A/E + exigência nutricional de lisina (Experimento 1).

Tabela 9 - Composição das dietas experimentais isoprotéicas (43% PB) e isoenergéticas (4.600 kcal/kg) do Experimento 2 (exigência em arginina)

Ingrediente	Tratamento				
	1% Arg	1,5% Arg	2% Arg	2,5% Arg	3% Arg
	----- % -----				
Mistura de aas	25,96 <sup>1/</sup>				
Farinha de peixe	22,56	22,56	22,56	22,56	22,56
Premix mineral <sup>4/</sup>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix vitamínico <sup>5/</sup>	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Carboximetilcelulose	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Dextrina	15,40	15,50	15,59	15,64	15,69
Óleo de salmão	15,60	15,42	15,24	15,10	14,96
Celulose	8,50	8,50	8,50	8,50	8,50
Ácido aspártico <sup>6/</sup>	0,73	0,31	0,00	0,00	0,00
Ácido glutâmico <sup>6/</sup>	1,23	1,23	1,13	0,72	0,31
L-Arginina.HCl	0,00 <sup>2/</sup>	0,59 <sup>3/</sup>	1,19 <sup>3/</sup>	1,78 <sup>3/</sup>	2,38 <sup>3/</sup>
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

<sup>1/</sup> Correção pelo princípio ativo dos aminoácidos sintéticos.

<sup>2/</sup> 1% de arginina proveniente da farinha de peixe.

<sup>3/</sup> Inclusão de arginina sintética (81,5% L-arginina).

<sup>4/</sup> Níveis de garantia da mistura mineral (Agroceres<sup>®</sup>) por kg de produto: Fe 100.000mg; Cu 15.000mg; Zn 150.000mg; I 4.500mg; Mn 60.000mg; Se 400mg e Co 2.000mg.

<sup>5/</sup> Níveis de garantia da mistura vitamínica (Agroceres<sup>®</sup>) por kg de produto: vit. A 6.000.000 UI; vit. D<sub>3</sub> 2.250.000 UI; vit. E 75.000mg; vit. K 3.000mg; tiamina (B<sub>1</sub>) 5.000mg; riboflavina (B<sub>2</sub>) 10.000mg; niacina 30.000mg; piridoxina 8.000mg; ácido pantotênico 30.000mg; biotina 2.000mg; ácido fólico 3.000mg; cianocobalamina 20.000µg e ácido ascórbico (vit. C) 192.500mg.

<sup>6/</sup> Mistura de ácido aspártico e ácido glutâmico, utilizada para ajuste da quantidade de nitrogênio (proteína) em todas as dietas.

### 3.4 Uso do farelo de soja e aminoácidos sintéticos (Experimento 3)

Dentre as vantagens associadas ao uso fontes protéicas de origem vegetal nas dietas para peixes, destaca-se o baixo custo em comparação ao uso da farinha de peixe, o descarte de efluentes menos impactantes que estes ingredientes proporcionam devido os menores níveis de alguns nutrientes (fósforo), e a possibilidade do uso de farelos vegetais produzidos no país de forma sustentável, sem dependência da farinha de peixe importada. Por outro lado, as fontes protéicas de origem vegetal, normalmente inferiores em qualidade às de origem animal, apresentam menor digestibilidade, são deficientes em

metionina e lisina, e podem apresentar alguns fatores antinutricionais. Entretanto, estes problemas podem ser solucionados com a administração de aminoácidos cristalinos e o uso do processo de tostagem, que elimina com eficiência grande parte dos fatores antinutricionais (LOVELL, 1985).

O farelo de soja, subproduto resultante da extração de óleo do grão de soja, *Glycine max* (L.) é o ingrediente mais estudado como fonte protéica vegetal para peixes. Apresenta razoável balanço de aminoácidos, porém as recomendações sobre os níveis de substituição da fonte de proteína animal por farelo de soja são ainda contraditórias, e no caso da espécie dourado, praticamente não estudada.

Para determinar os níveis de substituição da fonte de proteína animal por farelo de soja, foram formuladas dietas com níveis de substituição da fonte de proteína tradicional - i.e. a farinha de peixe - por farelo de soja (Tabelas 10, 11 e 12). Antes da confecção das dietas, foi realizada a análise centesimal e de aminoácidos do farelo de soja tostado e, de acordo com estes resultados, as dietas foram formuladas e suplementadas por aminoácidos cristalinos, simulando o perfil de aminoácidos estimados no Experimento 1 (Tabela 19).

Inicialmente foi avaliado o desempenho de juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe e/ou farelo de soja suplementadas com aminoácidos sintéticos. Grupos de 12 juvenis de dourado ( $26,98 \pm 0,81\text{g}$ ;  $12,62 \pm 0,69\text{cm}$ ) condicionados a aceitar ração seca (43% de proteína bruta, 4.600kcal de energia bruta, com correção de pH e exigências nutricionais em aminoácidos estimadas a partir do perfil de aminoácidos na carcaça), foram alojados em caixas de polipropileno com capacidade de 300L, com troca parcial de água num sistema fechado de recirculação e aeração. Os tratamentos correspondiam ao uso dos seguintes ingredientes: 22,56 % farinha de peixe (FP) + 25,96% aminoácidos sintéticos (AAS); 31,04% farelo de soja (FS) + 23,57% aminoácidos sintéticos (AAS); 9,92% farinha de peixe + 15,53% farelo de soja (MIX) +27,10% aminoácidos sintéticos (AAS); o ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente aleatorizado (n=4).

Em um segundo ensaio foi feita avaliação indireta da excreção de nitrogênio e fósforo dos animais através da avaliação de parâmetros de qualidade de água das caixas

onde os peixes eram alojados, utilizando lotes de 20 juvenis de dourado ( $74,26 \pm 10,56\text{g}$ ;  $18,73 \pm 0,77\text{cm}$ ) nas mesmas condições experimentais e com o uso das mesmas dietas ( $n=3$ ). Foram coletadas periodicamente (0, 2, 4 e 6 horas pós-alimentação) amostras de água que foram analisadas em laboratórios para determinação de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), amônia total ( $\text{NH}_3$ ) e fósforo total (P). Em cada período de coleta, amostras de água de tanques sem peixes (branco) foram coletadas. O fluxo de entrada de água nas caixas foi de 2,4L/minuto e os parâmetros de qualidade de água medidos no dia da coleta foram: temperatura  $26,2 \pm 0,05^\circ\text{C}$  e oxigênio dissolvido  $5,87 \pm 0,15\text{mg/L}$ .

Para detecção de amônio as amostras foram analisadas por meio de colorimetria com auxílio do aparelho injetor automático em fluxo FIAStar 5000 (FOSS Analytical AB, Sweden), no Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA - USP, *Campus* Piracicaba. Para detecção de amônia total foi utilizado o método AOAC<sup>2</sup> em que o nitrogênio é determinado na forma de amônia ( $\text{NH}_3$ ), hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) e íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). A amostra foi tamponada a pH 9,5, a fim de minimizar a hidrólise de compostos orgânicos contendo nitrogênio e posteriormente passa por um processo de destilação em micro destilador Kjeldahl e a amônia obtida titulada com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 N, utilizando o indicador vermelho de metila 0,1%. Expresso em  $\text{mg/L(N-NH}_3)$ . O fósforo total foi determinado colorimetricamente, baseado na formação de compostos de cor azul (azul de molibdênio) provocado pela redução do ácido fosfomolibdico pelo ácido ascórbico. Método do fosfomolibdato, específico para a forma de ortofosfato. Os ortofosfatos presentes na amostra são convertidos a fosfomolibdato pela reação ácida com reagente de molibdato de amônio, que produz coloração azul. Expresso em  $\text{mg/L}$ . O equipamento utilizado para leitura foi o Espectrofotômetro Hitachi - modelo U2001. As análises de água para determinação da amônia total e fósforo total foram realizados no laboratório de Ecologia Aplicada do

---

<sup>2</sup> ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**, 17<sup>th</sup> ed. Washington, DC, 2000. 1141 p.

Departamento de Ciências Florestais ESALQ-USP e Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF).

O ensaio relacionado ao desempenho foi conduzido em condições semelhantes ao Experimento 1. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias de Tukey ( $\alpha=0,05\%$ ) por meio do uso do sistema computacional SAS. Foram confeccionados gráficos de dispersão com linhas de tendência para melhor visualização do comportamento da excreção de nutrientes oriunda dos dourados submetidos aos tratamentos.

Tabela 10 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) da fonte de proteína utilizada no Experimento 3 (farelo de soja = 31,04%)

Aminoácido	Farelo de soja* Média 47,43%	Farelo de soja 1% Lisina; 31,04 FP (1)	Referência para 43% PB (2) <sup>§</sup>	Mistura aas sint. (2) - (1)
	----- % -----			
Arginina	3,84	1,38	3,45	2,07
Histidina	1,37	0,54	1,45	0,91
Fenilalanina	2,68	0,81	2,31	1,50
Isoleucina	2,39	0,83	2,50	1,66
Leucina	4,12	1,50	4,45	2,95
Lisina	<b>3,22</b>	<b>1,00</b>	<b>5,05</b>	4,05
Metionina	0,71	0,59	1,56	0,97
Treonina	2,05	0,90	2,51	1,61
Triptofano	0,36	0,24	0,45	0,20
Valina	2,49	1,03	2,78	1,75
Ácido Aspártico	6,14	1,90	1,83	0,00
Ácido Glutâmico	9,47	2,72	3,76	1,05
Alanina	2,38	1,73	2,83	1,10
Cistina	0,75	0,16	0,43	0,26
Glicina	2,34	2,86	2,71	0,00
Prolina	2,61	1,54	1,78	0,23
Serina	2,76	0,91	1,83	0,92
Tirosina	1,76	0,61	1,33	0,72
Total	51,44	21,25	43,00	21,75

\* Determinado em laboratório.

<sup>§</sup> Nova exigência determinada pela relação A/E + exigência nutricional de lisina (Experimento 1).

Tabela 11 - Composição da mistura de aminoácidos e contribuição (em aminoácidos) das fontes de proteína utilizadas no Experimento 3 (farelo de soja = 15,52% + farinha de peixe = 9,92%)

AA	Far. de peixe* Média 61,64% PB	Far. de soja* Média 47,43%	Far. de peixe 0,5 % Lisina 9,92% (A)	Far. de soja 0,5% Lisina 15,52% (B)	(1) Soma prot. intac. (A) + (B)	Referência para 43% <sup>ξ</sup> PB (2)	Mistura aas sint. (2) - (1)
Arg	4,43	3,84	0,44	0,69	1,13	3,45	2,32
His	1,75	1,37	0,17	0,27	0,44	1,45	1,01
Phe	2,60	2,68	0,26	0,40	0,66	2,31	1,65
Iso	2,69	2,39	0,27	0,42	0,68	2,50	1,81
Leu	4,83	4,12	0,48	0,75	1,23	4,45	3,22
Lis	<b>5,04</b>	<b>3,22</b>	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	<b>1,00</b>	5,05	4,05
Met	1,89	0,71	0,19	0,29	0,48	1,56	1,08
Tre	2,90	2,05	0,29	0,45	0,74	2,51	1,77
Tri	0,79	0,36	0,08	0,12	0,20	0,45	0,25
Val	3,31	2,49	0,33	0,51	0,84	2,78	1,94
Á. Asp	6,14	6,14	0,61	0,95	1,56	1,83	0,27
Á. Glu	8,75	9,47	0,87	1,36	2,23	3,76	1,54
Ala	5,58	2,38	0,55	0,87	1,42	2,83	1,41
Cis	0,53	0,75	0,05	0,08	0,13	0,43	0,29
Gli	9,21	2,34	0,91	1,43	2,34	2,71	0,36
Pro	4,97	2,61	0,49	0,77	1,26	1,78	0,51
Ser	2,93	2,76	0,29	0,46	0,75	1,83	1,09
Tir	1,96	1,76	0,19	0,30	0,50	1,33	0,83
Total	70,29	51,44	6,97	10,63	17,61	43,00	25,39

\* Determinado em laboratório.

<sup>ξ</sup> Nova exigência determinada pela relação A/E + exigência nutricional de lisina (Experimento 1).

Tabela 12 - Composição das dietas experimentais isoprotéicas (43% PB) e isoenergéticas (4.600 kcal/kg) do Experimento 3 (farelo de soja)

Ingrediente	Tratamento	
	Farelo de soja	Farelo de soja + Farinha de peixe
	----- % -----	
Mistura de aas	23,57 <sup>1/</sup>	27,10 <sup>1/</sup>
Farinha de peixe	-	9,92
Farelo de soja	31,04	15,53
Premix mineral <sup>2/</sup>	1,00	1,00
Premix vitamínico <sup>3/</sup>	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	1,00	1,00
BHT	0,02	0,02
Carboximetilcelulose	2,00	2,00
Betaína	1,50	1,50
NaOH	2,50	2,50
Dextrina	7,07	11,84
Óleo de salmão	15,61	15,35
Celulose	8,50	8,50
Ácido aspártico <sup>4/</sup>	2,09	0,84
Ácido glutâmico <sup>4/</sup>	2,10	0,90
Total	100,0	100,0

<sup>1/</sup> Correção (pelo princípio ativo dos aminoácidos sintéticos).

<sup>2/</sup> Níveis de garantia da mistura mineral (Agrocere<sup>®</sup>) por kg de produto: Fe 100.000mg; Cu 15.000mg; Zn 150.000mg; I 4.500mg; Mn 60.000mg; Se 400mg e Co 2.000mg.

<sup>3/</sup> Níveis de garantia da mistura vitamínica (Agrocere<sup>®</sup>) por kg de produto: vit. A 6.000.000 UI; vit. D<sub>3</sub> 2.250.000 UI; vit. E 75.000mg; vit. K 3.000mg; tiamina (B<sub>1</sub>) 5.000mg; riboflavina (B<sub>2</sub>) 10.000mg; niacina 30.000mg; piridoxina 8.000mg; ácido pantotênico 30.000mg; biotina 2.000mg; ácido fólico 3.000mg; cianocobalamina 20.000µg e ácido ascórbico (vit. C) 192.500mg.

<sup>4/</sup> Mistura de ácido aspártico e ácido glutâmico, utilizada para ajuste da quantidade de nitrogênio (proteína) em todas as dietas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Qualidade da água - lisina

Os parâmetros de qualidade de água durante o experimento mantiveram-se adequados ao conforto da espécie e semelhantes a valores relatados na literatura científica para realização de ensaios com a espécie (BOYD, 1984; GAZZOLA, 2003; MACHADO, 2004; SERAFINI, 2005; BRAGA; BORGHESI, CYRINO, 2008; BORGHESI, 2008). As médias das variáveis monitoradas estão apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13 - Médias dos parâmetros de qualidade da água durante o experimento

Parâmetro	Observações	Mínimo	Máximo	Média
Temperatura (8h) (°C)	65	21,7	28,5	26,1
O <sub>2</sub> D <sup>1/</sup> (8h) (mg/L)	96	4,8	6,3	5,3
Temperatura (17h) (°C)	65	22,0	30,0	27,3
O <sub>2</sub> D <sup>1/</sup> (17h) (mg/L)	60	3,2	6,3	5,0
pH	4	7,5	7,6	7,5

<sup>1/</sup> Oxigênio dissolvido.

### 4.2 Desempenho - lisina

Foi realizada uma análise exploratória dos dados de desempenho registrados. Os testes utilizados foram: ponto discrepante, homogeneidade da variância e escala da variável resposta. Somente para a variável conversão alimentar (CA), foi detectado um problema relacionado com uma das repetições do Tratamento 1 (1% de lisina), que foi considerado ponto discrepante e, conseqüentemente, eliminado da análise. O experimento de exigência de lisina foi conduzido por 62 dias.

Houve diferença entre as médias dos tratamentos ( $p < 0,05$ ) para os seguintes parâmetros: peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (Cons.), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE). Ao contrário do relatado por Foster e Ogata (1998), que verificaram coloração diferente nos juvenis de linguado japonês, *Paralichthys olivaceus*, alimentados com dieta deficiente em lisina e Ketola (1983), que observou que trutas arco-íris, *Onchorhynchus mykiss* (1,1g), alimentadas

com dietas deficientes em lisina apresentavam erosões nas nadadeiras caudais, não foram registrados sinais de deficiência ou anormalidades no desenvolvimento dos juvenis de dourado neste trabalho.

Tabela 14 - Parâmetros de desempenho dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina\*

Níveis Lisina	PF <sup>§</sup>	GP <sup>§</sup>	Cons. <sup>§</sup>	CA <sup>§</sup>	TCE <sup>§</sup>
	----- g -----				%
1,0	145,1 ± 7,5 <sup>b</sup>	9,7 ± 6,6 <sup>b</sup>	139,9 ± 5,9 <sup>b</sup>	13,0 ± 4,8 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,1 <sup>b</sup>
1,5	168,7 ± 11,9 <sup>ab</sup>	30,8 ± 10,9 <sup>ab</sup>	169,1 ± 7,6 <sup>ab</sup>	6,0 ± 1,8 <sup>ab</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>ab</sup>
2,0	188,5 ± 29,5 <sup>a</sup>	51,1 ± 27,4 <sup>ab</sup>	195,4 ± 17,3 <sup>a</sup>	4,8 ± 2,5 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
2,5	194,7 ± 28,9 <sup>a</sup>	57,0 ± 29,8 <sup>a</sup>	193,1 ± 27,4 <sup>a</sup>	4,7 ± 3,7 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
3,0	187,9 ± 8,1 <sup>ab</sup>	51,8 ± 8,0 <sup>ab</sup>	187,4 ± 17,9 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
3,5	202,4 ± 16,0 <sup>a</sup>	66,1 ± 18,1 <sup>a</sup>	194,6 ± 11,1 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,8 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>

PF: Peso final; GP: Ganho de peso; Cons.: Consumo de ração; CA: Conversão alimentar e TCE: Taxa de crescimento específico.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

Tabela 15 - Parâmetros de desempenho individual dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina\*

Níveis Lisina	PF <sup>§</sup>	GP <sup>§</sup>	Cons. <sup>§</sup>	CA <sup>§</sup>	TCE <sup>§</sup>
	----- g -----				%
1,0	12,6 ± 1,2 <sup>c</sup>	0,9 ± 0,6 <sup>b</sup>	12,7 ± 0,7 <sup>c</sup>	13,5 ± 5,0 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>c</sup>
1,5	15,0 ± 0,6 <sup>bc</sup>	2,7 ± 0,8 <sup>ab</sup>	14,8 ± 0,9 <sup>bc</sup>	5,8 ± 1,7 <sup>ab</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
2,0	17,5 ± 1,5 <sup>a</sup>	4,6 ± 2,2 <sup>a</sup>	17,3 ± 1,2 <sup>ab</sup>	4,5 ± 2,2 <sup>ab</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
2,5	17,8 ± 1,3 <sup>a</sup>	4,9 ± 2,2 <sup>a</sup>	17,7 ± 2,0 <sup>a</sup>	4,5 ± 2,9 <sup>ab</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
3,0	16,7 ± 0,7 <sup>ab</sup>	4,6 ± 0,7 <sup>a</sup>	16,8 ± 1,4 <sup>ab</sup>	3,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>ab</sup>
3,5	17,2 ± 0,9 <sup>ab</sup>	5,6 ± 1,4 <sup>a</sup>	17,0 ± 1,0 <sup>ab</sup>	3,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>

PFI: Peso final individual; GPI: Ganho de peso individual; Cons.I: Consumo de ração individual; CAI: Conversão alimentar individual e TCEI: Taxa de crescimento específico individual.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

### 4.3 Regressão polinomial e segmentada - lisina

Não foi possível fazer a determinação gráfica do melhor nível para a variável peso final (PF). Houve fraca tendência de o nível de lisina que propicia o melhor PF

estar entre 2,5% e 3,5% na dieta (Figura 1). Por meio da derivação da equação de regressão quadrática da variável peso final (PF), determinou-se que 3,16% de lisina dietética propicia o melhor peso final. O nível ótimo estimado (ponto de quebra) para a variável PF (195g) foi de 2,13% de lisina na dieta, ou 4,95% da proteína dietética (Figura 1). Este valor está abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial de segundo grau - 2,5% a 3,5% - de lisina na dieta (Figura 1) e da resolução algébrica da equação quadrática ajustada (3,16% de lisina na dieta), ou seja, utilizando somente os dados fornecidos pela regressão polinomial, poder-se-ia estar superestimando a exigência dietética em lisina.

