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

**Exigências nutricionais de juvenis de pacu (*Piaractus
mesopotamicus* Holmberg, 1887): proteína, energia e aminoácidos**

Álvaro José de Almeida Bicudo

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

**Piracicaba
2008**

Álvaro José de Almeida Bicudo
Zootecnista

**Exigências nutricionais de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*
Holmberg, 1887): proteína, energia e aminoácidos**

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
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Bicudo, Álvaro José de Almeida

Exigências nutricionais de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887): proteína, energia e aminoácidos / Álvaro José de Almeida Bicudo. - - Piracicaba, 2008.

122 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Aminoácidos 2. Dieta animal 3. Hematologia veterinária 4. Metabolismo energético 5. Nutrição animal 6. Pacu 7. Proteínas I. Título

CDD 639.375
B583e

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

A minha mãe, **Rosângela Lúcia**, pelo amor, ensinamentos e
sacrifícios que permitiram chegar até este momento.

Ao meu pai, **José Bicudo** (*in memoriam*), eterna fonte de inspiração.

“Da semente a vida. Da vida a semente”

A minha amada esposa, **Edenilza**, pelo amor e apoio incondicional
durante essa longa caminhada, mesmo quando estive tão ausente.

A minha tia, **Soraya**, por todo o apoio dado na minha formação profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter guiado os meus passos em todos os momentos desta jornada.

Ao Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino, pela oportunidade, orientação, incentivo, amizade, exemplo profissional e confiança em mim depositada em todos os momentos, mesmo nos mais difíceis. É um orgulho ter sido orientado por uma pessoal tão especial.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro ao projeto.

Aos amigos Ricardo Yuji Sado e Anderson Ferreira cuja amizade, apoio e incentivo foram fundamentais em todas as etapas deste trabalho.

Aos estagiários do Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da ESALQ, Daniel Henrique Branco Padrão (*Inmetro*), Brunno da Silva Cerozi (*K-rrêro*), Gustavo Sanches Silva (*Du-K*) e Fernando Rodrigo Sesso (*Kbelinho*) pela doação do seu tempo e amizade durante a realização deste trabalho.

As amigas Dra. Patrícia Pauletti e Maria Antônia (*Tuka*), pessoas especiais que Deus colocou no meu caminho e que me ajudaram nessa jornada.

Ao amigo Dr. Luis Fernando Batista Pinto pela ajuda nas análises estatísticas e pela amizade de tanto tempo.

Ao Prof. Dr. Irineu Umberto Packer pelas sugestões e auxílio nas análises estatísticas.

Ao amigo Dr. Ricardo Borghesi pelas conversas, ajuda e incentivo durante a realização deste trabalho.

Aos técnicos do Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da ESALQ, Ismael Baldessin Júnior e Sérgio Vanderlei Pena, por sempre estarem dispostos a ajudar em tudo que fosse necessário.

Ao amigo Jony Koji Dairiki por sua ajuda sempre que solicitada.

Aos professores Drs. José Fernando Machado Menten, Luiz Edivaldo Pezzato, Margarida Maria Barros e Marília Oetterer pelo apoio e apreço demonstrado em todas as oportunidades nas quais estivemos juntos.

Aos professores, técnicos e alunos do Curso de Pós Graduação em Ciência Animal e Pastagens pelo carinho com que me receberam.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

"O rio corta a rocha não por causa de sua força, mas por causa de sua persistência."
(Jim Watkins)

"A próxima fronteira não está somente à sua frente, ela está dentro de você."
(Robert K. Cooper)

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Revisão Bibliográfica.....	15
1.1.1 A energia na nutrição de peixes.....	15
1.1.2 A proteína na nutrição de peixes.....	24
1.1.3 Exigências em aminoácidos.....	26
1.1.4 A nutrição do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	30
Referências.....	34
2 DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO CORPORAL, E HEMATOLOGIA DE JUVENIS DE PACU (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) ALIMENTADOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA E ENERGIA.....	50
Resumo.....	50
Abstract.....	51
2.1 Introdução.....	52
2.2 Material e Métodos.....	53
2.2.1 Peixes e condições experimentais.....	53
2.2.2 Dietas experimentais.....	54
2.2.3 Procedimentos experimentais.....	56
2.2.4 Coleta e processamento de amostras para hematologia.....	58
2.2.5 Parâmetros econômicos.....	59
2.2.6 Análise estatística.....	59
2.3 Resultados.....	60
2.3.1 Desempenho produtivo.....	60
2.3.2 Composição corporal e morfometria.....	67
2.3.3 Variáveis hematológicas.....	69
2.4 Discussão.....	73

2.4.1 Desempenho produtivo.....	73
2.4.2 Composição corporal e morfometria.....	77
2.4.3 Variáveis hematológicas.....	79
2.5 Conclusões.....	81
Referências.....	81
3 EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS EM LISINA DE JUVENIS DE PACU, <i>Piaractus mesopotamicus</i> (Holmberg 1887).....	89
Resumo.....	89
Abstract.....	90
3.1 Introdução.....	91
3.2 Material e Métodos.....	92
3.2.1 Peixes e condições experimentais.....	92
3.2.2 Dietas experimentais.....	92
3.2.3 Coleta e processamento das amostras de sangue.....	95
3.2.4 Coleta e processamento das amostras.....	96
3.2.5 Parâmetros avaliados.....	96
3.2.6 Estimativa da exigência dos AAE.....	97
3.2.7 Análise estatística.....	98
3.3 Resultados.....	98
3.3.1 Parâmetros de desempenho.....	98
3.3.2 Composição corporal e morfometria.....	101
3.3.3 Parâmetros hematológicos.....	102
3.3.4 Estimativa da exigência dos AAE.....	103
3.4 Discussão.....	105
3.5 Conclusões.....	115
Referências.....	116

RESUMO

Exigências nutricionais de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887): proteína, energia e aminoácidos

O pacu, *Piaractus mesopotamicus*, é um caracídeo neotropical autóctone, de hábito alimentar onívoro, largamente utilizado na aquicultura brasileira. No entanto, alguns aspectos da sua nutrição permanecem controversos ou desconhecidos. O presente trabalho visou determinar a exigência em proteína, energia e aminoácidos para juvenis de pacu por meio da avaliação de parâmetros de desempenho, composição corporal e hematológicos em dois ensaios distintos. No primeiro ensaio, juvenis de pacu (15.5 ± 0.4 g) foram alimentados durante 10 semanas, duas vezes ao dia, com dietas contendo teores de proteína bruta (PB) entre 22 e 38% (incremento de 4%) e energia digestível (ED) entre 2600 e 3400 kcal kg⁻¹ (incremento 200 kcal kg⁻¹), em um delineamento totalmente aleatorizado, em esquema fatorial 5×5 (n=3). O ganho de peso (GP) e a taxa de crescimento específico (TCE) aumentaram significativamente com a elevação da PB dietética. A retenção de nitrogênio (RN) e a taxa de eficiência protéica (TEP) diminuíram ($p < 0,05$) com o aumento da proteína das dietas em todos os níveis de ED testados. As concentrações de ED afetaram ($p < 0,05$) a concentração de umidade, proteína, gordura, matéria mineral e energia bruta corporal e o fator de condição. A taxa de eficiência econômica foi influenciada pela proteína ($p < 0,05$) e energia digestível ($p < 0,05$) das dietas e pela interação entre ambas ($p < 0,05$). Entretanto, o índice de lucratividade econômica somente foi influenciado pela concentração de proteína bruta ($p < 0,05$) das dietas. Efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos nos parâmetros hematológicos foi registrado para taxa de hemoglobina, concentração de hemoglobina corpuscular média, proteína plasmática total e glicose plasmática. A exigência mínima para ganho de peso de juvenis de pacu é 27% de PB, com relação PB:ED ótima de 92,9 mg PB kcal⁻¹ ED. As concentrações protéicas e energéticas estudadas não causaram prejuízos a saúde dos peixes. A exigência em lisina dietética para juvenis do pacu *Piaractus mesopotamicus*, com peso inicial de 4,3 g, foi determinada fornecendo cinco dietas experimentais isonitrogenadas (32% proteína bruta) contendo caseína, gelatina e L-aminoácidos cristalinos com níveis crescentes de lisina (0,90; 1,17; 1,44; 1,69 e 1,96% da matéria seca da dieta) por 74 dias. Cada dieta foi aleatoriamente designada para grupos (n=4) de 18 peixes alimentados três vezes ao dia até a aparente saciedade. Não foram observados mortalidade ou sinais de deficiência além da redução no desempenho dos peixes alimentados com dietas deficientes ou com excesso de lisina. O peso final (PF), GP, TCE, índice de eficiência alimentar (IEA), TEP, VPP, composição corporal, morfometria e hematologia foram afetados ($p < 0,05$) pelas concentrações de lisina dietética. A análise polinomial quadrática indicou a exigência em lisina em 1,45, 1,51 e 1,43% da matéria seca da dieta, respectivamente para GP, IEA e VPP. Foram obtidos valores de lipídios e proteína corporais significativamente mais altos nos peixes alimentados com as dietas com 0,9 e 1,96% de lisina. Foi então determinado que a exigência em lisina para juvenis de pacu é de 1,5% da matéria seca da dieta.

Palavras-chave: Nutrição de peixes; Exigências Nutricionais; Relação proteína:energia; Aminoácidos essenciais; Proteína ideal

ABSTRACT

Nutritional requirements of juveniles pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887): protein, energy and amino acids

Pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a neotropical, omnivorous native characin, widely used in Brazilian aquaculture. However, some aspects of your nutrition are controversial or ignored. This work aimed at determining dietary protein, energy and amino acids requirements of juvenile pacu through the evaluation of performance, body composition and hematological parameters. In a first trial, pacu juveniles (15.5 ± 0.4 g) were fed twice a day for 10 weeks until apparent satiety with diets containing crude protein (CP) from 22 to 38 % (intervals of 4%) and digestible energy levels among 2600 and 3400 kcal kg⁻¹ (intervals of 200 kcal), in a totally randomized experimental design, 5 × 5 factorial scheme (n=3). Weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) increased significantly with amount dietary CP. Nitrogen retention (NR) and protein efficiency ratio (PER) decreased ($p < 0.05$) with increasing dietary protein at all tested levels of dietary energy. DE levels affected ($p < 0.05$) whole body moisture, protein, fat, ash, gross energy and condition factor. Economic efficiency ratio was influenced by dietary protein ($p < 0.05$) and digestible energy ($p < 0.05$), and by interaction between the two factors. However, income was affected by dietary protein level ($p < 0.05$) alone. Significant effect of treatments in hematological parameters were registered for mean corpuscular hemoglobin concentration, total plasma protein and plasma glucose. Crude protein requirements and optimum protein:energy ratio for weight gain of juveniles of pacu were 271 g kg⁻¹ and 92.9 mg kcal⁻¹, respectively. All dietary crude protein and digestible energy levels studied did not pose harms to fish health. Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (4.3 g) was determined by feeding five isonitrogenous (32% crude protein) amino acid test diets containing casein, gelatin and L-crystalline amino acids with graded levels of lysine (0.90, 1.17, 1.44, 1.69 and 1.96% of dry diet) for 74 days, three times a day until apparent satiation, to groups (n=4) of 18 fish in a totally randomized design trial. No mortality or nutritional deficiency signs were observed; reduced growth was recorded for fish fed diets with either the lower or the higher lysine contents. Final weight (FW), WG, SGR, feed efficiency (FE), PER, NR, proximate whole body composition, morphometry and hematology were affected ($p < 0.05$) by dietary lysine concentrations. Second-degree polynomial regression analysis of WG and PER data indicated dietary lysine requirement of 1.45, 1.51 and 1.43% of dry diet, respectively to WG, FE and PPV. Significantly higher lipid and protein contents values were obtained for whole body of fish fed the diets with 0.9 and 1.96% of lysine. Lysine requirement of juvenile pacu was determined as being 1.5% of dry diet.

Keywords: Fish nutrition; Nutritional requirements; Protein:energy ratio; Essential amino acids; Ideal protein

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, considerando o ganho de peso (GP) e a taxa de crescimento específico (TCE) pelo modelo exponencial.....61
- Figura 2 - Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, considerando o ganho de peso (GP) e a taxa de crescimento específico (TCE) usando o modelo *broken line*.....61
- Figura 3 - Estimativa da relação proteína bruta:energia digestível (PB:ED) para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus* considerando o ganho de peso (GP) pela regressão polinomial quadrática (A) e segmentada de duas curvas (B).....62
- Figura 4 - Relação entre a concentração de energia digestível (ED) da dieta e o índice de consumo alimentar (ICA) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....62
- Figura 5 - Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) e energia digestível para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, considerando o índice de eficiência alimentar (IEA) pelo modelo de regressão segmentada de uma (5A) e duas curvas (5B).....64
- Figura 6 - Relação entre a proteína bruta (PB) da dieta sobre a taxa de eficiência protéica (TEP) em juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....64
- Figura 7 - Relação entre a energia digestível (ED) da dieta sobre a taxa de eficiência protéica (TEP) em juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....64
- Figura 8 - Efeito da proteína bruta (PB) das dietas sobre o valor produtivo da proteína (VPP) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....66
- Figura 9 - Custo (R\$ kg⁻¹) das dietas experimentais em função dos teores de energia digestível (ED) e proteína bruta (PB).....66
- Figura 10 - Efeito da proteína bruta (PB) - A - e energia digestível (ED) - B- sobre a taxa de eficiência econômica (TEC) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....67
- Figura 11 - Correlação entre o extrato etéreo corporal (EE) e a umidade (UM) - A - e a energia bruta (EB) corporais - B - de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....68
- Figura 12 - Efeito da concentração de proteína bruta (PB) - A - e energia digestível (ED) - B - das dietas sobre a concentração de glicose plasmática (GLU) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....72
- Figura 13 - Efeito da concentração de proteína bruta (PB) - A - e energia digestível (ED) - B - dietética sobre a concentração de glicose plasmática (GLU) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*.....72