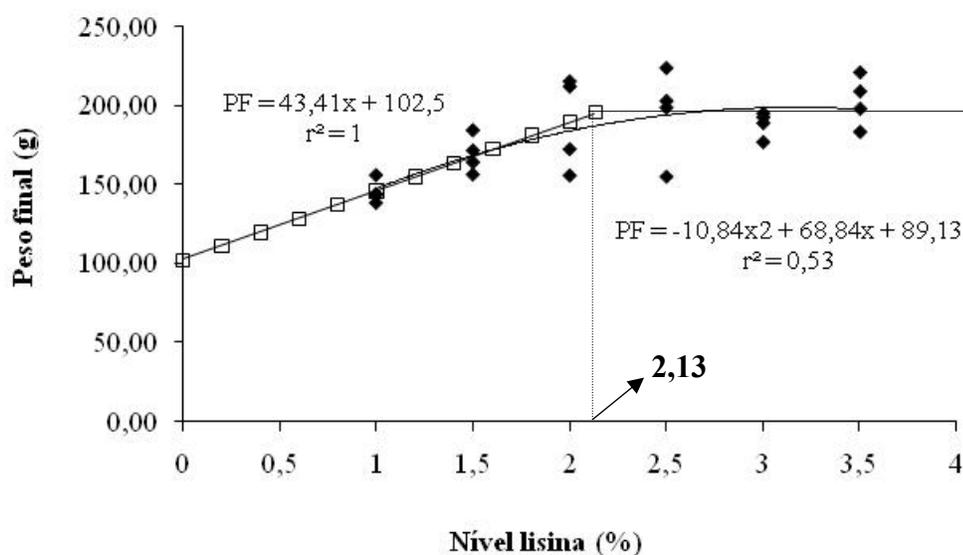


Figura 1 – Regressões para os valores de peso final (PF) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

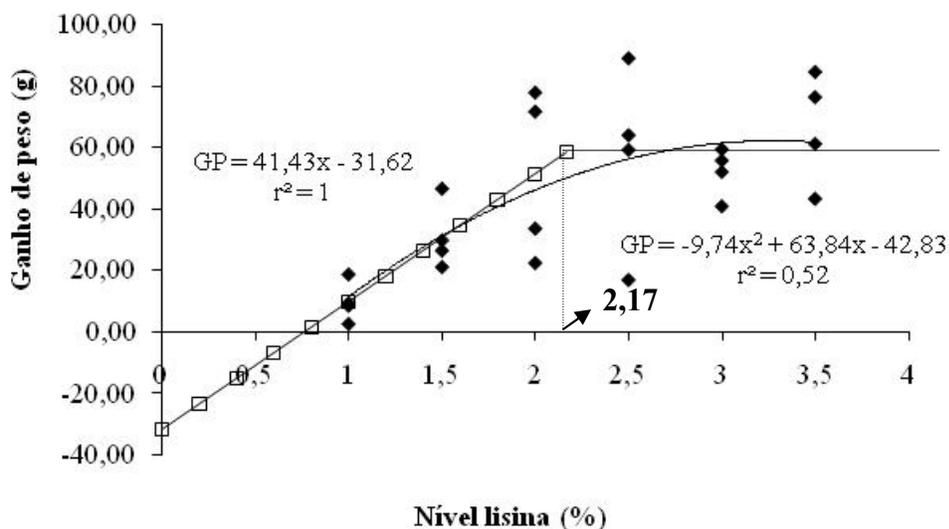


Figura 2 – Regressões para os valores de ganho de peso (GP) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

Por meio da curva de regressão referente ao ganho de peso (GP), foi determinado que o melhor índice de desempenho corresponde a níveis de lisina dietética entre 2,5 e 3,5% (Figura 2). Novamente, derivando a equação de regressão desta variável, foi determinado que 3,28% de lisina dietética correspondeu ao melhor GP. O nível ótimo estimado para a variável GP foi de 2,17% de lisina na dieta ou 5,04% da proteína dietética, que corresponde a ganho de 58,28g pela regressão segmentada (Figura 2). O valor obtido encontra-se novamente abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial (2,5% e 3,5% da dieta; Figura 2) e da análise algébrica com resolução da equação quadrática (3,28% de lisina na dieta), respectivamente. Neste caso, seguindo o conceito da regressão segmentada, um nível de lisina de 2,17% na dieta permitirá ganho de peso semelhante ou igual ao nível de 2,5% ou 3,5% de lisina na dieta determinado pela curva de regressão polinomial.

De fato, resultados de trabalhos sobre a determinação de exigências dietéticas em peixes podem apresentar resultados contrastantes, tanto em relações intra- como

inter-específicas. Keembiyehetty e Gatlin III (1992) determinaram a exigência em lisina para o “sunshine bass”, híbrido do “striped bass”, *Morone chrysops*, com o “white bass”, *Morone saxatilis*, como sendo 1,41% da dieta ou 4,03% da proteína dietética. Griffin, Brown e Grant (1992), também trabalhando com o “sunshine bass” em dois experimentos, determinaram valores de exigência entre 1,2 a 1,4% de lisina na dieta analisando pelo método da regressão segmentada os parâmetros ganho de peso, lisina no plasma e eficiência alimentar, entre outros. Estes valores foram menores que aqueles encontrados para o dourado. Small e Soares Jr. (1998) determinaram exigência de 2,2% em lisina na dieta do “striped bass”, valor igual ao determinado para o dourado. Aparentemente, os peixes híbridos têm exigências diferenciadas das espécies puras.

Small e Soares Jr. (2000), usando juvenis de “striped bass” (1,5g), registraram para ótimo ganho de peso exigência de 2,01% de lisina na dieta. Os autores consideraram que a menor exigência em lisina pelos híbridos de “striped bass” está relacionada à menor exigência em energia na ração destes híbridos. Brougher et al. (2004) ratificam as afirmações de Small e Soares Jr. (2000), e acrescentam que o uso de híbridos de “striped bass” é justificado apenas pelos altos índices de ganho de peso alcançados por estes animais (15,6g) em comparação ao “striped bass” (3,4g) em doze semanas, uma vez que os híbridos acumulam mais gordura na carcaça, característica indesejável.

Brown, Davis e Robinson (1988) definiram para juvenis de “red drum”, *Sciaenops ocellatus*, a exigência de 2,0% de lisina na dieta (5,7% da proteína dietética). Estes valores foram próximos aos obtidos para juvenis de dourado. A exigência em lisina na dieta que propicia ótimo desempenho do “yellowtail”, *Seriola quinqueradiata*, espécie importante na piscicultura japonesa, é menor que aquela determinada para o dourado, 1,78% da dieta ou 4,13% da proteína dietética (RUCHIMAT et al., 1997). A exigência em lisina determinada para o “milkfish”, *Chanos chanos*, importante espécie das Filipinas, Indonésia e Taiwan, é de 1,8% a 2,0% da dieta ou 4% da proteína dietética (BORLONGAN; BENITEZ, 1990; BORLONGAN; COLOSO, 1993). Exigências inferiores de lisina foram determinadas para o jundiá, *Rhamdia quelen* (1,36% de lisina na dieta ou 4,5% da proteína dietética) segundo Montes-Girao e Fracalossi (2006) e

carpa “Jian”, *Cyprinus carpio* var. Jian (1,89% de lisina na dieta ou 5,9% da proteína dietética) de acordo com X.Q. Zhou et al. (2007). Abboudi et al. (2006) definiram a exigência por lisina para alevinos de salmão do Atlântico (2g) em 2,25% da dieta. Este valor foi muito próximo ao obtido para juvenis de dourado. No mesmo ensaio, os autores determinaram que a lisina é responsável por 6% da proteína exigida para manutenção dos peixes.

Com base em resultados de análise da regressão segmentada, Luo et al. (2006) estabeleceram que para juvenis de garoupa, *Epinephelus coioides* (15,84g), o melhor ganho de peso é atingido com 2,83% de lisina dietética 5,56% de lisina na proteína dietética. Usando a mesma análise e o mesmo ensaio Mai et al. (2006b) determinaram para “sea bass” japonês, *Lateolabrax japonicus* (5,5g) a exigência em lisina em 2,49% da dieta (5,80% da proteína dietética). Para juvenis de “turbot”, *Scophthalmus maximus* (peso médio inicial de 18,1g) a exigência de 2,5% de lisina dietética (5% da proteína dietética) propiciou melhor ganho de peso (PERES; OLIVA-TELES, 2008). A exigência determinada para juvenis de dourado foi inferior aos trabalhos citados anteriormente. Uma vez mais, aparentemente existem diferenças interespecíficas causada pelo uso de animais experimentais de pesos e conseqüentemente idades diferentes que exigem lisina em proporções diferentes.

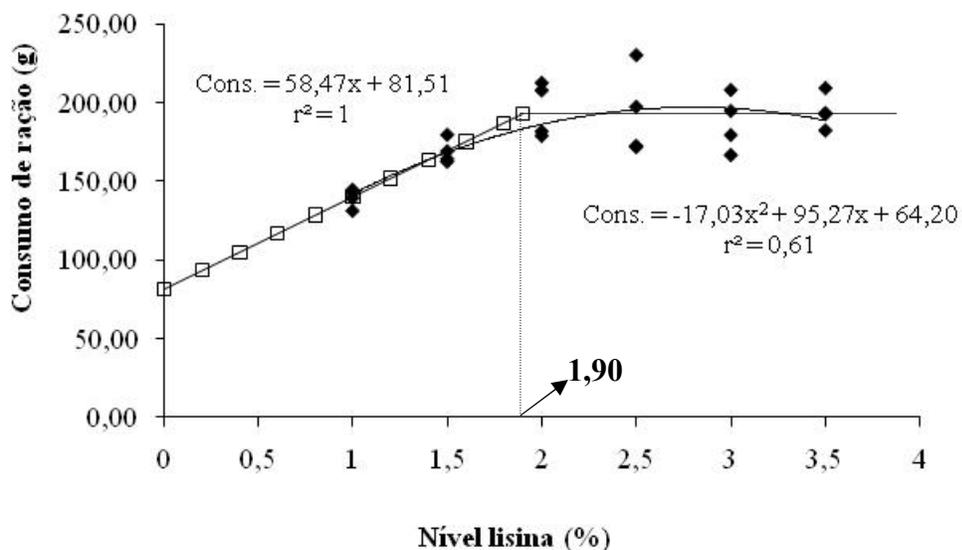


Figura 3 – Regressões para os valores de consumo em função do nível de lisina na dieta:  
(A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

Por meio da curva de regressão referente ao consumo de ração (Cons.) determinou-se que o melhor índice de desempenho correspondeu aos níveis de lisina dietética entre 2,0% a 3,5% (Figura 3). Novamente, derivando a equação de regressão desta variável, foi determinado que 2,8% de lisina dietética correspondeu ao melhor consumo. O nível ótimo estimado para a variável Cons. foi de 1,9% de lisina na dieta ou 4,42% da proteína dietética, correspondente a um consumo de 192,6g (Figura 3). O valor obtido encontra-se novamente abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial (2,0% a 3,5% da dieta; Figura 3) e da análise algébrica com resolução da equação quadrática (2,8% de lisina na dieta).

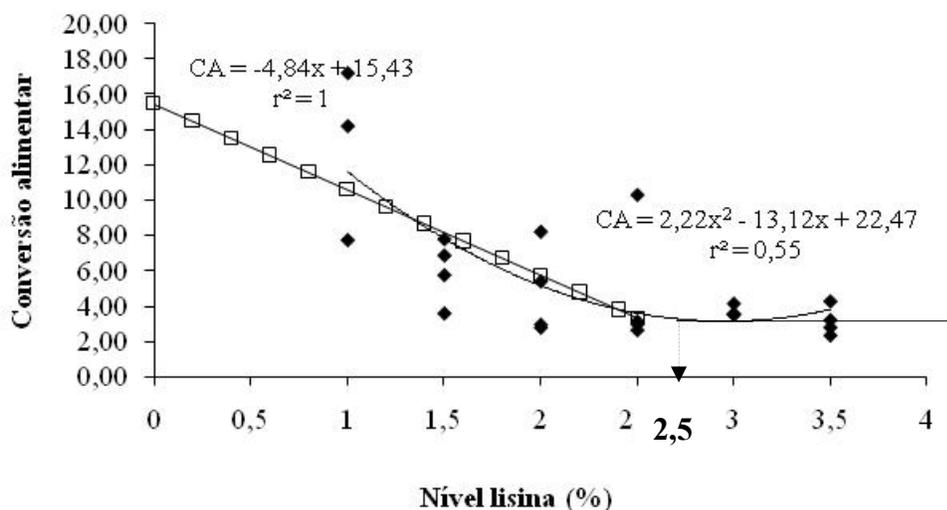


Figura 4 – Regressões para os valores de conversão alimentar (CA) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

Os melhores índices de conversão alimentar (CA) foram observados entre os níveis de 2,0% a 3,5% de lisina na dieta (Figura 4). Mais uma vez, em função da fraca tendência do melhor nível de lisina estar entre os valores 2,0% e 3,5% na dieta, a determinação gráfica do melhor nível foi impossibilitada. Pela derivação da equação de regressão foi estimado o valor de 2,94% de lisina dietética que propiciou a melhor conversão alimentar dos juvenis de dourados.

Para a variável conversão alimentar - CA (Figura 4), o ponto de quebra foi obtido no nível de 2,5% de lisina na dieta ou 5,8% da proteína dietética (CA = 3,33:1). Comparando este valor com a análise gráfica da curva de regressão polinomial, verifica-se que o ponto de quebra foi o ponto intermediário do intervalo de 2,0% a 3,5% de lisina na dieta determinada pela análise de regressão polinomial (Figura 4). Os valores de CA registrados para os dourados foram considerados apenas razoáveis e podem ser explicados pelo registro de ocorrências de rejeição tardia do alimento: ingestão, armazenamento e devolução à água, especialmente no início do experimento. Fracalossi et al. (2004) também verificaram médias de CA entre 3,52 e 3,82 para peixes de peso

vivo de 32,60g e 23,46g, respectivamente, associadas à baixa ingestão de alimento decorrente do manejo excessivo e da grande presença de indivíduos machos (apresentaram menor ganho de peso).

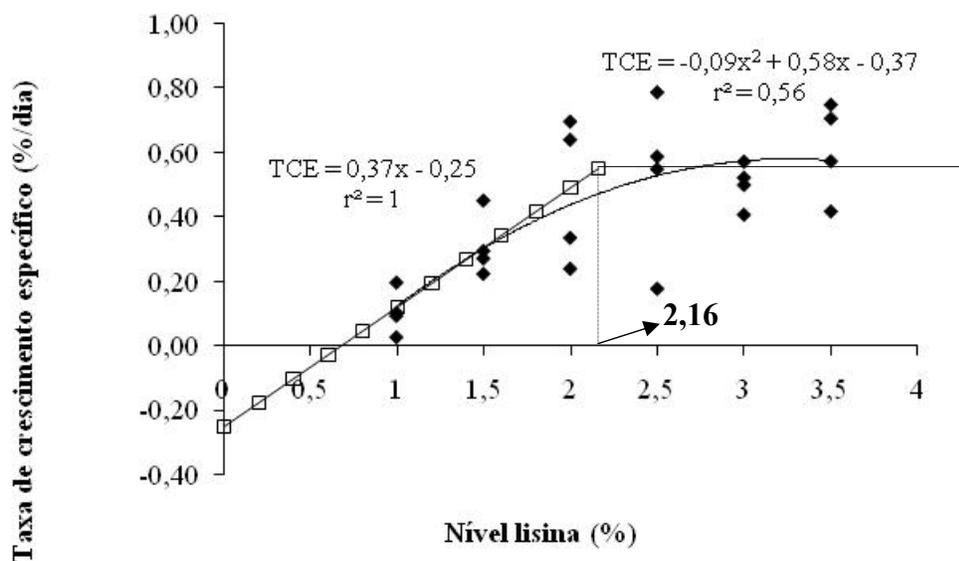


Figura 5 – Regressões para os valores de taxa de crescimento específico (TCE) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

Os melhores valores de TCE foram observados para os níveis 2,5% a 3,5% de lisina na dieta (Figura 5); pela derivação da equação de regressão foi determinado que 3,22% de lisina dietética está relacionado à melhor TCE. Foram registradas taxas de crescimento específico entre 0,11%/dia (T1) e 0,61%/dia (T6), valores considerados baixo e intermediário, respectivamente. Trabalhando em condições semelhantes, Almeida (2003) registrou para juvenis de pacus, *Piaractus mesopotamicus*, TCE = 2,72%/dia. Para a variável taxa de crescimento específico - TCE (Figura 5), o ponto de quebra foi obtido no nível de 2,16% de lisina na dieta ou 5,0% da proteína dietética (TCE = 0,55%/dia).

Novamente, este valor esteve abaixo do intervalo obtido pela análise gráfica da curva de regressão (2,5% a 3,5% de lisina na dieta; Figura 5) e pela resolução da equação quadrática (3,22%). Trabalhando com juvenis de “striped bass” (1,5g), Small e Soares Jr (2000) registraram TCE = 1,55%/dia para exigência em lisina de 2,01% da dieta. Em comparação com a mesma dose de lisina, os juvenis de “black bass” (1,29g) estudados por Dairiki, Dias e Cyrino (2007) apresentaram TCE = 2,06 %/dia. Para o dourado a TCE correspondente a 2,16% da dieta foi de apenas 0,55%/dia o que pode ser explicado pelo maior peso dos juvenis de dourado (11,4g) e pelo problema inicial de acidez das dietas.

Luo et al. (2006) trabalharam com juvenis de garoupa de peso semelhante (15,84g) em condições experimentais semelhantes e registraram TCE superiores a 2,00%/dia, porém a exigência estimada por lisina através da regressão segmentada foi de 2,8% da dieta ou 5,56% da proteína. Não relataram problemas com acidez das dietas e consequentemente com a aceitação das mesmas pelos animais. Os baixos valores de TCE, relacionados aos níveis mais baixos de lisina (1,0% e 1,5%), corroboram Berge, Sveier e Lied (2002). Estes autores relacionaram a baixa TCE com o uso de dietas semipurificadas e quantidades marginais de lisina e arginina.

Aplicando técnica de análise de regressão segmentada sobre dados de TCE, Q.C. Zhou et al. (2007) determinaram a exigência em lisina de juvenis de bijupirá, *Rachycentron canadum* (peso médio inicial 1,25g) como sendo 2,33% da dieta (5,30% da proteína dietética). Estudando a exigência dietética em lisina de juvenis de mrigal, *Cirrhinus mrigala* (4,30 ± 0,25cm; 0,63 ± 0,02g), Ahmed e Khan (2004a) estimaram por meio de equações polinomiais, níveis de exigência em lisina de 2,30% na dieta ou 5,75% da proteína dietética. Este valor foi muito mais próximo ao valor obtido pela análise de regressão segmentada do que pela análise gráfica e algébrica das regressões polinomiais deste experimento. Resultados similares foram determinados para alevinos de carpa capim, *Ctenopharyngodon idella* (3,15 ± 0,01g) por Wang et al. (2005) que, utilizaram o método da regressão polinomial e definiram a exigência de lisina para a espécie em torno de 2,24% da dieta (5,89% da proteína dietética).

Usando juvenis de “sea bass”, *Dicentrarchus labrax* ( $0,85 \pm 0,03\text{g}$ ), Tibaldi e Lanari (1991) determinaram, por meio do método da regressão segmentada, uma exigência em lisina de 2,17% da dieta ou 4,82% da proteína dietética. Rollin et al. (2003), trabalhando com juvenis de salmão do Atlântico, *Salmo salar* ( $1,39 \pm 0,02\text{g}$ ), registraram uma exigência em lisina de 2,39% da dieta ou 5,3% da proteína dietética. Foster e Ogata (1998) determinaram que a exigência em lisina para o linguado japonês (3g) e “red sea bream”, *Pagrus major* (1,7g) é, respectivamente, de 2,16% e 2,15% da dieta ou 4,6% e 4,4% da proteína dietética.

Todos estes valores relatados de exigência em lisina para várias espécies foram muito próximos àqueles registrados neste trabalho para o dourado. Coyle, Tidwell e Webster (2000) determinaram que a exigência em lisina do “black bass” é 2,8% da dieta ou 6,0% da proteína dietética. Estes valores foram superiores àqueles observados neste trabalho, porém, o peso dos peixes utilizados por Coyle, Tidwell e Webster (2000) foi maior ( $36,0 \pm 0,5\text{g}$ ).

Baseado nos dados de ganho de peso e utilização aparente de proteína, Montes-Girao e Fracalossi (2006) estimaram para o jundiá, *Rhamdia quelen*, a exigência de lisina dietética em 1,36% (4,5% da proteína dietética) pelo uso da regressão segmentada “broken line” e, valor de 1,54% da dieta (5,1% da proteína dietética) pela regressão polinomial. Todos estes valores foram inferiores aos estimados para o dourado. Pela comparação dos métodos, as autoras consideraram o método broken line mais preciso e econômico.

Pela análise gráfica das curvas de regressão observa-se que os níveis mais baixos de lisina das dietas - 1,0% e 1,5% - propiciaram pior desempenho, ou seja, baixos valores de peso final, ganho de peso, consumo e taxa de crescimento específico e piores conversões alimentares. Estes resultados corroboram relatos de Borlongan e Benitez (1990). Não foram observados problemas relacionados ao excesso de inclusão de lisina na dieta de juvenis de dourado. Não foram detectados sinais de possível antagonismo envolvendo os aminoácidos básicos lisina e arginina. Sendo o baixo crescimento, o sinal característico de antagonismo lisina: arginina, esta tendência não foi verificada, mesmo nos tratamentos com alta inclusão de lisina.

O uso da regressão polinomial para avaliar resultados de ensaios dose-resposta de níveis de nutrientes foi eficiente, uma vez que por meio da observação da linha de tendência, puderam ser extraídas algumas conclusões. Entretanto, este método de análise não permite a determinação gráfica precisa do melhor nível. O uso da solução algébrica das equações geradas superestimou os melhores níveis de lisina se comparado os valores obtidos pelo uso da regressão segmentada (“broken-line”).

Em resumo, o método da regressão segmentada tem se revelado, repetidamente, ferramenta muito útil na determinação das exigências nutricionais de aminoácidos para peixes. Os altos valores obtidos dos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) para as curvas de regressão segmentada em comparação às regressões polinomiais, evidencia maior acurácia e segurança na determinação do nível ótimo e mais econômico de lisina na dieta para o dourado pelo uso deste método.

#### **4.4 Sobrevivência, RHS, RLS, RVS e comprimentos (CT e CP) - lisina**

De acordo com Baras e Jobling (2002), perdas de peixes devido o canibalismo podem ser altas nos estágios de vida larval e nas formas jovens de peixes. Neste ensaio, não foram verificados sinais de canibalismo, inclusive no início do experimento e nas gaiolas com heterogeneidade de tamanho.

Não houve diferenças ( $p > 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos para a variável sobrevivência (Tabela 16). Keembiyehetty e Gatlin III (1992), em trabalho semelhante com “stipped bass” (8,0g), registraram sobrevivência de 100% em todas os níveis de lisina testados, inclusive nas dietas deficientes. Em contrapartida, Moon e Gatlin III (1991), trabalhando com “red drum”, *Sciaenops ocellatus*, de peso inicial 0,9g, observaram menor sobrevivência nos peixes alimentados com dietas deficientes em metionina. Mortandade de mais de 50% foram registradas por Rodehutsord et al. (1997) para trutas alimentadas com dietas deficientes em lisina (0,45%, 0,55% e 0,7% na dieta). Entretanto, estes níveis são considerados baixos; peixes alimentados com dietas contendo 0,85 e 1% de lisina apresentaram alta taxa de sobrevivência e quando a quantidade de lisina na dieta foi maior que 1%, a sobrevivência foi de 100%.

Aparentemente a mortalidade de juvenis de dourado neste experimento não foi causada por problema nutricional. Aparentemente as reações agonísticas de dominância, comportamento observado principalmente nas primeiras duas semanas do período experimental, tenham causado os episódios de mortalidade registrados.

Não houve diferenças ( $p > 0,05$ ) na relação lipo-somática (RLS) entre os tratamentos (Tabela 16). Estes resultados corroboram relato de Furuya et al. (2004a; 2006) para tilápias. Houve diferenças significativas na relação hepato-somática (RHS), relação víscero-somática (RVS) e comprimentos total e padrão (CT e CP). Na variável RHS, houve diferença estatística entre os tratamentos e se comparado com o início do experimento. Os tratamentos com níveis deficientes de lisina (1,0% e 1,5%) apresentaram valores inferiores de RHS. Wang et al. (2005) e Luo et al. (2006) também verificaram a mesma tendência para juvenis de carpa capim, *Ctenopharyngodon idella*, e garoupa, respectivamente. Porém, para a variável RVS os mesmos autores não observaram diferenças entre os tratamentos. Ao contrário dos trabalhos já citados, os tratamentos com níveis deficientes em lisina (1,0% e 1,5%) também apresentaram valores inferiores se comparados com os níveis intermediários e superiores de lisina e os dourados analisados no início do experimento, que apresentaram maior relação víscero-somática.