Figura 14 - Proporção entre matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM) corporal de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , ao início do período experimental e após alimentação com diferentes níveis de energia digestível (ED).....	78
Figura 15 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o ganho de peso de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	99
Figura 16 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e a taxa de crescimento específico (TCE) de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	99
Figura 17 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o índice de eficiência alimentar (IEA) de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	100
Figura 18 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e a taxa de eficiência protéica (TEP) de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	100
Figura 19 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e valor produtivo da proteína (VPP) de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	100
Figura 20 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o índice de consumo alimentar (ICA) de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	100
Figura 21 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o número total de eritrócitos de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	103
Figura 22 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o hematócrito de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	103
Figura 23 - Comparação entre diferentes métodos para estimar a exigência de aminoácidos essenciais (AAE) baseados no perfil de aminoácidos muscular do pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exigências em proteína e energia de diferentes espécies autóctones.....	26
Tabela 2 - Dietas experimentais.....	55
Tabela 3 - Desempenho e utilização de nutrientes de juvenis de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB) e energia digestível (ED).....	60
Tabela 4 - Efeito da interação entre proteína bruta e energia digestível em diferentes parâmetros de juvenis de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	65
Tabela 5 - Composição química corporal e morfometria de juvenis de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB) e energia digestível (ED).....	69
Tabela 6 - Variáveis hematológicas e bioquímicas de juvenis de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , alimentados com diferentes níveis de energia digestível (ED) e proteína bruta (PB).....	70
Tabela 7 - Efeito da interação entre proteína bruta (PB) e energia digestível (ED) em diferentes parâmetros de juvenis de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	71
Tabela 8 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	93
Tabela 9 - Composição em aminoácidos dos ingredientes das dietas.....	94
Tabela 10 - Composição em aminoácidos das dietas experimentais.....	94
Tabela 11 - Desempenho e utilização de nutrientes de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , alimentados com níveis crescentes de lisina.....	99
Tabela 12 - Composição química corporal total de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , alimentados com níveis crescentes de lisina.....	101
Tabela 13 - Parâmetros hematológicos de alevinos de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , alimentados com níveis crescentes de lisina.....	102
Tabela 14 - Composição muscular de aminoácidos do pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> e estimativa da exigência em aminoácidos pelo conceito de proteína ideal.....	103
Tabela 15 - Comparação entre métodos para estimativa da exigência de aminoácidos baseado na composição de aminoácidos muscular do pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	104

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura tem apresentado, desde a década de 1970, taxas de crescimento de 8,8% anuais, enquanto a pesca e outros sistemas terrestres de produção de carne vêm apresentando taxas de crescimento entre 1,2% e 2,8% anuais, respectivamente (FAO, 2007). Por isso, a participação da atividade aquícola – i.e. produção de peixes, crustáceos, moluscos e outros – na produção mundial de organismos aquáticos aumentou de 3,9% em 1970 para 32,4% em 2004. A maior parte desta produção é proveniente de águas continentais, correspondendo por 56,6% do volume total produzido. Esse crescimento contribuiu significativamente para que o pescado corresponda por aproximadamente 20% da proteína animal consumida pela população mundial. Embora existam indícios que a taxa de crescimento da aquicultura mundial possa ter alcançado o seu limite, é possível que continue elevada para algumas regiões e espécies (FAO, 2007).

A aquicultura nos países em desenvolvimento, com exceção da China, vem crescendo a taxas de 8,2% ao ano. Em 1970, estes países representavam 58,8% da produção; em 2002 essa participação subiu para 91,4%. Já no período de 2002 a 2004 essa participação aumentou, pois o crescimento da atividade nos países desenvolvidos foi de 11% anuais, frente aos 5% e 2% da China e dos países desenvolvidos, respectivamente. Excluindo-se os camarões marinhos, a maior parte da produção da aquicultura nos países em desenvolvimento em 2004, consistiu em peixes onívoros/herbívoros ou espécies filtradoras (FAO, 2007).

O Brasil foi o quarto país com maior taxa de crescimento da aquicultura (18,1%) no período 2000-2002 (FAO, 2005); entretanto, este fato não se repetiu no período 2002-2004 (FAO, 2007). As dificuldades enfrentadas pela carcinicultura, especialmente problemas sanitários e a valorização do real frente ao dólar, colaboraram significativamente para essa redução no crescimento (SEAP, 2007a).

A maior parte da produção de peixes no Brasil é realizada em sistemas de produção semi-intensivos, onde a participação do alimento de origem natural é bastante significativa. Entretanto, existe tendência de intensificação dos sistemas de produção, o que pode ser comprovado pelo aumento da produção das rações para aquicultura. Em 2006, as rações destinadas à aquicultura corresponderam por 0,5% do volume total de ração produzido para as diferentes espécies animais, e deste total 70,4% eram rações para peixes (SINDIRAÇÕES, 2007). Nos sistemas intensivos, as rações comerciais são a principal, senão a única fonte de nutrientes para os peixes.

Deste modo, o fornecimento de alimentos adequadamente balanceados é de extrema importância para atender as exigências nutricionais das espécies confinadas. O possível desbalanceamento nutricional das dietas aumenta a excreção destes nutrientes para o ambiente, causando impactos ambientais e sanitários devido a degradação da qualidade da água.

O estudo das necessidades energéticas e protéicas dos peixes é considerado bastante amplo na aquicultura, especialmente em função da dificuldade em se chegar a um consenso sobre as exigências protéicas e energéticas para as diferentes espécies de peixes criados em confinamento e para as distintas fases e regimes de produção. Além destas dificuldades iniciais, algumas peculiaridades dos peixes relacionadas com o meio em que vivem influenciarão as exigências nutricionais e a utilização dos nutrientes. Outros fatores, como: a variabilidade das matérias primas utilizadas no preparo das rações, o hábito alimentar e as metodologias experimentais empregadas também influenciam na determinação das exigências nutricionais.

De maneira geral, a determinação das exigências nutricionais nas diferentes espécies é feita com base na avaliação do desempenho proporcionado pelas dietas. Entretanto, nestes estudos a influência dessas dietas em aspectos fisiológicos e metabólicos dos animais é pouco estudada, principalmente quando relacionadas às espécies de peixes tropicais. Esses fatores podem ser importantes ferramentas no conhecimento da dinâmica de utilização dos nutrientes. Por exemplo, os parâmetros hematológicos podem ser importantes indicadores do impacto das dietas na saúde dos peixes (HOUSTON, 1997). Uma vez que a piscicultura como atividade econômica tem o seu desenvolvimento dependente do retorno financeiro dos produtores, é oportuno que também este seja um dos parâmetros avaliados nos estudos de nutrição em peixes.

O presente trabalho visou determinar a exigência em proteína, energia e aminoácidos para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) por meio da avaliação de parâmetros de desempenho, composição corporal, hematológicos e econômicos da espécie.

1.1 Revisão Bibliográfica

1.1.1 A energia na nutrição de peixes

A energia não é um nutriente, mas sim o resultado da oxidação da proteína, lipídios e carboidratos que durante o metabolismo pode ser liberada como calor ou armazenada para uso posterior pelos animais. Todos os animais necessitam de energia para executar atividades bioquímicas, fisiológicas e mecânicas que são essenciais à sobrevivência, crescimento e reprodução. Os custos destas atividades são considerados no momento de atender as exigências energéticas e na distribuição da energia disponível para qualquer espécie animal (KOCH; WIESER, 1983).

A energia ingerida pode ser perdida através de muitos processos. Estas perdas ocorrem nas fezes, na excreção de produtos nitrogenados e pela produção de calor. A magnitude destas perdas depende principalmente das características da dieta e da taxa de alimentação (NRC, 1993). Segundo Cui e Liu (1990) a necessidade energética dos peixes pode ser expressa pela equação:

$$C = F + U + R + G$$

Em que C é a energia ingerida através do alimento, F é a energia perdida pelas fezes, U é a energia perdida pela excreção dos produtos nitrogenados, R é a energia perdida durante o metabolismo e G é a energia estocada nos tecidos (crescimento). A energia bruta (EB) dos alimentos é dividida em muitas frações no organismo animal. A diferença entre a energia bruta (EB) e a energia digestível (ED) é a energia perdida nas fezes (EF), refletindo a porcentagem do nutriente de determinado alimento que é absorvido pelo trato digestivo. Segundo o NRC (1993), a inclusão de materiais fibrosos, de difícil digestão pelos peixes, proporciona aumento das perdas de EF. A energia metabolizável (EM) representa a ED, corrigidas as perdas de energia ocorridas pela excreção nas brânquias (EB) e na urina (EU). A perda de energia pelas brânquias e pela urina é considerada desprezível em peixes (WEBSTER; LIM, 2002). A energia líquida (EL) é a EM após as perdas de energia pelo calor. Estima-se que de 10 a 40% da energia bruta ingerida por meio das rações comerciais nas criações de peixes é excretada para o ambiente (CHO; SLINGER; BAYLEY, 1982).

O NRC (1993) considera que as perdas pelo calor ocorrem principalmente em virtude do incremento calórico da alimentação (IC) e a perda de calor da manutenção. O IC em peixes está intrinsicamente ligado ao balanço dos nutrientes, ao plano de alimentação e a temperatura ambiental (NRC, 1993), embora a relação entre o IC e o nível de alimentação seja negada por alguns autores (SMITH; RUMSEY; SCOTT, 1978). Segundo Smith, Rumsey e Scott (1978), menos de 5% da EM é perdida como calor pelos peixes. Entretanto, Meyer-Burgdorff, Osman e Günther (1989) estimaram em 52% a perda de EM na forma de calor pela tilápia do Nilo ou nilótica, *Oreochromis niloticus*. Em bovinos, por exemplo, o IC pode atingir 20-30% da EB. Conclui-se, portanto, que em virtude do menor IC dos peixes, a EL, que é a energia disponível para manutenção e crescimento, é proporcionalmente maior para peixes do que para animais endotérmicos.

A quantidade de energia destinada ao crescimento varia com o comportamento e fisiologia das espécies. Peixes exigem menos energia que animais homeotérmicos, pois não necessitam manter temperatura corporal constante, dependem menos da energia dietética para a atividade muscular e manutenção do equilíbrio na água se comparado aos animais terrestres e gastam menos energia para a excreção dos produtos nitrogenados. Aproximadamente 90% dos produtos oriundos do metabolismo nitrogenado em peixes são excretados na forma de amônia proporcionando menor demanda de energia, se comparado a mamíferos e aves os quais excretam uréia e ácido úrico, respectivamente (LOVELL, 1989). Além disso, deve-se considerar que a amônia é uma molécula pequena e consegue ser excretada facilmente através das brânquias, mesmo quando existe pequeno gradiente de concentração entre o sangue e a água, ocorrendo neste processo perda mínima ou nula de energia (SMITH; RUMSEY; SCOTT, 1978; BUREAU; KAUSHIK; CHO, 2002).

A determinação dos valores de EM das dietas para peixes é bastante complexa pelas dificuldades de mensuração das perdas urinárias e branquiais; portanto, é comum que alguns autores utilizem valores fisiológicos padrões de 5,6; 4,0 e 9,0 kcal EM g⁻¹ para proteínas, carboidratos e lipídios, respectivamente (LEE; PUTNAM, 1973; STEFFENS, 1989). Entretanto, a formulação de dietas com base na ED dos nutrientes é o procedimento indicado por nutricionistas, por ser mais facilmente mensurada e com maior acurácia do que a EM. Contudo, não existem informações sobre os valores de ED dos ingredientes para todas as espécies de peixes. Nestes casos, a ED também é estimada a partir de valores pré-determinados para outras

espécies (DE SILVA; GUNASEKERA; SHIM, 1991; SAMANTARAY; MOHANTY, 1997). Portanto, o conhecimento do valor nutricional de um ingrediente é primordial para a inclusão em dietas com baixo custo e mínimo impacto ambiental (VANDENBERG; De La NOÛE, 2001; CHONG; HASHIM; ALI, 2002; SALES; BRITZ, 2003; KIM et al., 2006).

Vários fatores afetam a exigência energética em peixes, incluindo: (1) atividade física; (2) temperatura; (3) tamanho; (4) taxa de crescimento; (5) espécie; (6) consumo de alimento. A atividade física inclui natação, fuga de predadores e estresse. A temperatura da água pode ter grande influência sendo um dos fatores que mais afetam as exigências energéticas dos peixes. Como a temperatura corporal dos peixes é próxima à temperatura do meio, quando a mesma está próxima da zona de conforto de cada espécie, há incremento na taxa metabólica e conseqüentemente no apetite, taxa de crescimento e atividade física. Entretanto, quando a temperatura do meio é inferior àquela da zona de conforto, a taxa metabólica é reduzida (WEBSTER; LIM, 2002). Alevinos de pacu mantidos em temperaturas de 28° e 32°C, por exemplo, apresentam maior retenção de energia e proteína do que os animais mantidos a 24°C (CARNEIRO et al., 1994). Resultados semelhantes foram relatados por Van Ham et al. (2003), que estudaram o efeito da temperatura (16 e 22°C) e taxa de arraçoamento (100%, 65% e 35% da saciedade aparente) no desempenho e composição corporal de juvenis do linguado Europeu, *Scophthalmus maximus*. Os juvenis alimentados com 65% de arraçoamento e mantidos a 16 °C apresentaram melhor eficiência alimentar, retenção de energia e proteína. Além disso, os autores relataram que, entre os peixes alimentados nas taxas de 100% e 65%, as diferenças encontradas foram mínimas, mas os peixes alimentados com 35% de arraçoamento e mantidos a 22°C experimentaram significativa redução na energia disponível para crescimento. Peixes jovens exigem mais energia dietética por unidade de peso se comparados a peixes adultos. Alevinos de tilápia nilótica com pesos iniciais de 22,9 e 39,8 g apresentaram melhor ganho de peso com dietas contendo 30% PB e 2509 kcal EM kg⁻¹ e 25% de PB e 3011 EM kcal kg⁻¹, respectivamente (SWEILUM; ABDELLA; EL-DIN, 2005). Skalli et al. (2004) encontraram o mesmo comportamento em *Dentex dentex* (L.): alevinos de 10g e 90g g apresentaram melhor desempenho com relação PB: EB de 9,5g kcal⁻¹ e 8,3 g kcal⁻¹, respectivamente.

A energia dietética (proveniente de proteínas, lipídios e carboidratos) é um dos principais fatores que influenciam no consumo alimentar em peixes (BOUJARD; MÉDALE, 1994; CHO; JO; KIM, 2001; PORTZ; CYRINO; MARTINO, 2001; AZEVEDO et al., 2002; SALHI et al.,

2004; BORBA; FRACALOSSO; PEZZATO, 2006). Isto significa que a quantidade de nutrientes essenciais que serão consumidos está relacionada com o conteúdo energético da dieta (CHO; SLINGER; BAYLEY, 1982). Segundo Kaushik e Médale (1994), a relação entre energia e consumo alimentar é maior quando expressa em ED ou EM, se comparada quando a EB é utilizada. Deste modo, conclui-se que a disponibilidade de energia determina a capacidade de crescimento, influenciando significativamente no modo que os peixes utilizam e respondem a dieta.

Lipídios

Os lipídios são um grupo quimicamente diverso de compostos, cuja característica comum é a insolubilidade em água. As funções biológicas dos lipídios são tão diversas quanto a sua estrutura química. Gorduras e óleos são a principal forma de estocagem de energia em muitos organismos. Fosfolipídios e esteróis são os principais elementos estruturais das membranas biológicas. Outros lipídios, embora presentes em quantidades relativamente pequenas desempenham papel crucial como cofatores de enzimas, carreadores de elétrons, âncoras hidrofóbicas para proteínas, agente emulsificante no trato digestivo, hormônios e mensageiros intracelulares (NELSON; COX, 2005).