Os valores de RHS determinados por Tibaldi, Tulli e Lanari (1994) para “sea bass” (2,39 ~ 3,28%), por Q.C. Zhou et al. (2007) para bijupirá (3,39 ~ 4,71%), por Wang et al. (2005) para carpa capim (2,20 ~ 2,60%) e X.Q. Zhou et al. (2007) para carpa “Jian” (3,2 ~ 3,8%) foram superiores aos valores determinados para juvenis de dourado. Salmões do Atlântico alimentados com dietas com baixa inclusão de lisina apresentaram tamanhos de fígados superiores aos demais tratamentos em decorrência do acúmulo de gordura neste órgão (ESPE et al., 2007). Tendência contrária foi verificada para juvenis de dourado. De acordo com Fournier et al. (2003), RHS variou entre 1,1 a 1,3% para trutas arco íris (peso médio inicial de 9,3g) e entre 1,4 a 1,8% para turbot *Psetta máxima* (peso médio inicial de 7,4g). Peres e Oliva-Teles (2008) determinaram para “turbot” (peso médio inicial de 18,1g) valores de RHS entre 1,37 ~ 1,68. Estes valores foram

próximos aos obtido para juvenis de dourado, especialmente considerando o peso inicial médio semelhante.

Peres e Oliva-Teles (2008) observaram que peixes alimentados com dietas com baixa inclusão de lisina apresentaram maior relação hepato-somática. Os autores atribuíram esta tendência ao não aproveitamento dos outros aminoácidos da dieta. Nesse caso, estes aminoácidos foram deaminados e os esqueletos carbônicos originados se transformaram em lipídios e glicogênio que foram depositados nos fígados destes animais. Não foi possível determinar estes componentes nos fígados de juvenis de dourado.

Os valores de RVS dos tratamentos diminuíram ao final do experimento se comparado com o início do ensaio. Uma possível explicação pode ser atribuída ao aumento do incremento de massa muscular em virtude do rápido crescimento. Q.C. Zhou et al. (2007) determinaram para bijupirá, valores de RVS entre 10,71 ~ 14,88% e Wang et al. (2005) estabeleceram para carpa capim valores de RVS entre 10,0 ~ 10,45%. Estes valores foram superiores aos obtidos para juvenis de dourado (3,7 ~ 5,1%). Adicionalmente, para bijupirá, o maior valor relacionado a RVS foi de 14,88% que foi obtido em peixes alimentados com dietas com nível marginal de lisina. Para juvenis de dourado, a tendência foi justamente contrária.

Em relação ao comprimento total e padrão (CT e CP) dos animais, verificou-se que no nível mais próximo da exigência (2,0%) foram observados o maior comprimento total e padrão. Aparentemente, tanto as dietas com excesso quanto aquelas deficientes em lisina não induziram distúrbios fisiológicos severos nos animais, possivelmente em função do curto período experimental.

Tabela 16 - Sobrevivência, relações corporais e comprimento dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina\*

Níveis Lisina	S <sup>§</sup>	RHS <sup>§</sup>	RLS <sup>§</sup>	RVS <sup>§</sup>	CT <sup>§</sup>	CP <sup>§</sup>
	----- % -----				cm	cm
1,0	95,8 ± 4,8 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	3,7 ± 0,5 <sup>c</sup>	10,4 ± 1,0 <sup>c</sup>	9,4 ± 0,9 <sup>c</sup>
1,5	93,7 ± 4,7 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>bc</sup>	11,1 ± 0,9 <sup>b</sup>	10,1 ± 0,9 <sup>b</sup>
2,0	89,6 ± 8,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>ab</sup>	0,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	4,1 ± 0,4 <sup>bc</sup>	11,7 ± 1,0 <sup>a</sup>	10,7 ± 0,9 <sup>a</sup>
2,5	91,7 ± 16,7 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,5 <sup>abc</sup>	11,6 ± 0,9 <sup>ab</sup>	10,6 ± 0,8 <sup>ab</sup>
3,0	93,7 ± 4,2 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>ab</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,5 <sup>bc</sup>	11,3 ± 1,0 <sup>ab</sup>	10,3 ± 0,9 <sup>ab</sup>
3,5	97,9 ± 4,2 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,5 <sup>ab</sup>	11,5 ± 1,1 <sup>ab</sup>	10,5 ± 1,1 <sup>ab</sup>
Inicial	100,0	1,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	5,1 ± 1,4 <sup>a</sup>	9,4 ± 0,8 <sup>d</sup>	8,4 ± 0,8 <sup>d</sup>

S: Sobrevivência; RHS: Relação hepato-somática; RLS: Relação lipo-somática; RVS: Relação viscerosomática; CT: Comprimento total e CP: Comprimento padrão.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.5 Composição centesimal carcaça - lisina

Em relação aos parâmetros de qualidade e composição centesimal de carcaça, foi detectado diferença estatística ( $p<0,05$ ) apenas para os valores de proteína bruta (PB). Neste caso, o tratamento que correspondeu a não inclusão de lisina sintética (1% de lisina) apresentou menor valor de PB se comparado ao início do experimento e tratamentos com maior inclusão de lisina sintética (2,5; 3,0 e 3,5% de lisina).

Rodehutsord et al. (2000b) determinaram que 2,77% de lisina na dieta de truta arco-íris condicionam o máximo acréscimo de proteína na composição corporal. Rodehutsord et al. (2000a) verificaram também tendência de aumento da concentração de proteína e diminuição da concentração de lipídios em trutas alimentadas com dietas contendo 2,56% de lisina. O nível de 1,85% de lisina na dieta induziu aumento da retenção de proteína e diminuição do teor de gordura na carcaça do “yellowtail” (RUCHIMAT et al., 1997). Para juvenis de dourado esta tendência foi muito clara no nível de 3,0% de lisina na dieta, embora não tenham sido verificadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 17).

Espe et al. (2007) determinaram a máxima deposição protéica no intervalo entre 2,21 ~ 2,64% de lisina para salmão do Atlântico utilizando o modelo exponencial não

linear. Montes-Girao e Fracalossi (2006) determinaram a máxima deposição protéica nos níveis superiores a 1,36% de lisina dietética para jundiá. Neste mesmo trabalho, os níveis de matéria mineral foram considerados altos (10,69 ~ 13,52%). A inclusão de níveis crescentes de lisina não promoveu alterações na composição corporal de juvenis de “turbot” (PERES; OLIVA-TELES, 2008). Os valores de proteína bruta 14,0 ~ 15,2%; lipídio bruto 2,5 ~ 2,9% e cinzas 4,4 ~ 4,9% foram próximos aos obtidos para dourado.

A composição corporal não foi significativamente afetada pela inclusão de lisina dietética para juvenis de garoupa (LUO et al., 2006). Neste estudo, os valores de proteína bruta, lipídio e cinzas foram 18,7%; 6,0% e 4,9%, respectivamente. Mai et al. (2006b) determinaram valores corporais de “sea bass” japonês de 20% PB, 7,8% de lipídio e 7,8% de cinzas. Todos estes valores foram superiores aos valores determinados para o dourado. Mais uma vez, as diferenças observadas na literatura em relação ao experimento são atribuídas às diferenças espécie-específicas e até mesmo pela variação de metodologias de análises de composição centesimal.

Tabela 17 - Composição centesimal (em matéria natural) das carcaças de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina\*

Níveis Lisina	Proteína bruta <sup>§</sup>	Extrato etéreo <sup>§</sup>	Matéria mineral <sup>§</sup>
	----- % -----		
1,0	15,3 ± 0,5 <sup>b</sup>	3,2 ± 1,3 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,5 <sup>a</sup>
1,5	16,6 ± 0,6 <sup>ab</sup>	3,5 ± 2,1 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,5 <sup>a</sup>
2,0	16,6 ± 1,3 <sup>ab</sup>	4,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,7 <sup>a</sup>
2,5	16,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,4 <sup>a</sup>
3,0	17,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,6 <sup>a</sup>
3,5	17,1 ± 0,6 <sup>a</sup>	4,1 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,4 <sup>a</sup>
Inicial	17,0 <sup>a</sup>	4,6 <sup>a</sup>	2,9 <sup>a</sup>

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

<sup>§</sup> Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.6 Parâmetros sanguíneos - lisina

Houve diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os valores observados de hematócrito e proteína plasmática (Tabela 18). Para hematócrito, foi verificado que o nível de 3,0% de lisina na dieta propiciou o maior valor (50,5%) e o menor valor foi correspondente ao valor inicial. Foi registrado menor nível de proteína plasmática em animais alimentados com as dietas próxima à exigência (2,0%) e na dieta com nível mais elevado de lisina (tratamento 3,5% de lisina). Wang et al. (2005) e Luo et al. (2006) relacionaram a maior concentração de proteína plasmática com o aumento dos níveis de suplementação de lisina nas dietas experimentais. No presente experimento, esta tendência não foi verificada. Uma das possíveis explicações sobre a impossibilidade da verificação de diferenças nos níveis de proteína plasmática dos tratamentos pode estar ligada ao longo período de jejum (24 horas) a que foram submetidos os peixes. O pico de aminoácidos livres no sangue é verificado 6 horas pós-alimentação e este é o período correto para coleta de amostras de sangue (TANTIKITTI; CHIMSUNG, 2001; SUNDE et al., 2003; ZHOU; ZHAO; LIN, 2007).

Q.C. Zhou et al. (2007) determinaram valores para proteína total de juvenis bijupirá entre 3,79 ~ 4,33g/100mL. Luo et al. (2006) determinaram para garoupa valores de proteína plasmática entre 3,9 ~ 4,4g/dL e Wang et al. (2005) para carpa capim valores entre 3,77 ~ 4,47g/dL. Estes valores foram próximos aos obtidos neste experimento e pode se inferir que animais de hábito alimentar semelhantes – com exceção da carpa capim – além de possuir exigência protéica similar, possuem comportamento fisiológico semelhante. Para glicose sanguínea, Wang et al. (2005) verificaram diferenças entre tratamentos, sendo que os menores valores corresponderam aos níveis marginais de lisina. Para juvenis de dourado não houve diferenças entre tratamentos e com o início do experimento. Valores de hematócrito determinados para juvenis de bijupirá (27,23 ~ 36,87%) segundo Q.C. Zhou et al. (2007) foram inferiores se comparado com os valores determinados para o dourado (37,9 ~ 50,5%).

Tabela 18 - Parâmetros sanguíneos dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina\*

Níveis Lisina	Hematócrito <sup>§</sup> (%)	Proteína plasmática <sup>§</sup> (g/dL)	Glicose <sup>§</sup> (mg/dL)
1,0	48,4 ± 6,5 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>	97,9 ± 19,7 <sup>a</sup>
1,5	46,1 ± 6,5 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,5 <sup>ab</sup>	115,1 ± 22,9 <sup>a</sup>
2,0	44,4 ± 4,3 <sup>ab</sup>	4,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	82,8 ± 15,9 <sup>a</sup>
2,5	48,8 ± 9,9 <sup>ab</sup>	4,6 ± 0,6 <sup>ab</sup>	95,8 ± 14,4 <sup>a</sup>
3,0	50,5 ± 7,5 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,7 <sup>ab</sup>	111,4 ± 25,2 <sup>a</sup>
3,5	47,7 ± 6,9 <sup>ab</sup>	4,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	109,7 ± 25,4 <sup>a</sup>
Inicial	37,9 ± 8,1 <sup>b</sup>	5,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	93,0 ± 13,5 <sup>a</sup>

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

<sup>§</sup> Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,01$ ).

#### 4.7 Relação A/E de aminoácidos

Uma das razões da escassez de informações sobre a exigência em aminoácidos da maioria das espécies de peixes é a necessidade de conduzir no mínimo 10 ensaios, um para cada aminoácido essencial, o que consome tempo e dinheiro (TWIBELL et al., 2003). Outro fator limitante no interesse do estudo de aminoácidos é que, geralmente, quando fontes de proteína de alta qualidade são incorporadas às dietas, a probabilidade de ocorrer deficiência nutricional em aminoácidos essenciais é muito remota (NGAMSNAE; DE SILVA; GUNASEKERA, 1999). Entretanto, quando se determina a exigência para um aminoácido essencial, a lisina, por exemplo, e se conhece o padrão de aminoácidos essenciais da carcaça, a exigência dietética dos outros nove aminoácidos essenciais pode ser expressa em relação à exigência em lisina, utilizando-se a relação ou taxa A/E (SMALL; SOARES JR., 1998; FAGBENRO, 2000; BALL; URSCHEL; PENCHAZ, 2007).

Como forma mais prática da determinação das exigências em aminoácidos essenciais, Ngamsnae, De Silva e Gunasekera (1999) utilizaram o conceito de proteína ideal, a partir do perfil de aminoácidos do tecido muscular da perca prateada, *Bidyanus bidyanus*, para determinar a exigência em arginina, em experimento dose-resposta com juvenis da espécie. Posteriormente, utilizando a taxa A/E, foram estimados os valores de exigência para os outros aminoácidos essenciais, inclusive fenilalanina. Estes

pesquisadores comprovaram a eficácia do uso da relação A/E por meio de um ensaio dose-resposta para determinação da exigência em fenilalanina. A exigência em fenilalanina determinada experimentalmente foi similar à exigência estimada pela relação A/E, ficando demonstrada assim a eficácia desta ferramenta na formulação de dietas. Nas Tabelas 19 e 20 são apresentados, respectivamente, os dados relativos à estimativa de exigência em aminoácidos do dourado calculados por meio da taxa A/E e comparação entre as exigências em aminoácidos determinadas para várias espécies.

Tabela 19 - Relação A/E e exigência nutricional estimada dos aminoácidos essenciais

Aminoácido	Dieta referência para 43% proteína (g 100/g) <sup>1/</sup>	Aminoácidos essenciais dos tecidos corporais <sup>2/</sup>	Aminoácidos essenciais (referência lisina)	Nova exigência nutricional estimada (g 100/g)	Referência para 43% proteína (g 100/g) a partir da nova exigência estimada
Arginina	2,74	120,14	68,35	1,48	<b>3,45</b>
Histidina	1,15	50,55	28,76	0,62	<b>1,45</b>
Fenilalanina	1,83	80,35	45,71	0,99	<b>2,31</b>
Isoleucina	1,98	86,95	49,46	1,07	<b>2,50</b>
Leucina	3,53	154,85	88,09	1,91	<b>4,45</b>
Lisina	4,01	175,78	100	2,17 <sup>3/</sup>	<b>5,05</b>
Metionina	1,24	54,32	30,90	0,67	<b>1,56</b>
Treonina	2,00	87,51	49,79	1,08	<b>2,51</b>
Triptofano	0,36	15,65	8,91	0,19	<b>0,45</b>
Valina	2,21	96,76	55,04	1,19	<b>2,78</b>
Cistina <sup>4/</sup>	0,43 <sup>5/</sup>				
Tirosina <sup>4/</sup>	1,33 <sup>5/</sup>				
Á. Aspártico <sup>4/</sup>	4,56 <sup>5/</sup>				
Á. Glutâmico <sup>4/</sup>	6,49 <sup>5/</sup>				
Alanina <sup>4/</sup>	2,83 <sup>5/</sup>				
Glicina <sup>4/</sup>	2,71 <sup>5/</sup>				
Prolina <sup>4/</sup>	1,78 <sup>5/</sup>				
Serina <sup>4/</sup>	1,83 <sup>5/</sup>				

<sup>1/</sup> Média das carcaças coletadas e analisadas.

<sup>2/</sup> Relação A/E = [aa essencial / (soma dos aas essenciais + cistina + tirosina)] \* 1000.

<sup>3/</sup> Valor determinado pelo experimento dose-resposta.

<sup>4/</sup> Aminoácido não essencial.

<sup>5/</sup> Exigência estimada para o dourado (43% PB dietética) com base na composição da carcaça.

Tabela 20 - Comparação entre exigências nutricionais em aminoácidos determinadas para várias espécies

Aminoácido	Salmão Chum <sup>1/</sup>	Striped bass <sup>2/</sup>	Salmão do Atlântico <sup>3/</sup>	Black bass <sup>4/</sup>	Dourado <sup>5/</sup>
Arginina	2,60	1,25	1,82	2,00	1,48
Histidina	0,70	0,51	0,67	0,50	0,62
Isoleucina	1,00	0,80	ND	0,90	1,07
Leucina	1,50	1,71	ND	2,00	1,91
<b>Lisina</b>	<b>1,90</b>	<b>2,02</b>	<b>2,39</b>	<b>2,10</b>	<b>2,17</b>
Metionina + cistina	1,20	0,92	1,54	1,00	0,90
Fenilal. + tirosina	2,50	1,60	2,51	1,70	1,71
Treonina	1,20	0,98	1,21	1,10	1,08
Triptofano	0,30	0,19	0,33	0,20	0,19
Valina	1,20	0,91	1,41	1,40	1,19

ND = Não determinado.

<sup>1/</sup> NRC (1993).

<sup>2/</sup> Small e Soares Jr (1998).

<sup>3/</sup> Rollin et al. (2003).

<sup>4/</sup> Dairiki, Dias e Cyrino (2007).

<sup>5/</sup> dados originais da pesquisa.

As exigências nutricionais em aminoácidos essenciais determinadas para diversas espécies, em especial para salmonídeos e centrarchídeos, mas incluindo agora o caracídeo dourado, são semelhantes (Tabela 20). Exceção ao NRC (1993), todos os dados de exigências nutricionais foram determinados com o uso da relação A/E e com base no perfil de aminoácidos dos tecidos das diferentes espécies estudadas.

Segundo Kim e Lall (2000), o uso da taxa A/E permite determinar semelhanças nas exigências dos aminoácidos essenciais para espécies diferentes com idades diferentes. Comparando a composição em aminoácidos dos tecidos corporais do “halibut” do Atlântico, *Hippoglossus hippoglossus*, “yellowtail”, linguado, *Paralichthys ferruginea*, e linguado japonês, Kim e Lall (2000) verificaram alto grau de similaridade entre os aminoácidos essenciais expressos na relação A/E. Observações semelhantes foram relatadas por Campos, Martino e Trugo (2006) em estudo com o surubim pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*. Borlongan e Coloso (1993) demonstraram que exigências em aminoácidos como a arginina, leucina, lisina, triptofano e valina determinadas experimentalmente, foram menores em comparação aos valores encontrados nos tecidos

protéicos do “milkfish”, mas para os outros aminoácidos essenciais, os níveis foram similares aos níveis do tecido protéico.

Em comparação com os valores de exigência determinados para o dourado (Tabela 19) foram observados valores superiores de exigência para salmão do Atlântico (peso médio inicial de  $383 \pm 62$ g) exigência de 2,02% de arginina dietética (4,8% da proteína dietética) (BERGE; LIED; SVEIER, 1997). Alam et al. (2002a) determinaram a exigência de arginina de alevinos de linguado japonês (peso médio inicial de  $1,85 \pm 0,05$ g) em torno de 2,05% (4,14% da proteína dietética).

Thebault et al. (1985) determinaram a exigência de 1,0% de metionina de juvenis de “sea bass” (peso médio inicial de  $35 \pm 5$ g). Utilizando o método da regressão segmentada “broken line”, Luo et al. (2005) determinaram para juvenis de garoupa *Epinephelus coioides* (peso médio inicial de  $13,25 \pm 0,19$ g) exigência de 1,31% de metionina dietética. Mai et al. (2006a) e Murthy e Varghese (1998), determinaram a exigência de metionina para “yellow croaker”, *Pseudosciaena croacea*, e “Indian major carp”, *Labeo rohita*, como 1,41% e 1,15% de metionina dietética, respectivamente.

Para o aminoácido metionina Mai et al. (2006a) determinaram a exigência de juvenis de “yellow croaker” (peso médio inicial de 1,23g) sendo de 1,44% da dieta (3,34% da proteína dietética) e de 1,39% da dieta (3,22% da proteína dietética) com o uso da análise da regressão polinomial de segundo grau para os parâmetros de desempenho: taxa de crescimento específico e conversão alimentar, respectivamente. Zhou et al. (2006) determinaram a exigência de 1,19% de metionina para juvenis de bijupirá (peso médio inicial de  $11,61 \pm 0,16$ g). Para juvenis de “rockfish”, *Sebastes schlegeli* (peso médio inicial de 43,61g) foi determinado a exigência de 1,37% da dieta (2,8% da proteína dietética) (YAN et al., 2007) e para juvenis de garoupa ( $13,25 \pm 0,19$ g) a exigência de 1,31% da dieta (2,73% da proteína dietética) (LUO et al., 2005). Além disso, Goff e Gatlin III (2004) concluíram que cerca de 50% da metionina dietética pode ser substituída por cistina – aminoácido não essencial – na nutrição de juvenis de “red drum”.

Ahmed et al. (2004b) e Ahmed e Khan (2005) determinaram para alevinos de “Indian major carp” ( $0,52 \pm 0,21$ g e  $0,62 \pm 0,02$ g, respectivamente) a exigência de 1,8%

de treonina dietética e 0,38% de triptofano dietético. Borlongan (1991) determinou para alevinos de milkfish (peso médio inicial de  $1,29 \pm 0,13\text{g}$ ) a exigência de 1,8% de treonina dietética. Todos estes valores foram superiores aos estimados e registrados para o dourado.

Tibaldi, Tulli e Lanari (1994) determinaram a exigência por arginina de alevinos de “sea bass” ( $2,1 \pm 0,05\text{g}$ ) em 1,81% (3,9% da proteína dietética), e Tibaldi e Tulli (1999) determinaram com a utilização do método de regressão segmentada a exigência de 1,26% de treonina dietética para juvenis de “sea bass” ( $7,5 \pm 0,15\text{g}$ ). Bodin et al. (2008), também utilizando regressão segmentada, determinaram a exigência de treonina de 1,06% da dieta (2,6% da proteína dietética) e de 1,07% da dieta (2,7% da proteína dietética) para juvenis de truta arco-íris (peso médio inicial de 1,8g) e alevinos de salmão do Atlântico (peso médio inicial de 0,8g), respectivamente. Estes valores foram próximos aos estimados para o dourado. Keembiyehetty e Gatlin III (1997) determinaram a exigência por treonina para juvenis de “sunshine bass” de 0,9% da dieta (2,6% da proteína dietética); este valor também foi próximo ao registrado para juvenis de dourado (1,08% de treonina na dieta).

Os valores estimados de exigência de aminoácidos de juvenis de dourado (Tabela 19) apresentaram alta similaridade com os dados obtidos e estimados por meio do uso da relação A/E para juvenis de “turbot” (PERES; OLIVA-TELES, 2008). Mesmo, se tratando de espécies distintas, o dourado uma espécie tropical de água doce e o “turbot” uma espécie marinha de clima temperado, apresentaram praticamente a mesma exigência por aminoácidos essenciais. Como explicação plausível e segura pode se relacionar esta alta similaridade na exigência nutricional em proteína e, conseqüentemente, aminoácidos ao hábito alimentar comum das duas espécies.

Assim como para proteína, peixes carnívoros possuem exigências próximas por aminoácidos essenciais. As diferenças individuais encontradas e reportadas acima para alguns aminoácidos pode estar mais ligada à diferença de idade, peso e condições experimentais. Segundo Limin, Feng e Jing (2006) existe diferença espécie-específica do perfil de aminoácidos e dos níveis de exigência para cinco espécies de peixes de hábito alimentar carnívoro estudadas.

A relação A/E é ferramenta importante e confiável para estimar níveis de exigência em aminoácidos essenciais por uma determinada espécie, mas variações espécie-específicas devem ser consideradas. O uso do perfil de aminoácidos corporais como base do perfil de aminoácidos dietéticos é viável e traz muitos benefícios como a formulação de dietas mais adequadas e com menos desperdício de nutrientes.

#### 4.8 Qualidade da água - arginina e farelo de soja

Os parâmetros de qualidade de água durante o experimento mantiveram-se adequados ao conforto da espécie e semelhantes a valores relatados na literatura científica para realização de ensaios com a espécie (BOYD, 1984; GAZZOLA, 2003; MACHADO, 2004; SERAFINI, 2005 BRAGA; BORGHESI, CYRINO, 2008, BORGHESI, 2008). As médias das variáveis monitoradas estão apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21 - Médias dos parâmetros de qualidade da água durante os Experimentos 2 e 3

Parâmetro	Observações	Mínimo	Máximo	Média
Temperatura (8h) (°C)	61	23,0	29,0	26,1
O <sub>2</sub> D <sup>1/</sup> (8h) (mg/L)	168	5,4	7,0	6,3
Temperatura (17h) (°C)	61	23,0	30,0	26,8
O <sub>2</sub> D <sup>1/</sup> (17h) (mg/L)	168	3,9	6,8	5,7
pH	6	7,4	7,5	7,5

<sup>1/</sup> Oxigênio dissolvido.

#### 4.9 Desempenho - arginina

Foi realizada uma análise exploratória dos dados obtidos de desempenho. Os testes utilizados foram: ponto discrepante, homogeneidade da variância e escala da variável resposta (SAS, 2000). Somente para a variável conversão alimentar (CA), foi detectado um problema relacionado com uma das repetições do tratamento 5 (3% de arginina), que foi considerado ponto discrepante e conseqüentemente eliminado da análise. O experimento de exigência de arginina foi conduzido por 60 dias.

Não houve diferença entre as médias dos tratamentos ( $p>0,05$ ) para os seguintes parâmetros: peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (Cons.) e taxa de crescimento específico (TCE). Houve diferença estatística para a variável-resposta conversão alimentar (CA). Assim como destacado por Ketola (1983) e Borlongan (1991), os peixes alimentados com dietas sem inclusão de arginina (1% de arginina na dieta) apresentaram baixo consumo de alimento, pior desempenho e consequentemente baixo crescimento.

Tabela 22 - Parâmetros de desempenho dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina\*

Nível arginina	PF <sup>§</sup>	GP <sup>§</sup>	Cons. <sup>§</sup>	CA <sup>§</sup>	TCE <sup>§</sup>
	----- g -----				%
1,0	416,2 ± 7,6 <sup>a</sup>	92,1 ± 15,2 <sup>a</sup>	233,5 ± 14,7 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
1,5	490,0 ± 24,6 <sup>a</sup>	161,3 ± 21,9 <sup>a</sup>	297,4 ± 18,7 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
2,0	461,4 ± 18,5 <sup>a</sup>	136,1 ± 18,1 <sup>a</sup>	280,6 ± 21,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
2,5	464,7 ± 47,2 <sup>a</sup>	144,9 ± 37,9 <sup>a</sup>	293,8 ± 36,7 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,4 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
3,0	463,2 ± 68,3 <sup>a</sup>	142,5 ± 66,6 <sup>a</sup>	301,9 ± 55,7 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,9 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>

PF: Peso final; GP: Ganho de peso; Cons.: Consumo de ração; CA: Conversão alimentar e TCE: Taxa de crescimento específico.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

Tabela 23 - Parâmetros de desempenho individual dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina\*

Nível arginina	PFI <sup>§</sup>	GPI <sup>§</sup>	Cons.I <sup>§</sup>	CAI <sup>§</sup>	TCEI <sup>§</sup>
	----- g -----				%
1,0	34,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,7 ± 1,3 <sup>a</sup>	19,4 ± 1,2 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
1,5	40,8 ± 2,0 <sup>a</sup>	13,4 ± 1,8 <sup>a</sup>	24,8 ± 1,6 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
2,0	38,4 ± 1,5 <sup>a</sup>	11,3 ± 1,5 <sup>a</sup>	23,4 ± 1,8 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
2,5	38,7 ± 3,9 <sup>a</sup>	12,1 ± 3,2 <sup>a</sup>	24,5 ± 3,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,4 <sup>ab</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
3,0	39,4 ± 5,1 <sup>a</sup>	12,6 ± 5,3 <sup>a</sup>	25,2 ± 4,6 <sup>a</sup>	1,8 ± 1,0 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>

PFI: Peso final individual; GPI: Ganho de peso individual; Cons.I: Consumo de ração individual; CAI: Conversão alimentar individual e TCEI: Taxa de crescimento específico individual.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

Para o nível nulo de inclusão de arginina sintética (1% de arginina na dieta), foi observada a pior conversão alimentar. Com a inclusão de arginina sintética foi observada uma tendência de melhora da conversão alimentar, porém apenas o nível 1,5% de arginina diferiu do pior tratamento (Tabelas 22 e 23). Esta mesma tendência foi observada para juvenis de trutas arco-íris alimentadas com dietas com vários níveis de inclusão de arginina sintética (KAUSHIK et al., 1988). Para os valores de taxa de crescimento específico, os autores observaram TCE semelhantes aos obtidos para juvenis de dourado.

#### **4.10 Regressão polinomial e segmentada - arginina**

Não foi possível fazer a determinação gráfica do melhor nível para a variável peso final (PF). Houve fraca tendência de o nível de arginina que propicia o melhor PF estar entre 1,5% e 3,0% na dieta (Figura 6). Por meio da derivação da equação de regressão cúbica da variável peso final (PF), determinou-se que 1,68% e 2,66% de arginina dietética propiciaram o melhor e o pior peso final, respectivamente. O nível ótimo estimado (ponto de quebra) para a variável PF (481g) foi de 1,50% de lisina na dieta, ou 3,49% da proteína dietética (Figura 6). Este valor correspondeu ao menor valor do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial de terceiro grau - 1,5% a 3,0% - de arginina na dieta (Figura 6) e da resolução algébrica da equação cúbica ajustada (1,68% de arginina na dieta), ou seja, utilizando somente os dados fornecidos pela regressão polinomial, poder-se-ia estar superestimando o nível de arginina na dieta.

Lall et al. (1994) determinaram para juvenis de salmão do Atlântico (peso médio inicial de 110g) a exigência de 1,6% de arginina na dieta (92,8% MS) ou 4,1% de arginina na proteína dietética. Convertendo a exigência determinada por estes autores para matéria natural verificou-se uma exigência de 1,48% de arginina na dieta e 3,8% da proteína dietética. Estes valores foram praticamente idênticos ao determinado para juvenis de dourado. A alta similaridade de exigência em arginina das duas espécies se deve ao hábito alimentar - carnívoro.

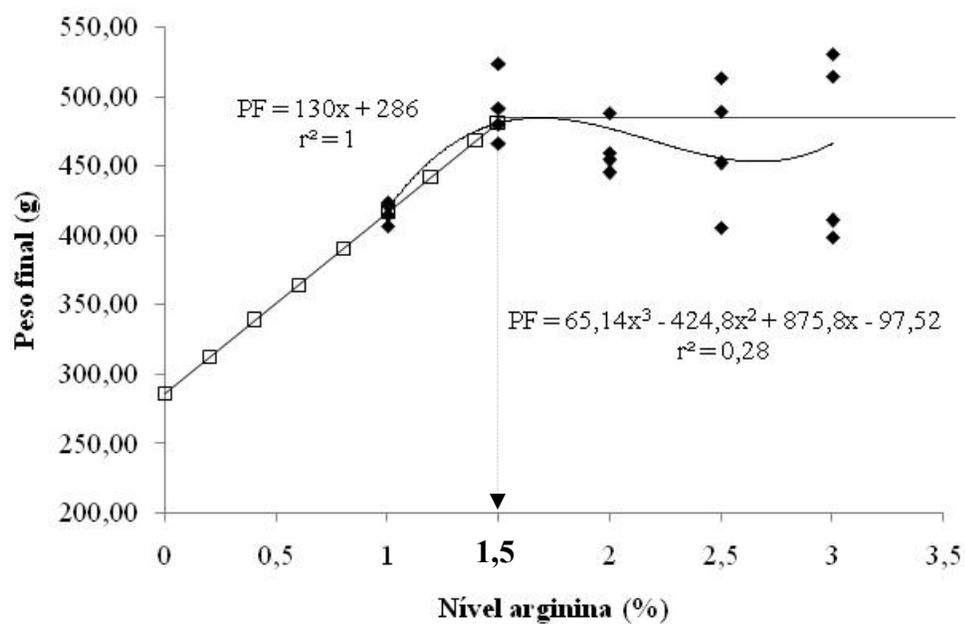


Figura 6 – Regressões para os valores de peso final (PF) em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

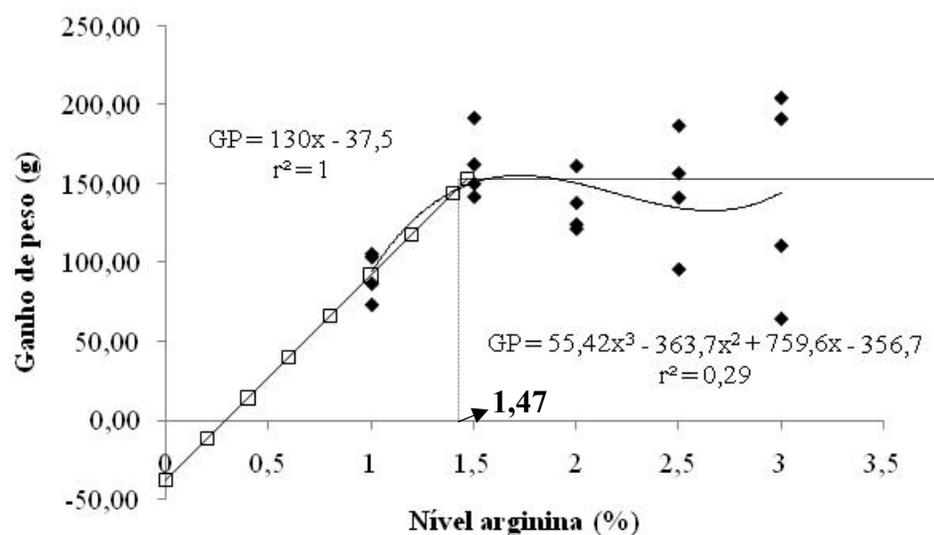


Figura 7 – Regressões para os valores de ganho de peso (GP) em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

Por meio da curva de regressão para GP, foi determinado que o melhor índice de desempenho corresponde a níveis de arginina dietética entre 1,5 e 3,0% da dieta (Figura 7). Novamente, derivando a equação de regressão desta variável, foram determinados que 1,72% e 2,65% de arginina dietética corresponderam ao melhor e pior GP, respectivamente. O nível ótimo estimado para a variável GP foi de 1,47% de arginina na dieta ou 3,42% da proteína dietética e corresponde a ganho de 153,6g (Figura 7). O valor obtido encontra-se novamente abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial (1,5% e 3,0% da dieta; Figura 7) e da análise algébrica com resolução da equação quadrática (1,72% de arginina na dieta, respectivamente).

Borlongan (1991) determinou para alevinos de “milkfish” (0,7g) e por meio da regressão segmentada, a exigência de 2,1% de arginina na dieta (5,25% da arginina da proteína dietética). Tibaldi, Tulli e Lanari (1994) determinaram para juvenis de “sea bass” (peso médio inicial de 2,1g) a exigência de 1,8% de arginina na dieta (3,9% da proteína dietética) e Alam et al. (2002a) o valor de exigência de 2,04% (4,08% de arginina na proteína dietética) para juvenis de linguado japonês (peso médio inicial de 1,85g). Estes valores foram superiores ao determinado para juvenis de dourado. Borlongan (1991) verificou que animais que receberam dietas com excesso de arginina apresentaram menor crescimento e atribuiu esta tendência à toxicidade de arginina nos tecidos corporais. Utilizando a análise de regressão segmentada, Luzzana, Hardy e Halver (1998) determinaram para alevinos de salmão Coho (peso médio inicial de 0,9g) a exigência de 2,48% de arginina na dieta (4,9% da proteína dietética) quando os animais foram alimentados até a saciedade e de 2,79% de arginina na dieta (5,5% da proteína dietética) quando alimentados com restrição. Estes valores foram novamente superiores ao determinado para juvenis de dourado.

Valores de exigência mais próximos aos determinados para o dourado foram verificados para juvenis de bagre do canal (peso médio inicial de 11,4g) que exigiram 1,0 e 0,8% de arginina na dieta (4,2 e 3,3% de arginina na proteína dietética) quando alimentados com dietas suplementadas com arginina sintética e glicina (fonte de nitrogênio) e arginina sintética e glutamato (eficaz precursor de arginina produzida de

forma endógena), respectivamente (BUENTELLO; GATLIN III, 2000). Berge, Lied e Sveier (1997) determinaram para salmões do Atlântico de tamanho médio (peso médio inicial de  $383 \pm 62$ g) a exigência de 2,12% de arginina na dieta seca (matéria seca de 68%). Convertendo este valor para matéria natural foi determinado a exigência de 1,44% de arginina na dieta (3,4% de arginina na proteína dietética). Novamente em comparação com o dourado, salmões do Atlântico possuem exigências nutricionais similares, mesmo quando apresentam pesos diferentes.

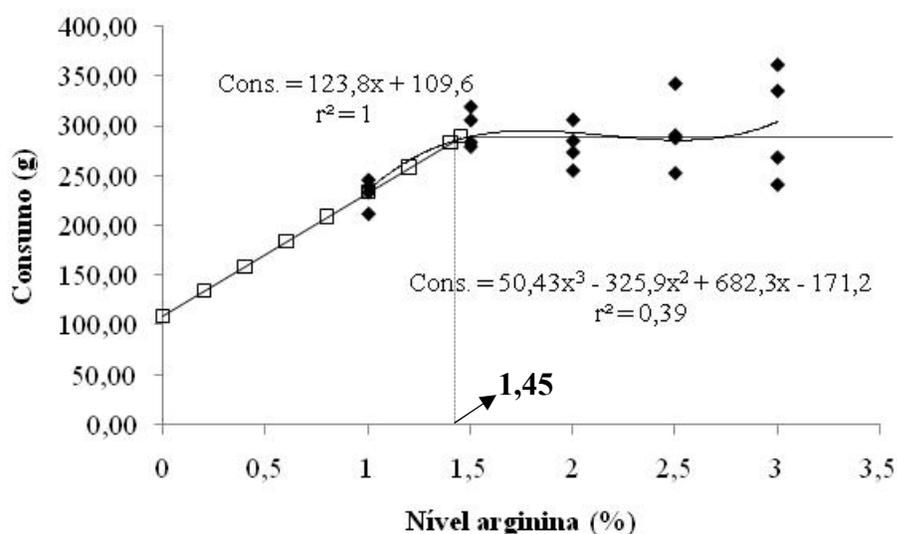


Figura 8 – Regressões para os valores de consumo em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada ( $\square$ ); (B) polinomial ( $\blacklozenge$ )

Por meio da curva de regressão referente ao consumo de ração (Cons.) determinou-se que o melhor índice de desempenho correspondeu aos níveis de arginina dietética entre 1,5% a 3,0% da dieta (Figura 8). Novamente, derivando a equação de regressão desta variável, foi determinado que 1,79% de arginina dietética correspondeu ao melhor consumo e 2,51% correspondeu ao pior consumo de ração. O nível ótimo estimado para a variável Cons. foi de 1,45% de arginina na dieta ou 3,37% da proteína dietética e corresponde ao consumo de 282,2g (Figura 8). O valor obtido encontra-se novamente abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão

polinomial (1,5% a 3,0% da dieta; Figura 8) e da análise algébrica com resolução da equação cúbica (1,79% de lisina na dieta).

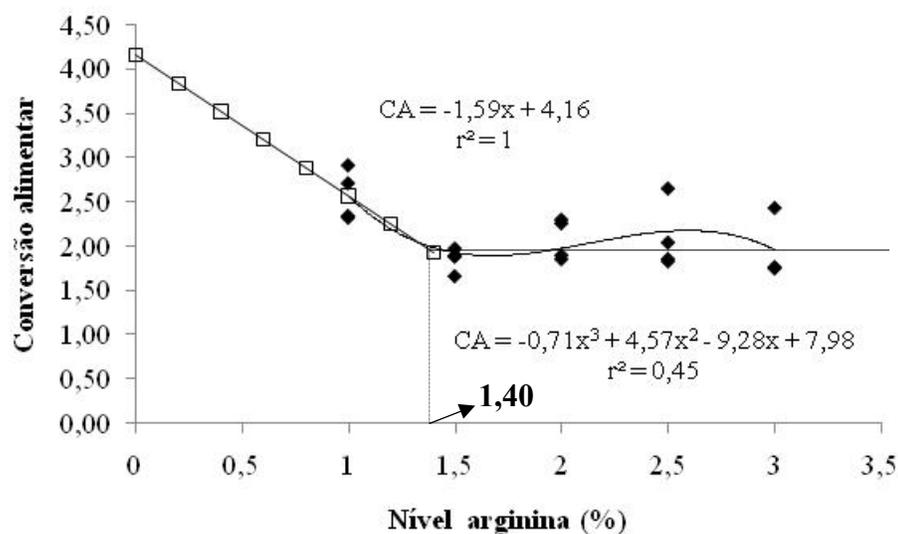


Figura 9 – Regressões para os valores de conversão alimentar (CA) em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)

Os melhores índices de CA foram observados no nível de 1,50% de arginina na dieta (Figura 9). Pela derivação da equação de regressão foi estimado o valor de 1,67% e 2,59% de arginina dietética que propiciou a melhor e a pior conversão alimentar dos juvenis de dourados, respectivamente. O ponto de quebra para a variável CA foi observado no nível de 1,4% de arginina na dieta ou 3,25% da proteína dietética (CA = 1,93:1). Comparando este valor com a análise gráfica da curva de regressão polinomial, verifica-se que o ponto de quebra foi o menor do que 1,5% de arginina na dieta determinada pela análise de regressão polinomial (Figura 9). Os valores de CA registrados para os dourados neste ensaio foram considerados satisfatórios, especialmente em se considerando o tamanho e idade dos peixes.

Avaliando a conversão alimentar de juvenis de bagre do canal, Buentello e Gatlin III (2000) estabeleceram a exigência de 1,2 e 0,9% de arginina na dieta (5 e 3,8% de arginina na proteína dietética) em dietas suplementadas com arginina sintética e

glicina e arginina sintética e glutamato, respectivamente. O menor valor determinado para a segunda combinação comprovou a eficácia do glutamato como precursor de arginina sintetizada de forma endógena. O nível ótimo de arginina na dieta de juvenis de linguado japonês baseado nos resultados de conversão alimentar foi de 2,1% (4,2% de arginina na dieta) (ALAM et al., 2002a). Este valor foi superior ao determinado para juvenis de dourado.

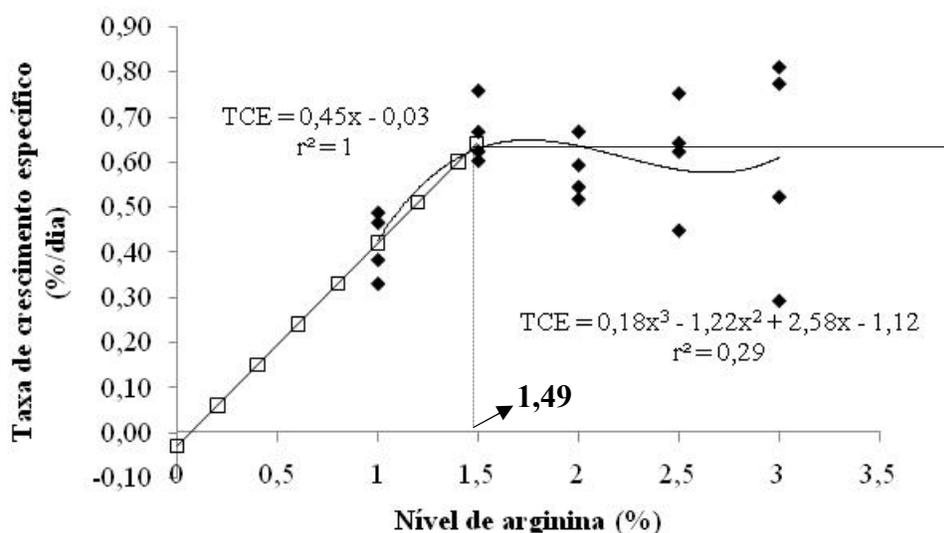


Figura 10 – Regressões para os valores de taxa de crescimento específico (TCE) em função do nível de arginina na dieta: (A) segmentada ( $\square$ ); (B) polinomial ( $\blacklozenge$ )

Os melhores valores de TCE foram observados para os níveis 1,5% a 3,0% de arginina na dieta (Figura 10); pela derivação da equação de regressão foi determinado que 1,75% de arginina dietética está relacionado à melhor TCE. Foram registradas TCEs entre 0,4%/dia (T1) e 0,7%/dia (T2), valores considerados baixo e intermediário, respectivamente. Trabalhando em condições semelhantes, Almeida (2003) registrou para juvenis de pacus, *Piaractus mesopotamicus*, TCE = 2,72%/dia. O ponto de quebra para a variável TCE (Figura 10) foi registrado no nível de 1,49% de arginina na dieta ou 3,46% da proteína dietética (TCE = 0,64%/dia). Este valor esteve próximo do intervalo inferior

obtido pela análise gráfica da curva de regressão (1,5% a 3,0% de arginina na dieta; Figura 10) e abaixo da do valor determinado pela resolução da equação cúbica (1,75%).