As diferentes formas de alimento, animal e vegetal, presentes no ambiente aquático natural apresentam grandes quantidades de lipídios estocados, predominantemente como triglicerídeos e ésteres de cera. Os peixes não são capazes de sintetizar *de novo* ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) das séries n-3 e n-6; desta forma, os ácidos graxos dessas duas séries são nutrientes essenciais e necessitam ser fornecidos por meio da dieta. Como os ácidos graxos não são sintetizados *de novo*, os que são incorporados nos tecidos refletem o perfil dos ácidos graxos presentes nos alimentos consumidos (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; LEE; KIM, 2001; CHO et al., 2005). Segundo Martino et al. (2002b), alevinos de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* alimentados com dietas contendo gordura suína, apresentaram maior concentração de ácido palmítico e oléico se comparados com as dietas contendo óleos vegetais (milho, soja e linhaça). Já as dietas contendo óleo de milho e soja proporcionaram maiores concentrações de ácidos graxos (AG) n-6 na carcaça dos peixes, e o óleo de linhaça maiores concentrações de AG n-3. O fenômeno da competição entre AG da série n-3 e n-6 foi relatado anos atrás em mamíferos

e também parece ocorrer na truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, bagre do canal, *Ictalurus punctatus* e tilápia do Nilo (STICKNEY; HARDY, 1989).

A necessidade de desenvolver dietas com menor custo e ambientalmente sustentáveis é o principal motivo que tem levado os pesquisadores a estudar o uso de lipídios como agente economizador da proteína em dietas para peixes. O efeito economizador da proteína pelos lipídios já foi relatado para o bagre africano, *Clarias gariepinus* (MACHIELS; HENKEN, 1985); carpa comum, *Cyprinus carpio* (STEFFENS, 1996); truta arco-íris (LeGROW; BEAMISH, 1986); salmão do Atlântico, *Salmo salar* (HILLESTAD; JOHNSEN, 1994); perca-gigante (“barramundi”), *Lates calcarifer* (CATACUTAN; COLOSO, 1995); carpa Indiana, *Catla catla* (SEENAPPA; DEVARAJ, 1995); rohu, *Labeo rohita* (SATPATHY; MUKHERJEE; RAY, 2003); bagre amarelo, *Pseudobagrus fulvidraco* (KIM; LEE, 2005); tilápia vermelha, *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus* (DE SILVA; GUNASEKERA; SHIM, 1991); sargo do Mediterrâneo, *Diplodus sargus* (OZÓRIO et al., 2006); “rockfish”, *Sebastes schlegeli* (LEE; JEON; LEE, 2002) e dentão comum, *Dentex dentex* (SKALLI et al., 2004). Entretanto, este efeito não foi observado em todas as espécies estudadas (JOVER et al., 1999; JOHNSON; WATANABE; ELLIS, 2002; BORBA et al., 2003; HAMRE; BAEVERFJORD; HARBOE, 2005; NYINA-WAMWIZA et al., 2005; SÁ; POUSÃO-FERREIRA; OLIVA-TELES, 2006; ABIMORAD; CARNEIRO, 2007).

O aproveitamento dos lipídios como fonte energética é influenciado pelo hábito alimentar da espécie; rações para peixes carnívoros podem ter níveis mais elevados de lipídios que rações para peixes onívoros e herbívoros. Concentrações elevadas de lipídios causam redução no ganho de peso, principalmente pela redução do consumo devido à elevação da densidade energética das dietas. Meurer et al. (2002) avaliaram o desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (1,2 g) alimentados com níveis crescentes de lipídios (3 a 12%) em dietas isoprotéicas (32% PB), e registraram queda no desempenho dos alevinos com o aumento de lipídios nas dietas. Esses resultados são diferentes dos obtidos por De Silva, Gunasekera e Shim (1991) que, trabalhando com adultos de tilápia vermelha, encontraram efeito economizador da proteína dietética com até 18% de lipídios na dieta. Martino et al. (2002a) também observaram aumento proporcional do desempenho para o pintado com a inclusão de lipídios (6 a 18%) em dietas isoprotéicas. O mesmo foi observado para o bijupirá, *Rachycentron canadum*, outra espécie carnívora, quando o teor de lipídios da dieta variou de 3 até 18% (CHOU; SU; CHEN, 2001).

A capacidade de digestão/metabolismo das diferentes espécies, que pode variar em função de fatores ambientais e fisiológicos, deve ser considerada quando da inclusão de níveis e/ou fontes de lipídios na dieta. Esta capacidade depende do perfil enzimático presente no trato digestivo, assim como da capacidade de adaptação destas enzimas (LUNDSTEDT; MELO; MORAES, 2004). Almeida, Lundsted e Moraes (2006) observaram correlação positiva entre lipase intestinal e a concentração de lipídios das dietas em juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, e concluíram que a espécie é capaz de ajustar o seu perfil enzimático em função da composição química da dieta. Já os resultados encontrados por Morais et al. (2005), sugerem que larvas de linguado *Solea senegalensis* alimentadas por longos períodos com altos níveis de lipídios neutros, têm a eficiência de absorção dos ácidos graxos significativamente reduzida. Hamre, Baeverfjord e Harboe (2005) relacionaram a mortalidade ocorrida em juvenis do alabote do Atlântico, *Hippoglossus hippoglossus*, com o uso da lecitina de soja na proporção de 25% dos lipídios da dieta. Segundo Santinha et al. (1999), a inclusão de até 21% de lipídios na dieta não afeta a digestibilidade da proteína e lipídios por juvenis da dourada *Sparus aurata*.

Os lipídios dietéticos influenciam diretamente a composição química corporal dos peixes e, por isso, têm grande importância na qualidade do produto final, principalmente no músculo. Peixes oriundos da natureza tendem a ser mais magros que peixes confinados (HAARD, 1992); entretanto grandes variações podem ocorrer em função do tamanho, estado nutricional, período do ano e sistema de produção. Dependendo da espécie e época do ano, o conteúdo de lipídios na musculatura dos peixes pode variar de 2% a mais de 20%, podendo ser classificados em: magros (< 2% lipídios), pouco gordos (2-4%), moderadamente gordos (4-8% de lipídios) e muito gordos (> 8% de gordura) do ponto de vista da nutrição humana (JOBLING, 2001).

A relação entre a concentração de lipídios na dieta e a deposição de gordura tem sido estudada para várias espécies (MARTINO et al., 2002a; MELO et al., 2002; BORBA et al., 2003). Embora existam diversos estudos mostrando que a deposição de gordura está relacionada à concentração de lipídios nas dietas, o nível ótimo (máximo) não está claramente definido, principalmente se forem considerados aspectos relacionados à qualidade do produto final (i.e. filé ou músculo). Nas espécies que possuem altos níveis de gorduras na musculatura, os lipídios não são homogeneamente distribuídos ao longo do filé (NORTVEDT; TUENE, 1998). Além disso, a oxidação é um dos principais problemas enfrentados em peixes com altos níveis de lipídios

corporais, uma vez que este processo pode causar “off-flavor” (sabor desagradável), diminuir a qualidade nutricional e modificar a textura e cor do músculo (LIE, 2001).

Carboidratos

Carboidratos – hidratos de carbono – são assim chamados historicamente por conter o elemento água, $C_x(H_2O)_y$ na sua composição; entretanto, existem carboidratos recentemente descobertos que são exceções a essa fórmula. Esses compostos são importante fonte de energia para os organismos vivos, como também um dos meios pelos quais a energia pode ser armazenada. Além disso, os carboidratos funcionam como componentes estruturais dentro da célula. Os carboidratos podem ser divididos em dois grupos: (i) carboidratos solúveis, que são divididos em mono-, di- e oligossacarídeos e (ii) polissacarídeos, como por exemplo, o amido, celulose, hemi-celulose e pectinas (NELSON; COX, 2005).

Embora os lipídios sejam reconhecidos como a principal fonte de energia não protéica para peixes – aproximadamente 9,4 kcal de EB g^{-1} – a disponibilidade e o baixo custo dos carboidratos (4,1 kcal EB g^{-1}) encorajam a sua inclusão em dietas para atender de forma racional as exigências em energia dos peixes. Em geral os peixes têm limitada capacidade de utilização dos carboidratos. Existem controvérsias quanto à necessidade do uso de carboidratos em dietas para peixes, uma vez que não foram ainda descritos sinais de deficiências e carência quando da sua ausência na dieta. A exigência pode ser então considerada nula, uma vez que os peixes são capazes de sintetizar carboidratos por meio da gliconeogênese, a partir de substratos como proteínas e lipídios (NRC, 1993; SÁ; POUSÃO-FERREIRA; OLIVA-TELES, 2007). O valor nutricional dos carboidratos varia muito entre as espécies; peixes de água doce e de águas tropicais são mais hábeis no uso de carboidratos do que peixes de águas temperadas ou espécies marinhas (WILSON, 1994). Outros fatores como o tamanho dos peixes, tipo (complexidade) do carboidrato, processamento, presença de fibra na dieta e frequência alimentar também afetam a utilização de carboidratos pelos peixes (SHIAU, 1997).

A inclusão de níveis adequados de carboidratos pode proporcionar economia na utilização da proteína como fonte energética, direcionando-a para o crescimento. Entretanto, resultados da eficiência dos carboidratos em economizar proteína variam até mesmo dentro de uma única espécie. Essa variabilidade pode ser devido a características espécies-específicas, fatores ambientais, como temperatura e fotoperíodo, ou o tipo de carboidrato dietético. Em estudos com

alevinos (9,1 g) de tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*), a concentração de 22% de amido na dieta promoveu máximo ganho de peso e efeito “economizador” da proteína (WANG, Y. et al., 2005). Ali e Al-Asgah (2001) determinaram que a relação carboidrato: lipídios para alevinos (10,3 g) de tilápia nilótica pode variar entre 2,06 e 4,95; os melhores resultados foram obtidos nas dietas que continham 14% de lipídios e 29% de carboidratos. Alevinos de carpa indiana economizaram mais proteína para o crescimento quando a concentração de carboidratos da dieta era elevada de 15 para 35 %, embora a elevação do lipídio dietético de 4 para 12% tenha provocado diminuição do crescimento e perda de peso (SEENAPPA; DEVARAJ, 1995). A elevação da concentração de carboidratos de 26% para 34% proporcionou redução de 30% para 25% na exigência em proteína para alevinos de barbo prateado *Puntius gonionotus* (MOHANTA; MOHANTY; JENA, 2007).

O mesmo efeito economizador da proteína foi observado por Mohapatra, Sahu e Chaudhari (2003) para juvenis de rohu alimentados com 45% de amido gelatinizado. Juvenis de sargo branco *Diplodus sargus* (L.) utilizaram eficientemente o amido de milho como fonte de energia, quando incluído até 36% em dietas contendo 38% de proteína bruta (SÁ; POUSÃO-FERREIRA; OLIVA-TELES, 2007). Juvenis de salmão do Atlântico, mantidos a 12,5°C, apresentaram maior economia da proteína e utilização da energia proveniente do amido gelatinizado do que a 2°C (HEMRE et al., 1995; HEMRE; HANSEN, 1998). Entretanto, como acontece com os lipídios, nem todas as espécies apresentam capacidade de economizar energia a partir da utilização dos carboidratos como fonte de energia (BORBA et al., 2003; ABIMORAD; CARNEIRO, 2007).

A complexidade do carboidrato também influencia sua utilização pelos peixes. Wilson e Poe (1987) registraram crescimento e eficiência alimentar superiores em bagre do canal alimentados com dietas contendo 33% de polissacarídeos (dextrina ou amido de milho) comparativamente ao registrado para dietas contendo mono- ou dissacarídeos. Lee, Kim e Lall (2003) encontraram que a dextrina é mais eficientemente utilizada do que outros carboidratos (glicose, maltose, dextrina e celulose) por juvenis de linguado japonês, *Paralichthys olivaceus*.

O tempo de contato dos nutrientes com o epitélio intestinal é fator preponderante para a eficiência de absorção dos mesmos. É bem conhecido o papel da fibra dietética na estimulação dos movimentos peristálticos intestinais, influenciando assim o tempo de permanência dos alimentos no trato gastrintestinal e conseqüentemente a absorção dos nutrientes. Além disso, o

conteúdo de fibra pode diminuir a ingestão de alimento, uma vez que influencia negativamente a capacidade de armazenamento do estômago. O NRC (1993) recomenda que rações compostas por ingredientes de origem vegetal contenham de 3,0 a 5,0% de fibra bruta, embora algumas espécies possam suportar níveis mais elevados, sem comprometimento do crescimento. Segundo Lanna et al. (2004), níveis de até 5% de fibra bruta (FB) não diminuíram a digestibilidade aparente da matéria seca e da PB pela tilápia do Nilo, e 7,5% de FB não diminuiu a digestibilidade aparente do extrato etéreo, embora níveis crescentes de FB tenham diminuído o tempo de trânsito gastrointestinal. Zaroni (1996) observou melhores resultados de ganho de peso, eficiência alimentar e conversão alimentar com 9,0% de fibra bruta em juvenis de pacus com peso médio de 45 g. Já Lee, Kim e Lall (2003) registraram redução no desempenho e na eficiência alimentar em linguados japoneses alimentados com dietas contendo celulose. Finalmente, note-se que Tan et al. (2006) não observaram efeito deletério no desempenho de carpas douradas alimentadas com 20% de celulose na dieta. Na realidade, a fibra dietética é rotineiramente utilizada como marcador inerte alternativo em experimentos de digestibilidade para peixes carnívoros, uma vez que não é aproveitada como fonte de nutrientes (MORALES et al., 1999).

A extrusão, processo rotineiro para fabricação de rações para peixes, permite melhor manejo alimentar, eliminação de substâncias estranhas e de alguns fatores antinutricionais presentes nos alimentos, bem como melhora a disponibilidade de alguns nutrientes na ração, especialmente carboidratos. A fibra dietética, embora seja pouco afetada durante a extrusão, também pode ter efeito significativo na textura final (CZUKOR et al., 2001). O benefício da gelatinização do amido para melhorar a sua disponibilidade é bem descrito para várias espécies de peixes como a perca prateada *Bidyanus bidyanus* (STONE; ALLAN; ANDERSON, 2003); as carpas indianas, a mrigal *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) e o rohu (ERFANULLAH; JAFRI, 1998).

A frequência alimentar tem papel importante no melhor aproveitamento dos carboidratos, tanto para as espécies onívoras como carnívoras. Hung e Storebakken (1994) demonstraram que a utilização de carboidratos pela truta arco-íris, especialmente amido cru, melhorou devido ao fornecimento contínuo com alimentadores automáticos, se comparado com peixes alimentados manualmente. Tung e Shiau (1991) verificaram que híbridos de tilápia alimentados com 44% de diferentes tipos de carboidratos (amido, dextrina e glicose) tiveram melhor desempenho quando alimentados seis vezes ao dia, comparativamente àqueles alimentados duas vezes.

1.1.2 A proteína na nutrição de peixes

As proteínas são as macromoléculas mais versáteis nos organismos vivos e possuem papel crucial em todos os processos biológicos. Atuam como catalisadores, transportam e alojam outras moléculas (e.g. oxigênio), promovem apoio mecânico e proteção imune, geram movimento e controlam o crescimento e a diferenciação celulares. A constituição básica das proteínas são os aminoácidos, que contêm um átomo central (um carbono alfa), ao qual um grupo carboxílico, um grupo amino e um átomo de hidrogênio estão covalentemente ligados. Além disso, o átomo de carbono alfa está ligado a um grupo químico específico, chamado R ou radical, que define exclusivamente cada um dos 20 aminoácidos comuns. As proteínas representam aproximadamente 65-75% do peso corporal total em matéria seca de um animal, sendo que o tecido muscular corresponde por aproximadamente 70-80% do total de proteínas presentes no corpo (NELSON; COX, 2005).