O valor de exigência média de 1,46% de arginina na dieta (3,4% de arginina na proteína dietética) obtido pelo uso dos pontos ótimos determinados pelas regressões segmentadas, assemelham-se ao valor determinado para alevinos de trutas arco-íris – 1,4% de arginina na dieta ou 4,03% da proteína dietética – em estudo elaborado por Kim, Kayes e Amundson (1992) que utilizaram a mesma metodologia de análise e com as observações de Kaushik et al. (1988) que determinaram a exigência entre 1,2 a 1,4% de arginina na dieta para juvenis de truta arco-íris (peso médio inicial de 100g). Valores superiores de exigência de arginina foram determinados para alevinos de perca prateada (peso médio inicial de 0,35g) que exigem 2,7% de arginina na dieta (6,8% de arginina na proteína dietética) (NGAMSNAE; DE SILVA; GUNASEKERA, 1999).

Pela análise gráfica das curvas de regressão observa-se que o nível mais baixo de arginina da dieta - 1,0% - condicionou o pior desempenho, ou seja, baixos valores de peso final, GP e TCE e piores CAs. Foram observadas peculiaridades em relação aos tratamentos com excesso de inclusão de arginina sintética (tratamentos com 2,5 e 3% de arginina na dieta). Nestes casos, em todos os gráficos apresentados (Figuras 6, 7, 8, 9 e 10) foram verificados que duas repetições de cada tratamento apresentaram ótimo e duas repetições com baixo desempenho e dessa forma, estes resultados influenciaram de forma intensa a linha de tendência gerada por todos estes gráficos. Esta disparidade de resultados pode ser atribuída mais especificamente ao problema comportamental de dominância observado nas unidades experimentais com baixo desempenho, do que relacionado com alguma desordem nutricional atribuído ao antagonismo lisina x arginina ou qualquer outra variável. Segundo Robinson, Wilson e Poe (1981), a adição excessiva de arginina dietética (até quatro vezes mais que a exigência) não exerce nenhum efeito adverso no desempenho de juvenis de bagre do canal.

Para confirmar os resultados obtidos pela análise de regressão segmentada “broken-line” foi utilizado o software STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK., USA). Foram analisados os principais parâmetros de desempenho individual e gráficos foram gerados para melhor visualização (Figuras 11, 12, 13 e 14).

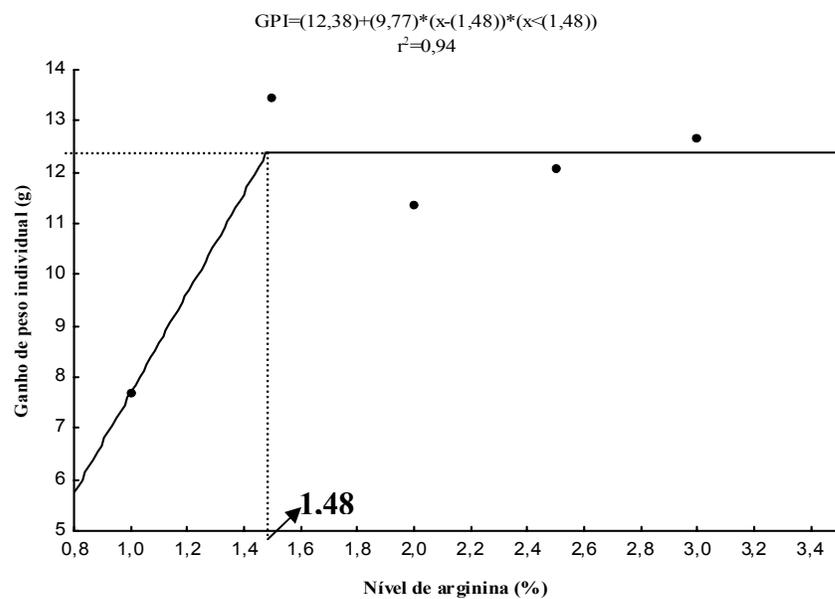


Figura 11 – Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de ganho de peso individual (GPI), em função do nível de arginina na dieta

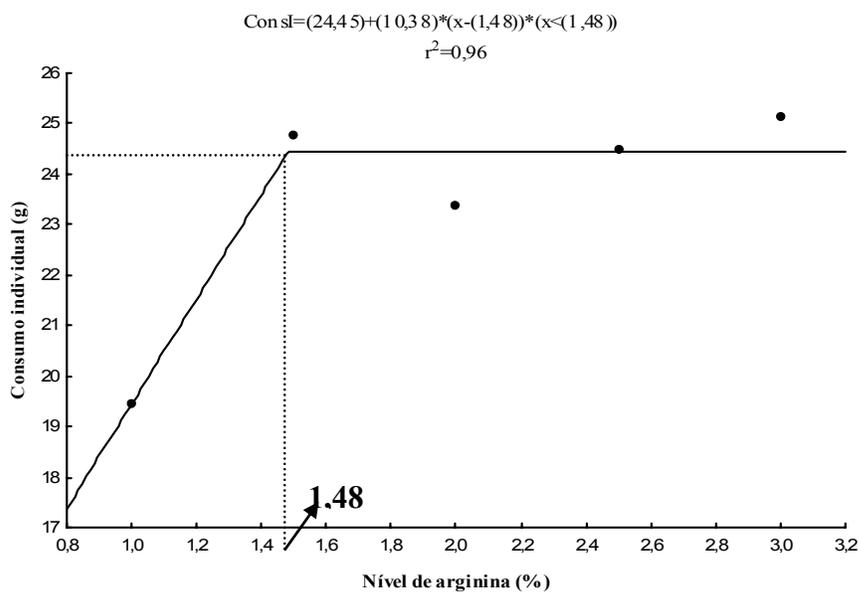


Figura 12 – Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de consumo individual (ConsI), em função do nível de arginina na dieta

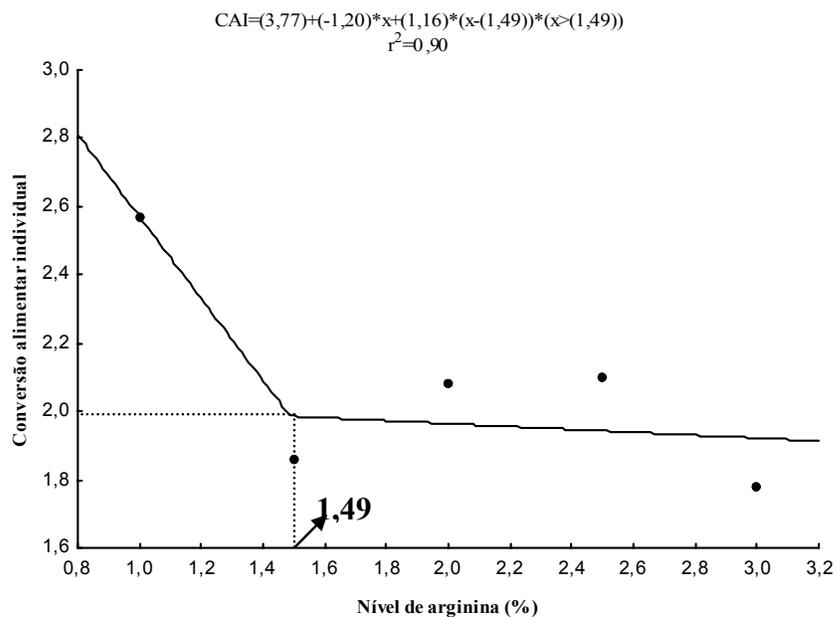


Figura 13 – Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de conversão alimentar individual (CAI), em função do nível de arginina na dieta

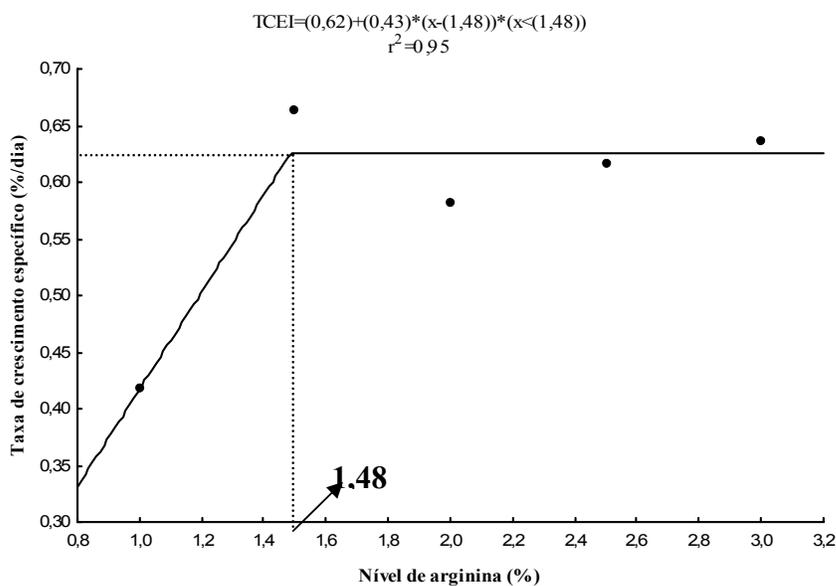


Figura 14 – Regressão segmentada (STATISTICA) para as médias de taxa de crescimento específico individual (TCEI), em função do nível de arginina na dieta

Com o uso do programa computacional STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK., USA) foi possível verificar uma alta similaridade e concordância dos resultados do melhor nível de arginina na dieta com os determinados pela análise de regressão segmentada. Não foram verificados sinais evidentes do possível problema relacionado ao antagonismo lisina:arginina. Apenas para as dietas com nível de arginina inferior (1% de arginina na dieta) foi detectado pior desempenho. Segundo Furuya et al. (2006), a adequada relação entre os aminoácidos é importante para sua utilização. Quanto à avaliação de lisina, o teor de arginina deve ser considerado, pela possibilidade de antagonismos decorrentes de dietas desbalanceadas desses aminoácidos. Neste estudo, os melhores resultados de ganho de peso e conversão alimentar foram obtidos com as relações de 0,98:1 e 0,91:1, respectivamente, de lisina:arginina. No presente estudo a melhor relação lisina:arginina obtida pelos valores de desempenho foi de 1:0,7. A relação A/E foi uma ferramenta confiável para estimar níveis de exigência em aminoácidos essenciais com base no perfil de aminoácidos corporais de dourado (adequado como referência). Foi comprovada a eficácia do uso desta ferramenta neste trabalho, pois o valor estimado de arginina (Tabela 19) foi similar ao determinado em ensaio de dose-resposta com o uso das regressões segmentadas.

#### **4.11 Sobrevivência, RHS, RLS, RVS e comprimentos (CT e CP) - arginina**

Não houve diferenças ( $p > 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos para a variável sobrevivência (Tabela 24). Aparentemente a única mortandade de juvenil de dourado neste experimento foi causada pelo problema de dominância observado principalmente no início do experimento, mas amenizado ao decorrer do experimento. A alta taxa de sobrevivência obtida neste experimento corrobora com a baixa mortandade (1,9%) registrada para alevinos de “sea bass” (TIBALDI; TULLI; LANARI, 1994), juvenis de salmão do Atlântico (LALL et al., 1994) e alevinos de salmão Coho (LUZZANA; HARDY; HALVER, 1998), independente do nível de arginina na dieta.

Não houve diferenças ( $p > 0,05$ ) na relação hepato-somática (RHS) e na relação lipo-somática (RLS) entre os tratamentos (Tabela 24). Estes resultados corroboram relatos de Furuya et al. (2004a, 2006) e Tesser et al. (2005) para tilápia e pacu,

respectivamente. Houve diferenças significativas na relação víscero-somática (RVS) e comprimentos total e padrão (CT e CP) (Tabela 24). Tesser et al. (2005) verificaram para juvenis de pacu (peso médio inicial de 4,3g) valores de RHS entre 1,5 ~ 2,5% enquanto Tulli et al. (2007) determinaram para juvenis de “sea bass” (peso médio inicial de 8,5g) valores entre 1,88 ~ 2,84%. Estes valores foram superiores aos determinados para os juvenis de dourado (0,8 ~ 0,9%).

Em relação ao comprimento total e padrão (CT e CP) dos dourados, verificou-se que no nível mais próximo da exigência (1,5%) foram observados o maior comprimento total e padrão. Aparentemente, tanto as dietas com excesso quanto aquelas deficientes em lisina não induziram distúrbios fisiológicos severos nos animais, possivelmente em função do curto período experimental.

Tabela 24 - Sobrevivência, relações corporais e comprimento dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina\*

Nível arginina	S <sup>§</sup>	RHS <sup>§</sup>	RLS <sup>§</sup>	RVS <sup>§</sup>	CT <sup>§</sup>	CP <sup>§</sup>
		----- % -----			----- cm -----	
1,0	100,0 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,5 <sup>ab</sup>	14,4 ± 0,6 <sup>ab</sup>	13,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>
1,5	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,7 <sup>ab</sup>	15,1 ± 0,9 <sup>a</sup>	13,9 ± 0,9 <sup>a</sup>
2,0	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,5 <sup>ab</sup>	14,9 ± 0,9 <sup>ab</sup>	13,6 ± 0,8 <sup>ab</sup>
2,5	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,4 <sup>ab</sup>	14,9 ± 0,9 <sup>ab</sup>	13,6 ± 0,8 <sup>ab</sup>
3,0	97,9 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	14,9 ± 1,1 <sup>ab</sup>	13,6 ± 1,0 <sup>ab</sup>
Inicial	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,4 <sup>b</sup>	12,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	11,7 ± 0,6 <sup>c</sup>

S: Sobrevivência; RHS: Relação hepato-somática; RLS: Relação lipo-somática; RVS: Relação víscero-somática; CT: Comprimento total e CP: Comprimento padrão.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.12 Composição centesimal carcaça - arginina

Em relação aos parâmetros de qualidade e composição centesimal de carcaça, não foi detectada diferença estatística ( $p>0,05$ ) para os valores de proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) das carcaças de dourado. Apenas para matéria mineral, houve diferença entre o nível de 2,5% de arginina na dieta se comparado com juvenis de dourado sacrificados no início do experimento (Tabela 25).

Kim, Kayes e Amundson (1992) registraram para alevinos de trutas arco-íris, acréscimo no teor de gordura e decréscimo no teor de proteína corporal nos animais alimentados com baixo nível de arginina (0,47% da dieta). Entretanto, para o nível de arginina imediatamente superior utilizado (0,9% de dieta), os autores não verificaram esta tendência. Em experimento conduzido com juvenis de linguado japonês (1,85g), Alam et al. (2002a) detectaram diferença significativa entre os níveis de arginina para todas as variáveis de composição centesimal. Neste caso, o menor conteúdo de proteína foi observado em animais alimentados com dietas sem inclusão de arginina (1,25%), enquanto que os maiores valores foram obtidos nos grupos de linguado alimentados com 2,05% de arginina na dieta (4,1% da arginina na proteína dietética).

Tesser et al. (2005) não observaram diferença significativa entre os valores de proteína e lipídio corporal de juvenis de pacu alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina; apenas para os valores de matéria mineral observaram uma pequena diferença entre tratamentos. Estas mesmas tendências foram verificadas para os juvenis de dourado. Para pacu, a diferença entre os tratamentos para matéria mineral foi atribuída pela variação dos níveis de cálcio corporal, porém os autores não confirmaram que estas diferenças foram devido ao uso de níveis de arginina dietética. Pela multifuncionalidade da arginina - ao contrário da lisina - a inclusão de níveis de arginina não influenciaram a composição centesimal das carcaças analisadas.

Tabela 25 - Composição centesimal (em matéria natural) das carcaças de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina\*

Níveis arginina	Proteína bruta <sup>§</sup>	Extrato etéreo <sup>§</sup>	Matéria mineral <sup>§</sup>
	----- % -----		
1,0	17,9 ± 0,9 <sup>a</sup>	4,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,4 <sup>ab</sup>
1,5	17,9 ± 0,9 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,5 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,2 <sup>ab</sup>
2,0	17,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,2 <sup>ab</sup>
2,5	17,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,1 <sup>b</sup>
3,0	18,3 ± 1,4 <sup>a</sup>	5,6 ± 1,5 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,5 <sup>ab</sup>
Inicial	17,4 <sup>a</sup>	5,6 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

<sup>§</sup> Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.13 Parâmetros sanguíneos - arginina

Houve diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os valores observados de hematócrito, proteína plasmática e glicose (Tabela 26). O nível de 1,5% de arginina na dieta propiciou o maior valor de hematócrito (49,6%) e o menor valor foi correspondente ao valor inicial. Verificou-se um maior nível de proteína plasmática em animais alimentados com as dietas próxima à exigência animal (1,5%) o que pode estar relacionado com o melhor aproveitamento da proteína por processo de absorção e possivelmente incorporação (anabolismo). Não foram encontrados trabalhos de determinação de exigência em arginina que avaliaram os mesmos parâmetros hematológicos determinados neste ensaio. Uma das razões para este fato é que a rotina mais usual de pesquisa é a monitoração e mensuração direta de uréia plasmática e arginina livre plasmática seis horas pós-alimentação (ALAM et al., 2002a).

Apenas Tesser et al. (2005) determinaram valores de hematócrito para juvenis de pacu e os mesmos não observaram diferença significativa entre tratamentos. Além disso, os valores de hematócrito de pacu variaram entre 20,8 ~ 23,8%. Este intervalo foi inferior ao obtido para juvenis de dourado (38,7 ~ 49,6%). Segundo Tavares-Dias e Moraes (2004), o hematócrito acompanha o aspecto evolutivo do peixe. Os autores preconizam que os menores valores ocorrem em peixes mais primitivos na escala evolutiva, nos de ambiente lântico, nos sedentários e nos bentônicos. O pacu e o dourado são teleósteos de água doce e peixes reofilicos de ambiente lótico, dessa forma a diferença entre os respectivos valores de hematócrito não se explicam pelo aspecto evolutivo e de comportamento ambiental das duas espécies. As diferenças de hábitos alimentares e condições experimentais entre o trabalho de Tesser et al. (2005) e este estudo podem ser responsáveis por esta diferença.

Tabela 26 - Parâmetros sanguíneos dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina\*

Níveis Arginina	Hematócrito <sup>§</sup>	Proteína plasmática <sup>§</sup>	Glicose <sup>§</sup>
	%	g/dL	mg/dL
1,0	40,7 ± 5,8 <sup>bc</sup>	4,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>	106,8 ± 19,9 <sup>a</sup>
1,5	49,6 ± 6,9 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	113,9 ± 11,6 <sup>a</sup>
2,0	48,3 ± 9,1 <sup>ab</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>ab</sup>	108,8 ± 18,2 <sup>a</sup>
2,5	44,6 ± 3,4 <sup>abc</sup>	5,0 ± 0,2 <sup>ab</sup>	107,0 ± 12,2 <sup>a</sup>
3,0	43,7 ± 5,2 <sup>abc</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>ab</sup>	111,1 ± 15,1 <sup>a</sup>
Inicial	38,7 ± 2,9 <sup>c</sup>	4,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	80,9 ± 0,0 <sup>b</sup>

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.14 Desempenho - farelo de soja

A primeira parte do experimento foi conduzida em 60 dias. Não houve diferença entre as médias dos tratamentos ( $p<0,05$ ) para os seguintes parâmetros: peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (Cons.), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE) (Tabelas 27 e 28). Os resultados obtidos corroboram relatos de Furuya et al. (2004b) que preconizam o uso de dietas com fontes protéicas de origem exclusivamente vegetal e inclusão de aminoácidos sintéticos baseado no perfil de aminoácidos corporais para tilápias, uma espécie de hábito alimentar oportunista. Estas dietas podem substituir de forma eficiente dietas à base de farinha de peixe sem efeitos adversos no desempenho e composição da carcaça. Em contrapartida, Espe et al. (2006) observaram em salmões do Atlântico (300g), espécie carnívora a exemplo do dourado, uma diminuição do consumo das dietas à base de proteína vegetal e conseqüentemente pior desempenho. Concluíram que o uso de até 10% de aminoácidos sintéticos aumenta a digestibilidade dos aminoácidos das dietas confeccionadas com proteína vegetal. Entretanto, um ano após este trabalho, Espe et al. (2007) utilizando dietas semelhantes e inclusão de aminoácidos sintéticos obtiveram resultados distintos e animadores para a mesma espécie e observaram um bom crescimento – apenas 3% menor dos peixes alimentados com dietas à base de farinha de peixe – com o uso de fontes de proteína vegetal e suplementação de aminoácidos.

Em estudo com alevinos de “rohu”, *Labeo rohita* (6,32g), Sardar et al. (2008) concluíram que dietas baseadas em farelo de soja e inclusão de aminoácidos sintéticos (metionina e lisina) promoveram melhor desempenho se comparado com a dieta isenta de inclusão de aminoácidos (controle negativo). Os autores atribuíram estes resultados à melhora no valor nutritivo das dietas à base de farelo de soja pela inclusão destes aminoácidos essenciais. Este estudo corroborando os relatos dos autores citados, comprovando a eficácia do uso de dietas à base total e parcial de farelo de soja e inclusão de aminoácidos sintéticos na nutrição de juvenis de dourado.