Peixes consomem proteína para obter aminoácidos. A proteína digerida ou hidrolisada libera aminoácidos livres, que são absorvidos pelo epitélio intestinal e distribuídos através da corrente sanguínea para os órgãos e tecidos. Um consumo regular de proteína e aminoácidos é necessário, pois estes são utilizados continuamente pelos peixes, seja para a síntese de novas proteínas durante o crescimento ou reprodução, ou para substituir proteínas existentes (manutenção). O fornecimento de proteína dietética aquém da necessidade mínima resulta em diminuição ou interrupção do crescimento e na mobilização de proteína de tecidos menos vitais (músculo, por exemplo) para manutenção das funções vitais, resultando assim em perda de peso pelos animais. Por outro lado, quando é fornecida proteína em excesso na dieta, o excedente não utilizado no metabolismo protéico, será transformado em energia.

Existem muitos fatores que influenciam na exigência protéica dos peixes: (i) a temperatura da água, pois peixes sob temperaturas de conforto térmico exigem maior aporte de proteína para um ótimo crescimento (VAN HAM et al., 2003; CHO et al., 2005); (ii) taxa de arrazoamento, pois na alimentação *ad libitum* todos têm acesso à dieta, exigindo assim menor concentração de proteína, se comparado com a alimentação controlada, na qual nem todos os peixes consomem a mesma quantidade de alimento (ARZEL et al., 1998); (iii) tamanho do peixe, já que peixes jovens exigem mais proteína para crescimento que peixes adultos (EINEN; ROEM, 1997); (iv) sistema de produção, pois onde existe a oferta de alimento natural nos viveiros,

possíveis deficiências nutricionais nas rações podem ser supridas total ou parcialmente pelo alimento natural (VIDAL JÚNIOR et al., 1998; BECHARA et al., 2005); (v) qualidade da fonte protéica (ver FRANCIS; MAKKAR; BECKER, 2001; WATANABE, 2002) e (vi) a participação de fontes energéticas não-proteicas (ver STICKNEY; HARDY, 1989; WILSON, 1994; SHIAU, 1997; HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002). Além disso, devem ser consideradas as características fisiológicas próprias de cada espécie. Por exemplo, espécies herbívoras/onívoras apresentam menor exigência em proteína se comparadas às espécies carnívoras; permitem ainda maior utilização de fontes protéicas alternativas nas rações se comparada com estas últimas.

O balanço entre a proteína e os outros nutrientes da dieta, em particular lipídios e carboidratos, é primordial para maior eficiência da proteína para crescimento. A oxidação da proteína dietética para obtenção de energia é nutricional e economicamente indesejada, além de aumentar o potencial poluente das dietas. A adição de fontes de energia não protéicas nas dietas melhora a eficiência de retenção da proteína, incrementa a energia digestível disponível e diminui as perdas metabólicas de nitrogênio. Deficiência ou excesso de energia na dieta pode reduzir as taxas de crescimento dos peixes. Alta relação energia/proteína (E:P) resulta na diminuição do consumo voluntário de alimentos e aumenta a deposição de lipídios na carcaça. Por outro lado, baixa relação energia/proteína da dieta faz os peixes utilizarem grande parte da proteína como energia, encarecendo desta forma a dieta.

Provavelmente, a mais importante inovação ocorrida nos últimos tempos no campo da relação E:P, tenha sido o desenvolvimento de dietas com altos níveis de energia, muito utilizadas na salmonicultura. Nestas dietas são fornecidos nutrientes de alto valor nutricional, em termos de digestão e metabolismo, e alta relação E:P se comparadas às dietas tradicionais, por meio da redução da proteína ao mínimo necessário para sustentar o máximo crescimento utilizando fontes protéicas de alta qualidade. Adicionalmente, lipídios são adicionados, não raramente acima de 30%, usando o óleo de peixe como referência. Os carboidratos são providos em níveis mínimos necessários para funcionarem como agentes agregadores na formação dos grânulos, evitando assim a adição de agentes indigeríveis (EINEN; ROEM, 1997; HILLESTAD; JOHNSEN; ÅSGÅRD, 2001; MORRIS et al., 2003).

Uma vez que a proteína é o macronutriente mais caro da dieta, a pesquisa sobre nutrição animal prioriza determinar os níveis mínimos que possibilitam o máximo desempenho. Assim, determinar a melhor relação E:P para as espécies utilizadas na aquicultura, além de reduzir os

custos de produção das dietas, reduz o impacto ambiental no ambiente aquático devido a redução dos níveis de excreção de amônia. Essa é uma premissa que vem sendo aplicada para diversas espécies de peixes em todo o mundo; entretanto, considerando-se que o Brasil possui aproximadamente 50 espécies de peixes produzidas comercial ou experimentalmente (OSTRENSKY; BORGHETTI; PEDINI, 2000), são ainda poucas as espécies autóctones que possuem a melhor relação proteína/energia definida (Tabela 1).

Tabela 1 - Exigências em proteína e energia de diferentes espécies autóctones

Espécie	Peso Inicial	Proteína	Energia	Relação P:E	Referências
	g	%	kcal kg ⁻¹	mg kcal ⁻¹	
<i>Astyanax bimaculatus</i>	1,30	32,0	2900 ED	110,3	Cotan et al. (2006)
<i>Brycon orbignyanus</i>	5,25	30,0	3258 EM	92,1	Borba, Fracalossi e Pezzato (2006)
	8,38	29,0	3000 EM	96,7	Sá e Fracalossi (2002)
<i>Cichla</i> sp.	10,0	37,0	3500 ED	105,7	Sampaio, Kubitza e Cyrino (2000)
<i>Leporinus macrocephalus</i>	1,97	28,0	2800 ED	100,0	Pezzato et al. (2000)
<i>Odontesthes bonariensis</i>	0,21	51,0	3500 ED	145,7	Piedras, Pouey e Rutz (2004)
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	22,2	35,9	3300 EM	108,8	Brenner (1988)
	200,0	23,0	3200 EM	71,9	Carneiro, Castagnolli e Machado (1984b)
<i>Prochilodus affinis</i>	2,72	26,0	2700 ED	96,3	Bomfim et al. (2005)
<i>Rhamdia quelen</i>	0,30	37,3	3393 ED	109,9	Salhi et al. (2004)
	0,70	51,0	3400 ED	150,0	Piedras et al. (2006)
	1,52	32,6	3650 EM	89,3	Meyer e Fracalossi (2004)

EM=Energia metabolizável; ED=Energia digestível

1.1.3 Exigências em aminoácidos

Os aminoácidos podem ser classificados de acordo com a necessidade do fornecimento por meio da dieta para a ocorrência da síntese protéica e crescimento. Os aminoácidos chamados de essenciais ou indispensáveis são aqueles que os animais não podem sintetizar, ou não podem sintetizar em quantidade suficiente para sustentar a manutenção de boas taxas de crescimento; os aminoácidos que podem ser sintetizados *de novo* a partir de outros compostos são chamados não essenciais ou dispensáveis. Os aminoácidos essenciais são a arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina; a cistina e tirosina são condicionalmente essenciais; e os não essenciais são a alanina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutâmico, glicina, prolina e serina.