Tabela 27 - Parâmetros de desempenho dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)\*

Tratamento	PF <sup>§</sup>	GP <sup>§</sup>	Cons. <sup>§</sup>	CA <sup>§</sup>	TCE <sup>§</sup>
	----- g -----				%
FP	490,0 ± 24,6 <sup>a</sup>	161,3 ± 21,9 <sup>a</sup>	297,4 ± 18,7 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
FS	455,0 ± 44,6 <sup>a</sup>	136,8 ± 42,2 <sup>a</sup>	313,8 ± 50,5 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>
MIX	520,8 ± 48,6 <sup>a</sup>	197,9 ± 40,5 <sup>a</sup>	361,6 ± 58,0 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>

PF: Peso final; GP: Ganho de peso; Cons.: Consumo de ração; CA: Conversão alimentar e TCE: Taxa de crescimento específico.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

Tabela 28 - Parâmetros de desempenho individual dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)\*

Tratamento	PFI <sup>§</sup>	GPI <sup>§</sup>	Cons.I <sup>§</sup>	CAI <sup>§</sup>	TCEI <sup>§</sup>
	----- g -----				%
FP	40,8 ± 2,0 <sup>a</sup>	13,4 ± 1,8 <sup>a</sup>	24,8 ± 1,6 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
FS	38,8 ± 3,8 <sup>a</sup>	12,2 ± 3,6 <sup>a</sup>	26,2 ± 4,2 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>
MIX	43,4 ± 4,0 <sup>a</sup>	16,5 ± 3,4 <sup>a</sup>	30,1 ± 4,8 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>

PFI: Peso final individual; GPI: Ganho de peso individual; Cons.I: Consumo de ração individual; CAI: Conversão alimentar individual e TCEI: Taxa de crescimento específico individual.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

O nível ótimo de inclusão de farelo de soja em dietas para juvenis de “gilthead sea bream” que propiciou a maior taxa de crescimento específico (0,4%/dia) foi de 20,5% (MARTÍNEZ-LLORENS et al., 2008). Kasper, Watkins e Brown (2007) recomendam a inclusão de 30% de farelo de soja em dietas para juvenis de perca amarela, *Perca flavescens* (peso médio inicial de 27g). Bonaldo et al. (2006) verificaram que a inclusão de 30% de farelo de soja não causou nenhuma alteração fisiológica em intestinos de “Egyptian sole” e promoveu ótimo desempenho. Segundo Chou et al. (2004) e Zhou et al. (2005), juvenis de bijupirá (peso médio inicial de 32g e 8,3g, respectivamente) aceitaram e apresentaram ótimo desempenho quando alimentados com dietas com nível de inclusão de farelo de soja até 40% e suplementação de metionina sintética. Inclusões de 50 e 60% de farelo de soja promoveram um baixo desempenho. Para máximo ganho de peso foi determinado um valor de inclusão de 18,9% de farelo de soja. Jose et al. (2006) concluíram que o farelo de soja é uma fonte de proteína prontamente disponível, palatável e econômica para o mrigal; nível de inclusão de 40% foi condicionou bom desempenho dos animais. Em estudo com juvenis de “sharpsnout seabream”, *Diplodus puntazzo*, Hernández et al. (2007) observaram um ótimo desempenho dos animais alimentados com até 40% de inclusão de farelo de soja. Para juvenis de dourado, a inclusão de 31% de farelo de soja promoveu ótimo desempenho e conseqüentemente, maiores esforços para a determinação do nível máximo de inclusão deste ingrediente se tornam imprescindíveis para a obtenção de dietas que possam substituir ou diminuir o uso de farinha de peixe das dietas para peixes carnívoros.

#### **4.15 Sobrevivência, RHS, RLS, RVS e comprimentos (CT e CP) - f. de soja**

Não houve diferenças ( $p>0,05$ ) entre as médias dos tratamentos para a variável sobrevivência e relação hepato-somática (RHS). Houve diferenças significativas na relação lipo-somática (RLS) e relação víscero-somática (RVS) em comparação com o início do experimento. Nos comprimentos total e padrão (CT e CP) houve diferenças significativas (Tabela 29), sendo que no tratamento com inclusão de farinha de peixe e farelo de soja (MIX) foram observados os maiores comprimentos total e padrão.

Os valores de RHS do presente experimento foram inferiores aos obtidos para “black bass” (1,4 ~ 1,7%), bijupirá (2,11 ~ 2,47%), salmões do Atlântico (1,27 ~ 1,37%), bacalhau do Atlântico (1,86 ~ 2,6%), “cuneate drum”, *Nibea miichthioides* (1,14 ~ 1,25%) e “red sea bream” (1,3 ~ 1,8%) (TIDWELL et al., 2005; ZHOU et al., 2005; ESPE et al., 2006; VENOUE et al., 2006; WANG et al., 2006; BISWAS et al., 2007). Para juvenis de perca amarela (27g), foram obtidos valores de RHS entre 0,69 ~ 0,87% (KASPER; WATKINS; BROWN, 2007) e entre 0,8 ~ 0,87% para “gilthead sea bream” (peso médio inicial de 99,4g) (DE FRANCESCO et al., 2007). Estes valores foram similares aos obtidos para juvenis de dourado.

Tabela 29 - Sobrevivência, relações corporais e comprimento dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)\*

Tratamento	S <sup>§</sup>	RHS <sup>§</sup>	RLS <sup>§</sup>	RVS <sup>§</sup>	CT <sup>§</sup>	CP <sup>§</sup>
	----- % -----				----- cm -----	
FP	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>	3,5 ± 0,7 <sup>ab</sup>	15,1 ± 0,9 <sup>ab</sup>	13,9 ± 0,9 <sup>ab</sup>
FS	97,9 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,4 <sup>ab</sup>	3,6 ± 0,5 <sup>ab</sup>	14,8 ± 1,0 <sup>b</sup>	13,5 ± 1,0 <sup>b</sup>
MIX	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	15,4 ± 0,9 <sup>a</sup>	14,0 ± 0,7 <sup>a</sup>
Inicial	100,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,4 <sup>b</sup>	12,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	11,7 ± 0,6 <sup>c</sup>

S: Sobrevivência; RHS: Relação hepato-somática; RLS: Relação lipo-somática; RVS: Relação víscero-somática; CT: Comprimento total e CP: Comprimento padrão.

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.16 Composição centesimal carcaça - farelo de soja

Não houve diferença estatística ( $p>0,05$ ) entre os níveis de proteína bruta da carcaça de dourados submetidos aos tratamentos (Tabela 30). Essa tendência corroboram resultados de Zhou et al. (2005), Espe et al. (2006) e Espe et al. (2007) com salmão do Atlântico. Também não houve diferença significativa em relação aos níveis de extrato etéreo entre os tratamentos. Os autores citados anteriormente observaram diferenças entre os níveis de lipídios das carcaças dependendo da natureza da fonte protéica. O aumento de gordura nas carcaças de bacalhau do Atlântico – condicionado pelo uso de dietas com substituição total da farinha de peixe por ingredientes de origem vegetal – foi

resultado de concentrações desbalanceadas de aminoácidos que influenciaram o metabolismo de energia (HANSEN et al., 2007b). Por exemplo, Tibaldi et al. (2006) não observaram diferenças significativas na composição centesimal de carcaças de “sea bass” (peso médio inicial de  $187,8 \pm 1,4$ g) alimentados com diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por farelo de soja; os valores de proteína bruta (17,2 ~ 17,8%) e matéria mineral (3,8 ~ 4,4%) foram inclusive próximos aos obtidos para juvenis de dourado neste estudo. Wang et al. (2006) também não observaram diferenças significativas na composição centesimal de carcaças de “cuneate drum” (peso médio inicial de  $29,8 \pm 1,3$ g) alimentados com diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por farelo de soja; os valores de proteína bruta (17,4 ~ 178,7%), lipídio bruto (2,7 ~ 6,2%) e matéria mineral (3,9 ~ 4,3%) também foram próximos aos aqui obtidos para juvenis de dourado.

Biswas et al. (2007) não registraram diferenças significativas na composição centesimal de carcaças de “red sea bream” (19g) alimentados com diferentes níveis de substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja e inclusão de fitase. Valores próximos aos obtidos para dourado foram reportados para a espécie: proteína bruta (17,2 ~ 18,3%) e cinzas (4,7 ~ 5,2%). Somente em relação aos níveis de matéria mineral foi registrada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos estudados. Uma menor quantidade de cinzas foi determinada nas carcaças de peixes alimentados com dietas baseadas exclusivamente com farelo e soja (tratamento FS). A inclusão de farelo de soja em dietas para o dourado aparentemente não altera ou prejudica a qualidade do pescado.

Tabela 30 - Composição centesimal (em matéria natural) das carcaças de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)\*

Tratamento	Proteína bruta <sup>§</sup>	Extrato etéreo <sup>§</sup>	Matéria mineral <sup>§</sup>
	----- % -----		
FP	17,9 ± 0,9 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,5 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,2 <sup>ab</sup>
FS	16,7 ± 2,0 <sup>a</sup>	6,1 ± 1,7 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,1 <sup>c</sup>
MIX	17,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	6,9 ± 1,4 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,2 <sup>bc</sup>
Inicial	17,4 <sup>a</sup>	5,6 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

<sup>§</sup> Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.17 Parâmetros sanguíneos - farelo de soja

Houve diferenças ( $p>0,05$ ) entre os valores observados de hematócrito, proteína plasmática e glicose. Para hematócrito, foi verificado que os três tratamentos apresentaram valores superiores àquele determinado no início do experimento. Para proteína plasmática, os tratamentos com inclusão total e parcial de farelo de soja apresentaram valores superiores ao determinado no início do experimento. Foram registrados valores superiores de glicose plasmática nos animais alimentados com dietas à base de farinha de peixe (FP) e farelo de soja (FS) (Tabela 31).

Sardar et al. (2008), observaram para a “rohu” o aumento dos parâmetros hematológicos estudados com a inclusão de aminoácidos sintéticos. Esta mesma tendência ocorreu com juvenis de dourado, uma vez que houve aumento dos valores de hematócrito e proteína plasmática dos juvenis alimentados com as dietas experimentais, se comparado com as amostras sanguíneas analisadas no início do experimento, onde os animais apenas se alimentavam com dietas comerciais sem inclusão de aminoácidos livres sintéticos.

Os intervalos que compreenderam os parâmetros hematológicos hematócrito (32,17 ~ 41,92%), proteína plasmática (2,67 ~ 3,33g/dL) e glicose (28,39 ~ 66,58g/dL) de juvenis de bijupirá estudados por Zhou et al. (2005) foram inferiores menos amplos em comparação com os valores obtidos de juvenis de dourado do presente experimento. Além disso, para juvenis de bijupirá, houve diferença significativa entre os valores de

hematócrito e glicose, inclusive os intervalos inferiores corresponderam aos tratamentos com maiores níveis de inclusão de farelo de soja (50 e 60%). Hansen et al. (2007b) observaram tendência contrária, ou seja para bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua*, animais alimentados com inclusão exclusiva de ingredientes de origem vegetal apresentaram menores níveis de proteína e glicose plasmática. Então, pode-se inferir que inclusão parcial ou total de farelo de soja em dietas para o dourado não altera de forma drástica e não prejudica os parâmetros hematológicos e consequentemente a homeostase fisiológica dos animais.

Tabela 31 - Parâmetros sanguíneos dos juvenis de dourado alimentados com dietas contendo farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS) e mistura farinha de peixe + farelo de soja (MIX)\*

Tratamento	Hematócrito <sup>§</sup> %	Proteína plasmática <sup>§</sup> g/dL	Glicose <sup>§</sup> mg/dL
FP	49,6 ± 6,9 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,4 <sup>ab</sup>	113,9 ± 11,6 <sup>a</sup>
FS	49,2 ± 5,8 <sup>a</sup>	5,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	109,0 ± 12,9 <sup>a</sup>
MIX	48,4 ± 4,8 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	92,9 ± 15,1 <sup>b</sup>
Inicial	38,7 ± 2,9 <sup>b</sup>	4,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	80,9 ± 0,0 <sup>b</sup>

\* Médias das parcelas (n=4) ± desvio padrão.

§ Teste de Tukey ajustado para o nível descritivo ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.18 Parâmetros de qualidade de água - farelo de soja

O uso de fontes protéicas de origem vegetal pode reduzir a excreção de metabólitos dos peixes; a excreção de peixes é caracterizada principalmente pela eliminação e transformação de compostos nitrogenados – a amônia excretada pode ser absorvida pelo fitoplâncton, oxidada por bactérias nitrificantes ou simplesmente volatilizada (BOYD; QUEIROZ, 2001) – e na forma de fósforo. Além disso, o uso destes ingredientes em dietas balanceadas é considerado essencial para uma aquicultura sustentável (TWIBELL et al., 2003; PIMENTEL-RODRIGUES; OLIVA-TELES, 2007).

No efluente de piscicultura, o nitrogênio é considerado uma das principais fontes de poluição, que pode resultar em elevada eutrofização e consequente

comprometimento da qualidade da água de criação, afetando diretamente o desempenho e no caso de predominância de cianobactérias, prejudicando as características sensoriais da carne dos peixes (BOYD, 2001; BOYD; QUEIROZ, 2001). A amônia é principalmente produzida no fígado de peixes por meio da deaminação dos aminoácidos livres. Estas reações são catalisadas pelas enzimas amino-transferase no citosol dos hepatócitos e enzimas deaminase na mitocôndria (DOSDAT et al., 1996; WICKS; RANDALL, 2002).

Para quantificar a excreção de amônia pela truta arco íris, Kaushik et al. (1988) utilizaram tanques de 60L, supridos com água recirculada (fluxo de 2L/min) e adaptaram os peixes à rotina experimental por duas semanas antes de iniciar a coleta de amostras de amônia e uréia. Alguns animais foram capturados e cateterizados para coleta de urina e outros colocados individualmente em tanques de capacidade de 2L para coleta de amostras de água para quantificação de amônia. No presente experimento, uma vez adaptados, os animais não foram manipulados, apenas coletas periódicas de amostras de água foram realizadas pós alimentação para verificação de possíveis picos de excreção de metabólitos nitrogenados e de fósforo na água.

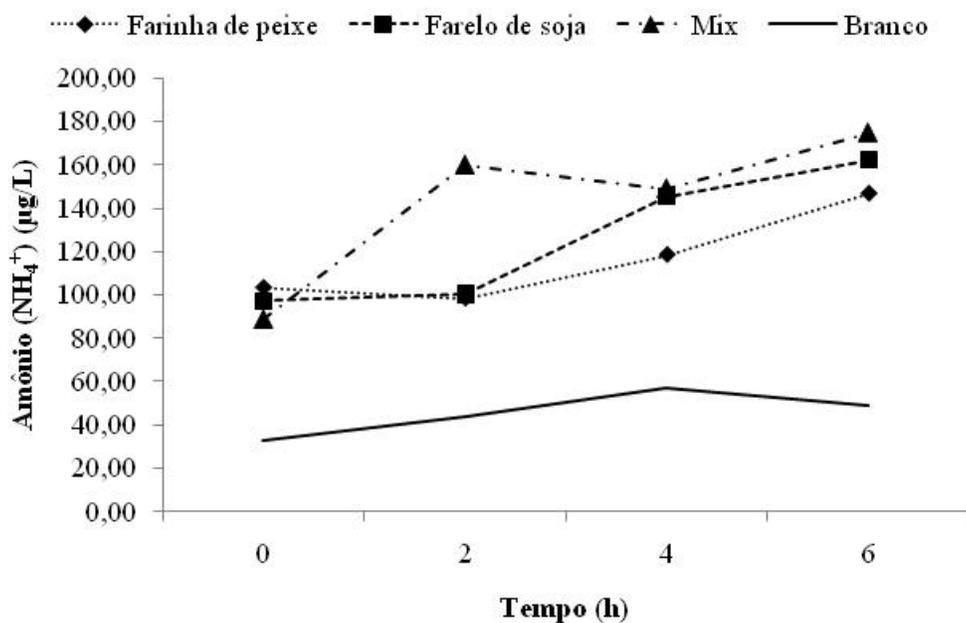


Figura 15 – Excreção indireta de amônio de juvenis de dourado alimentados com dietas à base de farinha de peixe, farelo de soja e mistura farinha de peixe e farelo de soja (mix)

Não houve diferença significativa entre os valores de amônio excretados, independente da dieta ingerida pelos peixes. Apenas em comparação com o controle (branco), verificou-se diferença significativa (Figura 15).

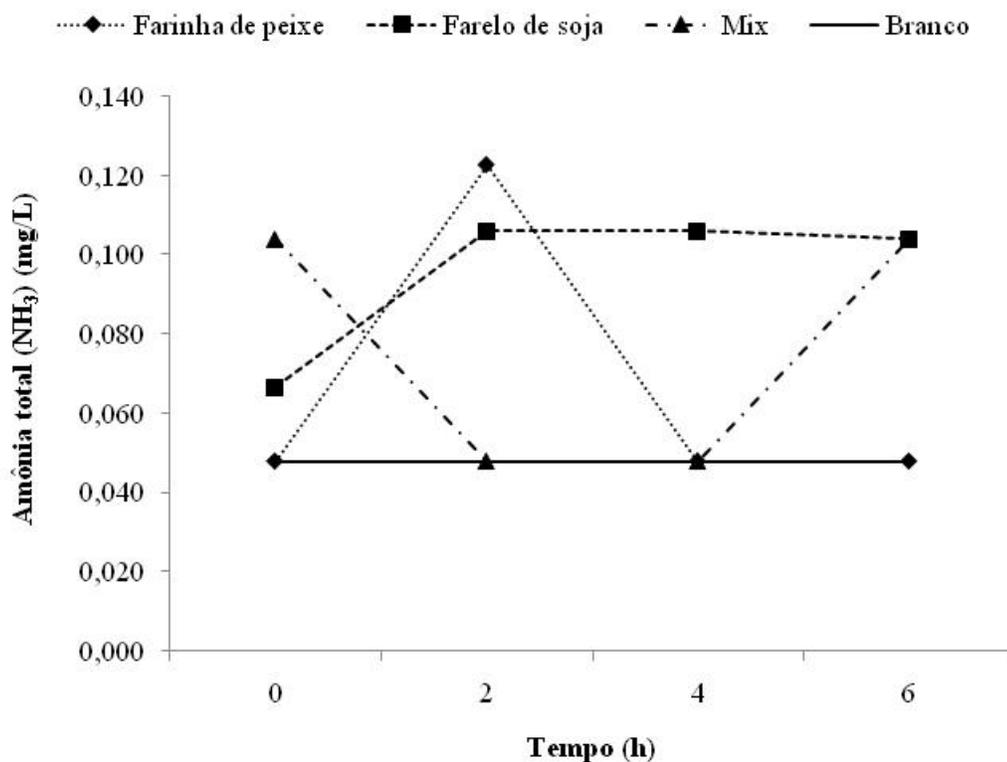


Figura 16 – Excreção indireta de amônia total de juvenis de dourado alimentados com dietas à base de farinha de peixe, farelo de soja e mistura farinha de peixe e farelo de soja (mix)

Kaushik et al. (1988) registraram uma tendência de aumento de excreção de amônia em juvenis de trutas arco-íris com aumento da utilização de aminoácidos sintéticos na dieta. No presente estudo, para o tratamento FS, esta tendência foi observada e manteve-se constante pós-alimentação. Já para os tratamentos baseados em FP e MIX, as linhas de excreção na forma de amônia (Figura 16) foram inconstantes e alternaram picos e quedas. Foi verificado um pequeno pico de amônia duas horas pós-alimentação nas amostras de água dos aquários em que os peixes eram alimentados com dietas à base de farinha de peixe, corroborando Alam et al. (2002a) que observaram um pico de excreção de amônia entre uma e três horas pós-alimentação de juvenis de linguado japonês; Tulli et al. (2007) também observaram um aumento gradativo de excreção de amônia seis horas pós-alimentação para juvenis de “sea bass”.

Os níveis de excreção determinados não prejudicaram os animais, uma vez que, não foram observados sinais anormais de comportamento ou característicos de toxidez de amônia como convulsão, coma e morte (RANDALL; TSUI, 2002). Ainda segundo Randall, Tsui (2002), considerando uma média de 32 espécies de peixes de água doce, a toxidez por amônia ocorre num nível próximo a 2,79mg de  $\text{NH}_3/\text{L}$ . Peixes de água salgada (17 espécies estudadas) são sensíveis a quantidade de 1,8mg de  $\text{NH}_3/\text{L}$ .

Juvenis de linguado senegalês, *Solea senegalensis*, expostos por 52 dias a níveis de amônia de 11,6mg/L e 23,2mg/L apresentaram baixo desempenho. No nível mais elevado de amônia a TCE foi apenas de  $0,01 \pm 0,13\%/dia$ . Lemarié et al. (2004) observaram para juvenis de “sea bass” taxas de mortalidade de 28,9 e 42,6% quando expostos a níveis de amônia não ionizada de 0,9 e 0,88mg/L.

Dosdat et al. (1996) avaliaram os parâmetros de excreção de cinco espécies de peixes: “sea bass”, “sea bream” e “turbot” (espécies marinhas) e trutas arco-íris e marrom (espécies de água doce) e concluíram que o padrão de excreção de amônia não difere entre espécies. Além disso, determinaram que cerca de 75 a 90% do nitrogênio excretado está na forma de amônia e entre 5 a 15% de uréia. Para peixes jovens (10g) os autores observaram um pico de excreção entre 3 a 5 horas pós-alimentação e para peixes maiores (100g) um pico entre 5 a 8 horas pós-alimentação. Em contrapartida, para juvenis de “sea bass” asiático, *Lates calcarifer*, o pico de excreção de amônia foi observado entre 10 a 12 horas pós-alimentação (TANTIKITTI; SANGPONG; CHIAVAREESAJJA, 2005).

Os níveis de amônia total observados neste experimento foram inferiores ao intervalo compreendido e permitido pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente - Conama (2005) para águas doces de Classe 2 (3,7mg/L para um pH da água  $\leq$  a 7,5 a 0,5mg/L para um pH da água  $>$  que 8,5) e pela concentração letal ( $CL_{50}$ ) - de 1,89mg/L em período de exposição de 24 horas, determinada para juvenis de dourado por Gazzola (2003).

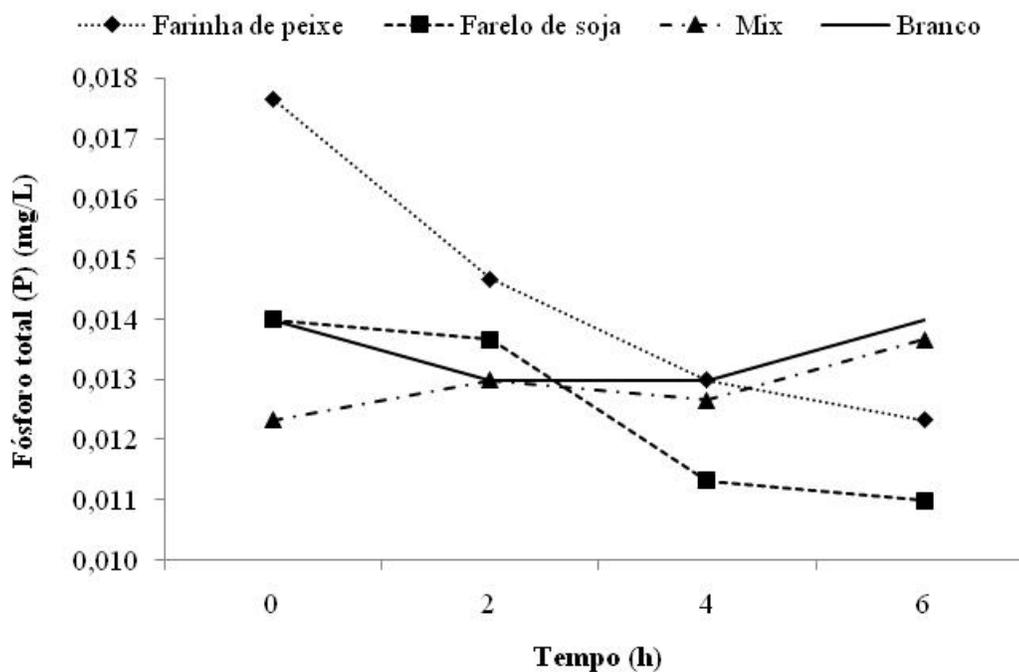


Figura 17 – Excreção indireta de fósforo total de juvenis de dourado alimentados com dietas à base de farinha de peixe, farelo de soja e mistura farinha de peixe e farelo de soja (mix)

O fósforo é um macromineral fortemente ligado ao solo dos tanques ou precipitado diretamente na água do tanque como fosfato de cálcio (BOYD, 2001; BOYD; QUEIROZ, 2001). Os peixes podem absorver este mineral essencial diretamente da água. Ingredientes de origem vegetal possuem níveis de fósforo menores que as farinhas de peixe em geral (ZHANG et al., 2006; PIMENTEL-RODRIGUES; OLIVATELES, 2007; SHAO et al., 2008). Não houve diferença significativa entre os valores de fósforo excretados, independente das dietas ingeridas. Apenas no início do dia (horário 0 de coleta) foi observado uma maior excreção de fósforo na água dos tanques dos peixes alimentados com dieta FP (Figura 17).

Tantikitti, Sangpong e Chiavareesajja (2005) observaram em juvenis de “sea bass” asiático uma tendência de diminuição de excreção de fósforo em peixes alimentados com alta inclusão de farelo de soja. Neste caso, dietas com alta inclusão de

proteína vegetal são caracterizadas por disponibilizar e conter menor quantidade deste mineral. Os níveis de fósforo total observados neste experimento foram inferiores ao intervalo compreendido e permitido pelo Conama (2005) para águas doces de Classe 2 (0,030mg/L para ambientes lênticos e 0,050mg/L para ambientes intermediários, com tempo de residência entre 2 e 40 dias, e tributários diretos de ambiente lêntico).

Possíveis métodos para reduzir a poluição gerada na aquicultura incluem a determinação dos limites de poluentes no efluente, o tratamento do efluente e o uso das boas práticas de manejo, tais como o uso de alimentos ambientalmente corretos de alta qualidade e estabilidade na água, o manejo adequado, aeração eficiente, redução do volume de efluentes e recirculação da água (BOYD; SCHMITTOU, 1999; BOYD, 2001, 2003; BOYD; QUEIROZ, 2001; MAcMILLAN et al., 2003; TACON; FORSTER, 2003). Os estudos da excreção de metabólitos nitrogenados e de fósforo neste trabalho, produziram resultados pouco conclusivos, sendo assim, maiores esforços precisam ser realizados para esclarecer este tópico de extrema importância na criação de peixes e para a consolidação de uma aquicultura sustentável e ecologicamente correta.

## 5 CONCLUSÕES

A exigência dietética em lisina para peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico foi de 2,15% da dieta ou 5% da proteína dietética. A exigência dietética de 2,5% de lisina na dieta ou 5,8% de lisina na proteína propiciou o melhor índice de conversão alimentar. A exigência dietética em arginina para peso final, ganho de peso, consumo de ração e taxa de crescimento específico foi de 1,48% da dieta ou 3,43% da proteína dietética. A exigência dietética de 1,40% de arginina na dieta ou 3,25% de arginina na proteína proporcionou o melhor índice de conversão alimentar. O modelo estatístico da regressão segmentada foi o mais apropriado para determinação da exigência dietética de lisina e arginina para os juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* em experimento dose-resposta, em comparação à regressão polinomial para determinação de exigência dos aminoácidos estudados. A relação A/E foi uma ferramenta confiável para estimar níveis de exigência em aminoácidos essenciais com base no perfil de aminoácidos corporais de dourado (adequado como referência). Foi comprovada a eficácia do uso desta ferramenta neste trabalho, pois o valor estimado de arginina foi o mesmo que o determinado em ensaio de dose-resposta. O uso do farelo de soja e a suplementação de aminoácidos sintéticos na nutrição de juvenis de dourado são alternativas eficazes para substituir ou minimizar o uso da farinha de peixe na dieta desta espécie. A excreção de metabólitos nitrogenados e de fósforo foram estudados neste trabalho, porém por conta dos resultados pouco conclusivos, maiores esforços precisam ser realizados para esclarecer este tópico de extrema importância na criação de peixes e para a consolidação de uma aquicultura sustentável e ecologicamente correta.

## REFERÊNCIAS

- ABBOUDI, T.; MAMBRINI, M.; OOGHE, W.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Protein and lysine requirements for maintenance and for tissue accretion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. **Aquaculture**, Amsterdam, v.261, p.369-383, 2006.
- ADAMANTE, W.B. **Estresse de juvenis de dourado e mandi sob diferentes densidades e tempos de transporte**. 2005. 39 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- AHMED, I.; KHAN, M.A. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 235, p. 499-511, 2004a.
- \_\_\_\_\_. Dietary tryptophan requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 687-695, 2005.
- AHMED, I.; KHAN, M.A.; JAFRI, A.K. Dietary treonine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, p. 162-170, 2004b.
- AI, Q.; XIE, X. Effects of dietary soybean protein levels on energy budget of the southern catfish, *Silurus meridionalis*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, v. 141, p. 461-469, 2005.
- \_\_\_\_\_. Effects of dietary soybean protein levels on metabolic response of the southern catfish, *Silurus meridionalis*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, v. 144, p. 41-47, 2006.
- AI, Q.; MAI, K.; TAN, B.; XU, W.; DUAN, Q.; MA, H.; ZHANG, L. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.260, p. 255-263, 2006.
- AKNESS, A.; MUNDHEIM, H.; TOPPE, J.; ALBREKTSSEN, S. The effect of dietary hydroxyproline supplementation on salmon (*Salmo salar* L.) fed high plant protein diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, p. 242-249, 2008.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Arginine requirement of juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters. **Aquaculture**, Amsterdam, v.205, p.127-140, 2002a.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; YANIHARTO, D.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Influence of different dietary amino acid patterns on growth and body composition of

juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.210, p.359-369, 2002b.

ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; YANIHARTO, D.; SUMULE, O.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Assessment of reference dietary amino acid pattern for juvenile red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture International**, Springer Netherlands, v.13, p.369-379, 2005.

ALMEIDA, G.S.C. **Suplementação dietética de vitamina C, desenvolvimento e sanidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887)**. 2003. 47 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

AMBARDEKAR, A.A.; REIGH, R.C. Sources and utilization of amino acids en channel catfish diets: a review. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 69, p. 174-179, 2007.

AMUTIO, V.G.; ESPINACH ROS, A.; FORTUNY, A. Field-induced breeding of the dorado, *Salminus maxillosus* Valenciennes. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 59, p. 15-21, 1986.

ANDERSON, J.S.; LALL, S.P.; ANDERSON, D.M.; McNIVEN, M.A. Availability of amino acids from various fish meals fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 138, p. 291-301, 1995.

APPLEBAUM, S.L.; RONNESTAD, I. Absorption, assimilation and catabolism of individual free amino acids by larval Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 230, p. 313-322, 2004.

ARAI, S. A purified test diet for Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. **Bulletin Japanese Society Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 47, p. 547-550, 1981.

BALL, R.O.; URSCHER, K.L.; PENCHARZ, P.B. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 137, p. 1626-1641, 2007.

BARAS, E.; JOBLING, M. Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fish. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 33, p. 461-479. 2002.

BARRETT, G.W., ODUM. E.P. The Twenty-first Century: The world at carrying capacity. **BioScience**, v. 50 , n. 4, p. 363-368, 2000.

BARROWS, F.T.; STONE, D.A.J.; HARDY, R.W. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 265, p. 244-252, 2007.

BERG, J.M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 1059 p.

BERGE, G.E.; LIED, E.; SVEIER, H. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*), the requirement and metabolism of arginine. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, v. 117, p. 501-509, 1997.

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

\_\_\_\_\_. Effects of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) imbalanced levels of lysine and arginine. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, p. 239-248, 2002.

BERGE, G.E.; BAKKE-McKELLEP, A.M.; LIED, E. In vitro uptake and interaction between arginine and lysine of atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, p. 181-193, 1999.

BISWAS, A.K.; KAKU, H.; JI, S.C.; SEOKA, M.; TAKII, K. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 284-291, 2007.

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

BONALDO, A.; ROEM, A.J.; PECCHINI, A.; GRILLI, E.; GATTA, P.P. Influence of dietary soybean meal levels on growth, feed utilization and gut histology of Egyptian sole (*Solea aegyptiaca*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 580-586, 2006.

BORGHESI, R. **Exigências em proteína e energia e valor biológico de alimentos para o dourado *Salminus brasiliensis***. 2008. 97 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

BORGHETI, J.R.; CANZI, C.; FERNANDEZ, D.R. Influência de diferentes níveis de proteína no crescimento do dourado *Salminus maxillosus*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 33, n. 3, p. 683-689, 1990.

BORGHETI, J.R.; CANZI, C.; FERNANDEZ, D.R.; NOGUEIRA, S.V.G. Efeito da alimentação artificial com incorporação de andrógeno natural (testosterona) no desenvolvimento das larvas de *Salminus maxillosus*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 33, n. 4, p. 939-948, 1990.

BORLONGAN, I.G. Arginine and threonine requirements of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 93, p. 313-322, 1991.

BORLONGAN, I.G.; BENITEZ, L.V. Quantitative lysine requirement of milkfish (*Chanos chanos*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 87, p. 341-347, 1990.

BORLONGAN, I.G.; COLOSO, R.M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, p. 125-132, 1993.

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

BOYD, C.E. **Water quality in warmwater fish ponds**. Auburn: Auburn University, 1984. 359p.

\_\_\_\_\_. Aquaculture and water pollution. **Decision Support Systems for Water Resources Management**, p.153-157, 2001.

\_\_\_\_\_. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 226, p. 101-112, 2003.

BOYD, C.E.; QUEIROZ, J.F. Nitrogen, phosphorus loads vary by system. **The Advocate**, Stamford, p.84-86, 2001.

BOYD, C.E.; SCHMITTOU, H.R. Achievement of sustainable aquaculture through environmental management. **Aquaculture Economics & Management**, v. 3, n. 1, p. 56-69, 1999.

BRAGA, L.G.T.; BORGHESI, R.; CYRINO, J.E.P. Apparent digestibility of ingredients in diets for *Salminus brasiliensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 2, p. 271-274, 2008.

BRAGA, L.G.T.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K.; CYRINO, J.E.P. Trânsito gastrointestinal de dieta seca em *Salminus brasiliensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p. 131-134, 2007.

BRITZ, P.J.; BACELA, N.; HECHT, T. Can crystalline arginine be used to quantify the arginine requirement of abalone? **Aquaculture**, Amsterdam, v. 157, p. 95-105, 1997.

BROUGHER, D.S.; DOUGLAS, L.W.; SOARES JR, J.H. A comparative study of the dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis* and sunshine bass *M. chrysops* x *M. saxatilis*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 35, p. 143-158, 2004.

BROWN, P.B.; DAVIS, D.A.; ROBINSON, E.H. An estimate of the dietary lysine requirement of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 19, n. 3, p. 109-112, 1988.

BUENTELLO, J.A.; GATLIN III, D.M. The dietary arginine requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) is influenced by endogenous synthesis of arginine from glutamic acid. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 188, p. 311-321, 2000.

CAMARGO, S.O.; POUHEY, J.L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1406-1411, 2005.

CAMPOS, P.; MARTINO, R.C.; TRUGO, L.C. Amino acid composition of Brazilian surubim fish (*Pseudoplatystoma corruscans*) fed different diets with different levels and sources of fat. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 96, p. 126-130, 2006.

CASTAGNOLLI, N. Estado da arte da aquicultura brasileira. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATTI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004, p. 1-6.

CHENG, Z.J.; HARDY, R.W.; USRY, J.L. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 218, p. 255-265, 2003a.

\_\_\_\_\_. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 218, p. 553-565, 2003b.

CHIU, Y.N.; AUSTIC, R.E.; RUMSEY, G.L. Urea cycle activity and arginine formation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, p. 1640-1650, 1986.

CHOU, R.L.; HER, B.Y.; SU, M.S.; HWANG, G.; WU, Y.H.; CHEN, H.Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 229, p. 325-333, 2004.

CHUNG, T.K.; BAKER, D.H. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 70, p. 3102-3111, 1992.

CLARKE, W.C.; VIRTANEN, E.; BLACKBURN, J.; HIGGS, D.A. Effects of a dietary betaine / amino acid additive on growth and seawater adaption in yearling chinook salmon. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 121, p. 137-145, 1994.

COELLO, N.; BRITO, L.; NONUS, M. Biosynthesis of L-Lysine by *Corynebacterium glutamicum* grown fish silage. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 73, p. 221-225, 2003.

COELLO, N.; MONTIEL, E.; CONCEPCION, M.; CHRISTEN, P. Optimization of a culture medium containing fish silage for L-lysine production by *Corynebacterium glutamicum*. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 85, p. 207-211, 2002.

CONAMA. Resolução n. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Lema: Legislação de Meio Ambiente Ltda.** 2005, p. 1-26.

CONCEIÇÃO, L.E.C; GRASDALEN, H.; RONNESTAD, I. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 227, p. 221-232, 2003.

COSER, A.M.; GODINHO, H.; RIBEIRO, D. Cryogenic preservation of spermatozoa from *Prochilodus scrofa* and *Salminus maxillosus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 37, p. 387-390, 1984.

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

COYLE, S.D.; TIDWELL, J.H.; WEBSTER, C. Response of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) to dietary supplementation of lysine, methionine, and highly unsaturated fatty acids. **Journal of World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 31, n. 1, p. 89-95, 2000.

DABROWSKI, K.; ARSLAN, M.; TERJESEN, B.F.; ZHANG, Y. The effect of dietary indispensable amino acid imbalances on feed intake: Is there a sensing of deficiency and neural signaling present in fish? **Aquaculture**, Amsterdam, v. 268, p. 136-142, 2007.

DAIRIKI, J.K.; DIAS, C.T.S.; CYRINO, J.E.P. Lysine requirements of largemouth bass *Micropterus salmoides*. A comparison of methods of analysis of dose-response trials data. **Journal of Applied Aquaculture**, New York, v. 19, n. 4, p. 1-27, 2007.

DAVIES, S.J.; MORRIS, P.C. Influence of multiple amino acid supplementation on the performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed soya based diets. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 28, p. 65-74, 1997.

DAVIS, D.A.; JIRSA, D.; ARNOLD, C.R. Evaluation of soybean proteins as replacements for menhaden fish meal in practical diets for the Red Drum *Sciaenops ocellatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 26, n. 1, p. 48-58, 1995.

DE FRANCESCO, M.; PARISI, G.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J.; GÓMEZ-RÉQUENI, P.; MÉDALE, F.; KAUSHIK, S.J.; MECATTI, M.; POLI, B.M. Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 361-372, 2007.

DE SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. **Fish nutrition in aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319 p.

DOSDAT, A.; SERVAIS, F.; MÉTAILLER, R.; HUELVAN, C.; DESBRUYÈRES, E. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 141, p. 107-127, 1996.

EDGAR II. Disponível em: <<http://www.edgarweb.org.uk/choosedesign.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2007.

EL-HAROUN, E.R.; BUREAU, D.P. Comparison of the bioavailability of lysine in blood meals of various origins to that of L-lysine HCl for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 262, p. 402-409, 2007.

EL-SAIDY, D.M.S.D. Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 33, n. 3, p. 297-305, 2002.

ENCARNAÇÃO, P.; LANGE, C.; BUREAU, D.P. Diet energy source affects lysine utilization for protein deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 1371-1381, 2006.

ESPE, M.; LEMME, A.; PETRI, A.; EL-MOWAFI. Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal? **Aquaculture**, Amsterdam, v. 255, p. 255-262, 2006.

\_\_\_\_\_. Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 263, p. 168-178, 2007.

ESTEVEES, K.E.; PINTO LÔBO, A.V. Feeding pattern of *Salminus maxillosus* (Pisces Characidae) at Cachoeira das Emas, Mogi-Guaçu River (São Paulo State, Southeast Brazil). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 61, n. 2, p. 267-276, 2001.

FAGBENRO, O.A. Validation of the essential amino acid requirements of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linne 1758), assessed by the ideal protein concept. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE 5, 2000, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Panorama da Aquicultura, 2000. v. 1, p. 154-156.

FAO. **The State of the world fisheries and aquaculture (SOFIA)**. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Electronic Publishing Policy and Support Branch. Communication Division, 2007. Não paginado.

FELIX, N.; SUDHARSAN, M. Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 10, p. 193-197, 2004.

FISHER, H.; GRIMINGER, P.; LEVEILLE, G.A.; SHAPIRO, R. Quantitative aspects of lysine deficiency and amino acid imbalance. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 71, p. 213-220, 1960.

FORDE-SKJAERVIK, O.; REFSTIE, S.; ASLAKSEN, M.A.; SKREDE, A. Digestibility of diets containing different soybean meals in Atlantic cod (*Gadus morhua*); comparison of collection methods and mapping of digestibility in different sections of the gastrointestinal tract. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 241-258, 2006.

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

FOURNIER, V.; GOUILLOU-COUSTANS, M.F.; MÉTAILLER, R.; VACHOT, C.; MORICEAU, J.; LE DELLIOU, H.; HUELVAN, C.; DESBRUYERES, E.; KAUSHIK, S.J. Excess dietary arginine affects urea excretion but does not improve N utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and turbot *Psetta maxima*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 217, p. 559-576, 2003.

FRACALOSSO, D.M.; MEYER, G.; SANTAMARÍA, F.M.; WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na Região Sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2004.

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

FURUYA, W.M. SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; FURUYA, V.R. B.; SAKAGUTI, E.S. Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 937-942, 2006.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; FURUYA, V.R.B.; BARROS, M.M.; LANNA, E.A.T. Digestibilidade aparente de energia e nutrientes do farelo de canola pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 611-616, 2001.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PEZZATO, A.C.; FURUYA, V.R.B.; MIRANDA, E.C. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, p. 1110-1116, 2004b.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; SILVA, T.C.; FURUYA, V.R.B.; SALES, P.J.P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 5, p. 1433-1441, 2005.

GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M.; FURUYA, V.R.B.; FARIA, A.C.E.A. Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em rações para alevinos de curimatá (*Prochilodus lineatus* V.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 552-559, 2002.

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

GAYLORD, T.G.; BARROWS, F.T.; TEAGUE, A.M.; JOHANSEN, K.A.; OVERTURF, K.E.; SHEPHERD, B. Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 269, p. 514-524, 2007.

GAZZOLA, A.C. **Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis***. 2003. 56 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

GLENCROSS, B.D.; BOOTH, M.; ALLAN, G.L. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 17-34, 2007.

GOFF, J.B.; GATILN III, D.M. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 241, p. 467-477, 2004.

GOMES, F.P.; GARCIA, C.H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**: exposição com exemplos e orientação para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309 p.

GOMIERO, L.M.; BRAGA, F.M.S. Cannibalism as the main feeding behavior of tucunares introduced in southeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 64, n. 3B, p. 625-632, 2004.

GRIFFIN, M.E.; BROWN, P.B.; GRANT, A.L. The dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, p. 1332-1337, 1992.

GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 152, p. 205-221, 1997.

HALVER, J.E. **Fish nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. 256 p.

HANSEN, A.C.; KARLSEN, O.; ROSENLUND, G.; RIMBACH, M.; HEMRE, G.I. Dietary plant protein utilization in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 200-215, 2007a.

HANSEN, A.C.; ROSENLUND, G.; KARLSEN, O.; KOPPE, W.; HEMRE, G.I. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I – Effects on growth and protein retention. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 272, p. 599-611, 2007b.

HAULER, R.C.; CARTER, C.G. Lysine deposition responds linearly to marginal lysine intake in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, p. 147-156, 2001.

HAULER, R.C.; CARTER, C.G.; EDWARDS, S.J. Feeding regime does not influence lysine utilization by Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 273, p. 545-555, 2007.

HEIKKINEN, J.; VIELMA, J.; KEMILAINEN, O.; TIROLA, M.; ESKELINEN, P.; KIURU, T.; NAVIA-PALDANIUS, D.; WRIGHT, A.V. Effects of soybean meal based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 259-268, 2006.

HELLAND, S.J.; GRISDALE-HELLAND, B. Replacement of fish meal with gluten in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effect on whole-body amino acid concentrations. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 1363-1370, 2006.

HERNÁNDEZ, M.D.; MARTÍNEZ, F.J.; JOVER, M.; GARCÍA, B.G. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 263, p. 159-167, 2007.

HEVROY, E.M.; EL-MOWAFI, A.; TAYLOR, R.G.; OLSVIK, P.A.; NORBERG, B.; ESPE, M. Lysine intake affects gene expression of anabolic hormones in atlantic salmon, *Salmo salar*. **General and Comparative Endocrinology**, Amsterdam, v. 152, p. 39-46, 2007.

HIGGINS, A.D.; SILVERSTEIN, J.T.; ENGLER, J.; WILSON, M.E.; REXROAD III, C.E.; BLEMING, K.P. Starvation induced alterations in hepatic lysine metabolism in different families of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Springer Netherlands, v. 31, p. 33-44, 2005.

HILBORN, R.; PUNT, A.E.; ORENSANZ, J. Beyond band-aids in fisheries management: Fixing world fisheries. **Bulletin of Marine Science**, v. 74, n. 3, p. 493-507, 2004.

HU, M.; WANG, Y.; WANG, Q.; ZHAO, M.; XIONG, B.; QIAN, X.; ZHAO, Y.; LUO, Z. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, p. 260-265, 2008.

HUNTER, A. Further observations on the distribution of arginase in fishes. **The Journal of Biological Chemistry**, p. 505-511, 1929.

JOBLING, M.; GOMES, E.; DIAS, J. Feed types, manufacture and ingredients. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (Ed.). **Food intake in fish**. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 25-48.

JOSE, S.; MOHAN, M.V.; SHYAMA, S.; RAMACHANDRAN NAIR, K.G.; MATHIEW, P.T. Effect of soybean-meal-based diets on the growth and survival rate of the Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Ham.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, p. 275-279, 2006.

KASPER, C.S.; WHITE, M.R.; BROWN, P.B. Betaine can replace choline in diets for juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 205, p. 119-126, 2002.

KASPER, C.S.; WATKINS, B.A.; BROWN, P.B. Evaluation of two soybean meals fed to yellow perch (*Perca flavescens*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 431-438, 2007.

KAUSHIK, S.J.; FAUCONNEAU, B.; TERRIER, L.; GRAS, J. Arginine requirement and status assessed by different biochemical indices in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 70, p. 75-95, 1988.

KEEMBIYEHETTY, C.N.; GATLIN III, D.M. Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 104, p. 271-277, 1992.

\_\_\_\_\_. Dietary threonine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 3, p. 217-221, 1997.

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

KIKUCHI, K. Partial replacement of fish meal with corn gluten meal in diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, v. 30, n. 3, p. 357-363, 1999.

KIM, J.D.; LALL, S.P. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 187, p. 367-373, 2000.

KIM, K.; KAYES, T.B.; AMUNDSON, C.H. Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 106, p. 333-344, 1992.

KUÇUKBAY, F.Z.; YAZLAK, H.; SAHIN, N.; AKDEMIR, F.; ORHAN, C.; JUTURU, V.; SAHIN, K. Effects of dietary arginine silicate inositol complex on mineral status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 257-262, 2008.

LALL, S.P.; KAUSHIK, S.J.; LE BAIL, P.Y.; KEITH, R.; ANDERSON, J.S.; PLISETSKAYA. Quantitative arginine requirement of atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, p. 13-25, 1994.

LEMARIÉ, G.; DOSDAT, A.; COVES, D.; DUTTO, G.; GASSET, E.; RUYET, J.P.L. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 229, p. 479-491, 2004.

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

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

LIEBERT, F. Amino acid requirements in fin fish. **Aqua Feeds: Formulation & Beyond**, v. 2, p. 20-21. 2005.

LIEBERT, F.; BENKENDORFF, K. Modeling lysine requirements of *Oreochromis niloticus* due to principles of the diet dilution technique. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 100-110, 2007.

LIMA, F.C.T.; BRITSKI, H.A. *Salminus franciscanus*, a new species from the rio São Francisco basin, Brazil (Ostariophysi: Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 5, n. 3, p. 237-244, 2007.

LIMIN, L.; FENG, X.; JING, H. Amino acids composition difference and nutritive evaluation of the muscle of five species of marine fish, *Pseudosciaena crocea* (large yellow croaker), *Lateolabrax japonicus* (common sea perch), *Pagrosomus major* (red sea bream), *Seriola dumerili* (Dumeril's amberjack) and *Hapalogenys nitens* (black gunt) from Xiamen Bay of China. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, p. 53-59, 2006.

LOVELL, R.T. Aquaculture and the soybean. **Aquaculture Magazine**, Carolina do Norte, p. 1-3, 1985.

\_\_\_\_\_. Use of soybean products in diets for aquaculture species: revised. **Asa Technical Bulletin**, Singapore, v. AQ 21-90, p. 1-16, 1990.

LUNGER, A.N.; McLEAN, E.; GAYLORD, T.G.; KUHN, D.; CRAIG, S.R. Taurine supplementation to alternative dietary proteins used in fish meal replacement enhances growth of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 271, p. 401-410, 2007.

LUO, Z.; LIU, Y.; MAI, K.; TIAN, L.; YANG, H.; TAN, X.; LIU, D. Dietary L-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, p. 409-418, 2005.

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

LUZZANA, U.; HARDY, R.W.; HALVER, J.E. Dietary arginine requirement of fingerling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 163, p. 137-150, 1998.

MACHADO, C. **Aspectos reprodutivos do dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (Teleostei, Characidae) na região do Alto Rio Uruguai, Brasil**. 2003. 61 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

MACHADO, C.C. **Exigência protéica na dieta de juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis***. 2004. 44 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

MACMILLAN, J.R.; HUDDLESTON, T.; WOOLLEY, M.; FOTHERGILL, K. Best management practice development to minimize environmental impact from large flow-through trout farms. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 226, p. 91-99, 2003.

MAI, M.G. **Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis***. 2004. 45 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

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

MAI, K.; ZHANG, L.; AI, Q.; DUAN, Q.; ZHANG, C., LI, H.; WAN, J.; LIUFU, Z. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, p. 535-542, 2006b.

MAMBRINI, M.; ROEM, A.J.; CRAVEDI, J.P.; LALLES, J.P.; KAUSHIK, S.J. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 77, p. 2990-2999, 1999.

MARTÍNEZ-LLORENS, S.; VIDAL, A.T.; GARCIA, I.J.; TORRES, M.P.; CERDA, M.J. Optimum dietary soybean meal level for maximizing growth and nutrient utilization of on-growing gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, p. 1-9, 2008.

MASUMOTO, T.; RUCHIMAT, T.; ITO, Y.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, p. 109-119, 1996.

MATSUNARI, H.; FURUITA, H.; YAMAMOTO, T.; KIM, S.K.; SAKAKURA, Y.; TAKEUCHI, T. Effect of dietary taurine and cystine on growth performance of juvenile red sea bream *Pagrus major*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 274, p. 142-147, 2008.

MEYER, G.; FRACALOSSO, D.M. Estimation of jundiá (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirements based on muscle amino acid composition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 4, p. 401-405, 2005.

MIYADA, V.S. Uso do conceito de proteína ideal na alimentação e nutrição de suínos. In: MATTOS, W.R.S. et al. (Ed.). **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 195-201.

MOON, H.Y.; GATLIN III, D.M. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 95, p. 97-106, 1991.

MONTES GIRAIO, P.J.; FRACALOSSO, D.M. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundiá, *Rhamdia quelen*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 37, n. 4, p. 388-396, 2006.

MORAIS-FILHO, M.B.; SCHUBART, O. **Contribuição ao estudo do Dourado (*Salminus maxillosus* Val.) do Rio Mogi Guassu**. São Paulo. Ministério da Agricultura. Divisão de caça e pesca, 1955, 114 p.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academic Press, 1993. 114 p.

NAYLOR, R. 1996. Energy and resource constraints on intensive agricultural production. **Annual Review of Energy and Environment**, v. 21, p. 99-123, 1996.

NAYLOR, R.L.; GOLDBURG, R.J.; PRIMAVERA, J.; KAUTSKY, N.; BEVERIDGE, M.C.M.; CLAY, J.; FOLKE, C.; LUBCHENCO, J.; MOONEY, H.; TROEL, M. Effects of aquaculture on world fish supplies. **Issues in Ecology**, v. 8, p. 2-12, 2001.

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

NIKOLIC, J.; STOJANOVIC, I.; PAVLOVIC, R.; SOKOLOVIC, D.; BJELAKOVIC, G.; BENINATI, S. The role of L-arginine in toxic liver failure: interrelation of arginase, polyamine catabolic enzymes and nitric oxide synthase. **Amino Acids**, Verlag, v. 32, p. 127-131, 2007.

OLSEN, R.E.; HANSEN, A.C.; ROSENLUND, G.; HEMRE, G.I.; MAYHEW, T.M.; KNUDSEN, D.L.; EROLDGAN, O.T.; MYKLEBUST, R.; KARLSEN, O. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II – Health aspects. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 272, p. 612-624, 2007.

PAPATRYPHON, E.; SOARES-JR, J.H. Identification of feeding stimulants for striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 185, p. 339-352. 2000.

\_\_\_\_\_. Optimizing the levels of feeding stimulants for use in high-fish meal and plant feedstuff-based diets for striped bass, *Morone saxatilis*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 202, p. 279-288, 2001.

PARSONS, C.M.; BAKER, D.H. The concept and use of ideal proteins in the feeding of nonruminantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA 31, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 1994. p. 119-128.

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

\_\_\_\_\_. Effect of the dietary essential amino acid pattern on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 119-128, 2007.

\_\_\_\_\_. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, p. 283-290, 2008.

PEZZATO, L.E. **Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para a indústria da nutrição de peixes e crustáceos**. Campinas: CBNA, 1995. 166 p.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATTI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.5, p. 75-169.

PIEDECAUSA, M.A.; MAZÓN, M.J.; GARCÍA, B.G.; HERNÁNDEZ, M.D. Effects of total replacement of fish oil vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 263, p. 211-219, 2007.

PIMENTEL-RODRIGUES, A.; OLIVA-TELES, A. Phosphorus availability of inorganic phosphates and fish meals in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 300-307, 2007.

PORTZ, L. **Utilização de diferentes fontes protéicas em dietas formuladas pelo conceito de proteína ideal para o “black bass” (*Micropterus salmoides*)**. 2001. 111 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

PORTZ, L.; CYRINO, J.E.P. 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**, Oxford, v. 34, p. 585-592, 2003.

\_\_\_\_\_. Digestibility of nutrients and amino acids of different protein sources in practical diets by largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, p. 312-320, 2004.

PORTZ, L.; LIEBERT, F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant-based diets with graded levels of microbial phytase. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 88, p. 311-320, 2004.

PORTZ, L.; DIAS, C.T.S.; CYRINO, J.E.P. Regressão segmentada como modelo na determinação de exigências nutricionais de peixes. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 601-607, out./dez. 2000.

RANDALL, D.J.; TSUI, T.K.N. Ammonia toxicity in fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, p. 17-23, 2002.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; RODRIGUES, E. L.; VEIGA, M.L.; EIRAS, A.C.; CAMPOS, B.E.S. Differential leukocyte counts in “dourado”, *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, from the Mogi-Guaçu river, Pirassununga, SP. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 63, n. 3, p. 517-525, 2003.

REBECA, R. **Utilização dos aminoácidos L-arginina e L-glutamina e produção de mediadores inflamatórios pelas células Walker 256**. 2008. 133 p. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

REFSTIE, S.; FORDE-SKJAERVIK, O.; ROSENLUND, G.; RORVIK, K.A. Feed intake, growth, and utilization of macronutrients and amino acids by 1 – and 2-year old Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed standard or bioprocessed soybean meal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 255, p. 279-291, 2006.

- RIBEIRO, D.F.O. **Alimentação de pós-larvas de dourado *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae) em viveiros de piscicultura**. 2005. 48 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- RIBEIRO, D.F.O.; NUÑER, A.P.O. Feed preferences of *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae) larvae in fish ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 274, p. 65-71, 2008.
- RINGO, E.; SPERSTAD, S.; MYKLEBUST, R.; REFSTIE, S.; KROGDAHL, A.; Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). The effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 829-841, 2006.
- ROBBINS, K.L. **A method, SAS program, and example for fitting the broken line to growth data**. Tennessee: University of Tennessee, Agricultural Experiment Station, 1986. 8 p.
- ROBINSON, E.H.; LI, M.H. Replacement of soybean meal in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diets with cottonseed meal and distiller's dried grains with soluble. **Journal of the world aquaculture society**, Baton Rouge, v. 39, n. 4. p. 521-527, 2008.
- ROBINSON, E.H.; WILSON, R.P.; POE, W.E. Arginine requirement and apparent absence of a lysine-arginine antagonist in fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 111, p. 46-52, 1981.
- ROCHA, R.M.; CARVALHO, E.G.; URBINATI, E.C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, p. 245-249, 2004.
- RODEHUTSCORD, M.; BECKER, A.; PACK, M.; PFEFFER, E. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to supplements of individual essential amino acids in a semipurified diet, including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 126, p. 1166-1175, 1997.
- RODEHUTSCORD, M.; BORCHERT, F.; GREGUS, Z.; PFEFFER, E. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2 Comparison of L-lysine.HCl and L-lysine sulphate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 187, p. 177-183, 2000a.
- RODEHUTSCORD, M.; BORCHERT, F.; GREGUS, Z.; PACK, M.; PFEFFER, E. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1 Effect of dietary crude protein level. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 187, p. 163-176, 2000b.
- RODRIGUES, S.S.; MENIN, E. Anatomia da cavidade bucofaringeana de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 1, p. 41-50, 2006.

RODRIGUEZ-OLARTE, D.; TAPHORN, D.C. Abundance, feeding and reproduction of *Salminus* sp. (Pisces: Characidae) from mountains streams of the Andean piedmont in Venezuela. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 4, n. 1, p. 73-79, 2006.

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

RUCHIMAT, T.; MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; ITOH, Y.; SHIMENO, S. Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), **Aquaculture**, Amsterdam, v. 158, p. 331-339, 1997.

SAOUD, I.P.; DAVIS, D.A. Effects of betaine supplementation to feeds of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared at extreme salinities. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 67, p. 351-353, 2005.

SARDAR, P.; ABID, M.; RANDHAWA, H.S.; PRABHAKAR, S.K. Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in Indian Major Carp, Rohu (*Labeo rohita* H.) fed soy protein-based diet. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, 2008. In press.

SCHUHMACHER, A.; WAX, C.; GROPP, J.M. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet, **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, p. 15-28, 1997.

SCHUTZ, J.H. **Avaliação de diferentes tipos de alimentos e fotoperíodos no crescimento e na sobrevivência de pós-larvas de dourado *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae)** 2003. 33 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

SCHUTZ, J.H.; NUÑER, A.P.O. Growth and survival of dorado *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae) post-larvae cultivated with different types of food and photoperiods. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v. 50, n. 3, p. 435-444, 2007.

SERAFINI, R.L. **Efeito do oxigênio dissolvido e da amônia na sobrevivência e crescimento de juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis***. 2005. 45 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SHAFAEIPOUR, A.; YAVARI, V.; FALAHATKAR, B.; MARREMAZI, J.G.; GORJIPOUR, E. Effects of canola meal on physiological and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 110-119, 2008.

SHAO, Q.; MA, J.; XU, Z.; HU, W.; XU, Z.; XIE, S. Dietary phosphorus requirement of juveniles black seabream *Sparus macrocephalus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 277, p. 92-100, 2008.

SHIPTON, T.A.; BRITZ, P.J.; WALKER, R.B. An assessment of the efficacy of two lysine microencapsulation techniques to determine the quantitative lysine requirement of the South African abalone, *Haliotis midae* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, p. 221-227, 2002.

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

\_\_\_\_\_. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, p. 207-212, 2000.

SOARES, C.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M.; GALDIOLI, E.M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 15-22, 2000.

SOUZA, R.H.S.; SANCHES, J.R.; RANTIN, F.T. Ventilation, gill perfusion and blood gases in dourado *Salminus maxillosus* Valenciennes (Teleostei, Characidae), exposed to graded hypoxia. **Journal Comparative Physiology B**, Berlin, v. 171, p. 483-489, 2001.

STEFFENS, W. **Principles of Fish Nutrition**. Chichester: Ellis Harwood, 1989. 384 p.

SUNDE, J.; KIESSLING, A.; HIGGS, D.; OPSTVEDT, J.; VENTURINI, G.; RUNGRUANGSAK-TORRISSEN, K. Evaluation of feed protein quality by measuring plasma free amino acids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after dorsal aorta cannulation. **Aquaculture nutrition**, Oxford, v. 9, p. 351-360, 2003.

TACON, A.G.J.; FORSTER, I.P. Aquafeeds and the environment: policy implications. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 226, p. 181-189, 2003.

TANTIKITTI, C.; CHIMSUNG, N. Dietary lysine of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.) **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 135-141, 2001.

TANTIKITTI, C.; SANGPONG, W.; CHIAVAREESAJJA, S. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 248, p. 41-50, 2005.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpress, 2004, 144 p.

TESSER, M.B.; TERJENSEN, B.F.; ZHANG, Y.; PORTELLA, M.C.; DABROWSKI, K. Free and peptide-based dietary arginine supplementation for the south American fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, p. 443-453, 2005.

THEBAULT, H.; ALLIOT, E.; PASTOUREUD, A. Quantitative methionine requirement of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 50, p. 75-87, 1985.

THU, T.T.N.; PARKOUDA, C.; SAEGER, S.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Comparison of the lysine utilization efficiency in different plant protein sources supplemented with L-lysine HCl in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 272, p. 477-488, 2007.

TIBALDI, E.; LANARI, D. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed semipurified diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 95, p. 297-304, 1991.

TIBALDI, E.; TULLI, F. Dietary threonine requirement of juvenile european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 175, p. 155-166, 1999.

TIBALDI, E.; TULLI, F.; LANARI, D. Arginine requirement and effect of different dietary arginine and lysine levels for fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 127, p. 207-218, 1994.

TIBALDI, E.; HAKIM, Y.; UNI, Z.; TULLI, F.; FRANCESCO, M.; LUZZANA, U.; HARPAZ, S. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 182-193, 2006.

TIDWELL, J.H.; COYLE, S.D.; BRIGHT, L.A.; YASHARIAN, D. Evaluation of plant and animal source proteins for replacement of fish meal in practical diets for the Largemouth bass *Micropterus salmoides*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 36, n. 4, p. 454-463, 2005.

TULLI, F.; VACHOT, C.; TIBALDI, E.; FOURNIER, V.; KAUSHIK, S.J. Contribution of dietary arginine to nitrogen utilisation and excretion in juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets differing in protein source. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, Amsterdam, v. 147, p. 179-188, 2007.

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

VALDIMARSSON, G.; JAMES, D. World fisheries: utilization of catches. **Ocean & Coastal Management**, v. 44, p. 619-633, 2001.

VEGA-ORELLANA, O.M. **Larvicultura do dourado (*Salminus brasiliensis*): Desenvolvimento ontogenético de proteinases digestórias e transição alimentar**. 2003. 69 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

VEIVERBERG, C.A.; LAZZARI, R.; RADUNZ NETO, J.; PEDRON, F.A.; CORRÊIA, V.; BERGAMIM, G.T. Rendimento de cortes de jundiá, dourado e tilápia separados por sexo. In: CYRINO, J.E.P.; SCORVO FILHO, J.D.; SAMPAIO, L.A.; CAVALLI, R.O. (Ed.). **Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura II**. Piracicaba: Copiadora Luiz de Queiroz, 2008. cap. 30, p. 343-355.

VENOU, B.; ALEXIS, M.N.; FOUNTOULAKI, E.; HARALABOUS, J. Effects of extrusion and inclusion level of soybean meal on diet digestibility, performance and nutrient utilization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 343-356, 2006.

VENTURIERI, R. **Pesque-Pague no Estado de São Paulo - vetor de desenvolvimento da piscicultura e opção de turismo e lazer**. Eco associação para estudos de meio ambiente, São Paulo, SP, Brasil, 2002, 168 p.

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

WANG, Y.; KONG, L.J.; LI, C.; BUREAU, D.P. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, p. 1307-1313, 2006.

WANG, S.; LIU, Y.; TIAN, L.; XIE, M.; YANG, H.; WANG, Y.; LIANG, G. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, p. 419-429, 2005.

WEBSTER, C.D.; GOODGAME-TIU, L.S.; TIDWELL, J.H. Total replacement of fish meal by soy bean meal, with various percentages of supplemental L-methionine, in diets for blue catfish, *Ictalurus furcatus* (Lesueur). **Aquaculture Research**, Oxford, p.299-306, 1995.

WEBSTER, C.D.; TIU, L.G.; TIDWELL, J.H.; GRIZZLE, J.M. Growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 150, p. 103-112, 1997.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Dourado. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. cap. 11, p. 257-286.

WHITEMAN, K.W.; GATLIN III, D.M. Evaluation of crystalline amino acid test diets including pH adjustment with red drum (*Sciaenops ocellatus*) and hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 248, p. 21-25, 2005.

WICKS, B.J.; RANDALL, D.J. The effect of feeding and fasting on ammonia toxicity in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 59, p. 71-82, 2002.

WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.H.; HARDY, R.W.(Ed.). **Fish Nutrition**. San Diego: Academic Press, 2002, p. 143-179.

WILSON, R.P. Amino acid requirements of finfish and crustaceans. In: D`MELLO, J.P.F.D. **Amino Acids in Animal Nutrition**. 2003, p. 427-447.

WILSON, R.P.; HARDING, D.E.; GARLING JR, D.L. Effect of dietary pH on amino acid utilization and lysine requirement of fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 159, p. 166-170, 1977.

YAMAMOTO, T.; SHIMA, T.; FURUITA, H. Antagonistic effects of branched-chain amino acids induced by excess protein-bound leucine in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 232, p. 539-550, 2004.

YAN, Q.; XIE, S.; ZHU, X.; LEI, W.; YANG, Y. Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 163-169, 2007.

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**, Amsterdam, v. 159, p. 87-100, 1997.

ZEITOUN, I.H.; ULLREY, D.E.; MAGEE, W.T.; GILL J.L.; BERGEN, W.G. Quantifying nutrient requirements of fish. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, Ottawa, v. 33, p. 167-172, 1976.

ZHANG, L.; MAI, K.; AI, Q.; DUAN, Q.; ZHANG, C.; LI, H.; TAN, B. Use of a compound protein source as a replacement for fish meal in diets of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 39, n. 1, p. 83-90, 2008.

ZHANG, C.; MAI, K.; AI, Q.; ZHANG, W.; DUAN, Q.; TAN, B.; MA, H.; XU, W.; LIUFU, Z.; WANG, X. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicas*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 255, p. 201-209, 2006.

ZHOU, Q.C.; MAI, K.S.; TAN, B.P.; LIU, Y.J. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*), **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, p. 175-182, 2005.

ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; CHI, S.Y.; YANG, Q.H. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 273, p. 634-640, 2007.

ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; TAN, B.P.; CHI, S.Y.; YANG, Q.H. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, p. 551-557, 2006.

ZHOU, X.Q.; ZHAO, C.R.; LIN, Y. Compare the effect of diet supplementation with uncoated or coated lysine on juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 457-461, 2007.

ZHOU, X.Q.; ZHAO, C.R.; JIANG, J.; FENG, L.; LIU, Y. Dietary lysine requirement of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, p. 1-6, 2007.

## APÊNDICE



Figuras A e B - Adultos de dourado capturados na natureza



Figuras C e D - Laboratório experimental e experimento 1 (lisina)



Figuras E e F - Experimentos 2 (arginina) e 3 (farelo de soja) e juvenis de dourado



Figuras G e H - Coleta de sangue de juvenis de dourado



Figuras I e J - Dietas experimentais 2 (arginina) e 3 (farelo de soja)



Figuras K, L e M - Coleta de água para monitoração da excreção indireta de metabólitos

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)