Os peixes, assim como os outros animais, não apresentam exigências em proteína, mas sim, da mistura bem balanceada de aminoácidos essenciais e não essenciais. Portanto, a

determinação das exigências em aminoácidos é importante para maximizar a qualidade e eficiência das dietas. Os estudos para determinar as exigências em aminoácidos para peixes iniciaram-se nos Estados Unidos na década de 50 (AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 1997). A determinação das exigências em aminoácidos essenciais geralmente é realizada por meio de experimentos de dose-resposta (WILSON, 2002). Nos estudos de exigências nutricionais de aminoácidos para suínos, Cole (1978) ¹ *apud* Alam et al. (2002b) introduziu o conceito de “proteína ideal”, em que o perfil de aminoácidos corporais do suíno poderia refletir a exigência em aminoácidos deste animal. Segundo Wilson (2002), a proteína ideal pode ser definida como mistura de aminoácidos ou de proteínas com total disponibilidade de digestão e metabolismo, capaz de fornecer sem excessos nem deficiências as necessidades absolutas de todos os aminoácidos exigidos para manutenção e produção dos peixes e para favorecer a deposição protéica com máxima eficiência. Para ser “ideal”, a proteína ou a combinação de proteínas, não deve possuir excesso de aminoácidos, que devem estar presentes na dieta exatamente nos níveis exigidos para a manutenção e deposição protéica (WILSON, 2002), ou seja, embora a exigência em aminoácidos possa ser afetada por diversos fatores, as relações entre os aminoácidos permanecem bastante estáveis (FURUYA; FURUYA, 2003; FURUYA et al., 2005).

Em peixes, o perfil de aminoácidos presentes na carcaça e/ou músculo tem sido utilizado por diversos pesquisadores para determinar as exigências nutricionais em aminoácidos (HAULER; CARTER, 2001; TANTIKITTI; CHIMSUNG, 2001; WANG, S. et al., 2005; MAI et al., 2006; MARCOULI et al., 2006). Isto é possível, pois existe elevada correlação entre a composição de aminoácidos da carcaça com as exigências determinadas em experimentos de dose-resposta (WILSON; POE, 1985; AI; MAI; LI, 2004). Soma-se a isso o fato do perfil – quantitativo e qualitativo – de aminoácidos da carcaça e/ou músculo de peixes ser pouco afetado pela dieta (YAMAMOTO; UNUMA; AKIYAMA, 2000). Meyer e Fracalossi (2005) relataram que a classe de peso (1 a 100 g e 101 a 200 g), a origem (natureza ou confinamento) e o nível de proteína na dieta (34% e 38% PB) não influenciaram no perfil de aminoácidos muscular de jundiás. Embora o perfil de aminoácidos muscular/corporal seja próximo entre diferentes espécies de peixe, cada espécie apresenta exigência própria em aminoácidos, devido a características fisiológicas e biológicas espécie-específicas. Diferenças quantitativas nos perfis de

¹ Cole, D.J.A. 1978. Amino acid nutrition of the pig. In: Haresing, W.; Lewis, D. (Eds.), Recent Advances in Animal Nutrition. Butterworth, London, UK, p. 59-72.

aminoácidos parecem estar relacionadas com mudanças em informações genéticas específicas relacionadas à forma como as proteínas musculares são sintetizadas nos peixes (FU et al., 2000), uma vez que não foram observadas similaridades no perfil de aminoácidos corporais entre espécies filogeneticamente próximas ou com mesmo hábito alimentar quando este perfil era expresso pela relação A/E (AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 1997; BICUDO; CYRINO, in press).

No conceito de proteína ideal, determina-se a exigência de um aminoácido referência, usualmente o mais limitante nas dietas comerciais, utilizando-se o método de dose resposta. As exigências para os outros aminoácidos são estimadas baseadas no perfil de aminoácidos corporais e/ou musculares. Em geral a lisina é o aminoácido mais limitante na maioria dos produtos vegetais utilizados na produção de rações comerciais para peixes e, por isso, o número de estudos para determinação da exigência deste aminoácido é superior aos outros (WILSON, 2002). A lisina é utilizada como aminoácido de referência por ser encontrada na forma sintética, pelo número de informações sobre suas exigências, pelo baixo custo, pela rapidez de sua análise e por ser utilizada exclusivamente para a síntese de proteína corporal (COWEY, 1994; AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 1997; AMBARDEKAR; REIGH, 2007).

O valor nutritivo da proteína dietética depende do seu conteúdo em aminoácidos e o quanto deste conteúdo é absorvido pela circulação sanguínea. Embora exista certa relação entre os valores da digestibilidade da proteína e dos aminoácidos, a obtenção do coeficiente de digestibilidade individual dos aminoácidos é importante, pois ele é variável para alguns aminoácidos essenciais (HOSSAIN; JAUNCEY, 1989). As taxas de liberação e absorção de aminoácidos provenientes da proteína durante o processo de digestão influenciam no valor dietético da fonte protéica (AMBARDEKAR; REIGH, 2007).

Lisina

A exemplo dos demais monogástricos, a lisina é o aminoácido mais limitante para peixes na fase inicial de crescimento (SMALL; SOARES JÚNIOR, 2000; ALAM et al., 2002a; ESPE et al., 2007). Exerce importante papel na formação do colágeno, já que a hidroxilisina e hidroxiprolina – produtos da hidroxilação da lisina e prolina, respectivamente – são os principais constituintes do colágeno (NELSON; COX, 2005). Junto com a metionina, a lisina serve como

precursor para a carnitina, que está envolvida com o transporte de ácidos graxos para oxidação na mitocôndria (WALTON; COWEY; ADRON, 1984). Deficiências em lisina resultam em prejuízos ao crescimento, erosão nas nadadeiras e alta mortalidade em truta arco-íris (KETOLA, 1983).

Devido a sua importância, a exigência em lisina já está determinada para diversas espécies produzidas em confinamento (NRC, 1993; WILSON, 2002). Por outro lado, as exigências em lisina, assim como para os outros aminoácidos, permanecem obscuras para a maioria das espécies autóctones, exceção feita ao jundiá, que teve a sua exigência em aminoácido determinada entre 4,5-5,1% da proteína da dieta (MONTES-GIRAO; FRACALOSSO, 2006).

A suplementação de aminoácidos cristalinos em dietas visando à determinação das exigências em aminoácidos é prática corriqueira na maioria dos estudos. Entretanto, estudos têm demonstrado que estes aminoácidos podem não ser absorvidos pelo intestino na mesma taxa da sua efetiva utilização. Schumacher, Muench e Gropp (1995) demonstraram que a concentração de aminoácidos plasmáticos aumentou e atingiu pico mais rapidamente em peixes alimentados com aminoácidos cristalinos em relação aos alimentados com proteína intacta. Cowey e Walton (1988) fizeram observações semelhantes quando avaliaram o aumento na radioatividade sanguínea de trutas arco-íris alimentadas com dietas contendo aminoácidos cristalinos ou proteína intacta marcados com C^{14} . Menor crescimento e conversão alimentar foram observados nas trutas alimentadas com aminoácidos cristalinos, devido à rápida absorção intestinal e passagem para a corrente sanguínea, proporcionado deaminação dos aminoácidos em excesso e aumento na excreção de nitrogênio.

Ambardekar e Reigh (2007) consideraram que a melhor forma de prover aminoácidos é fornecer uma mistura de fontes protéicas complementares de modo a fornecer os aminoácidos nas exigências necessárias. Esses mesmos autores, entretanto, não descartam a utilização de aminoácidos cristalinos em quantidades mínimas necessárias para suprir os valores desejados. Portanto, quando são utilizados aminoácidos sintéticos, existe a necessidade do arraçamento dos peixes em um número maior de vezes. Este manejo é essencial, uma vez que, por estarem prontamente disponíveis, os aminoácidos sintéticos são rapidamente absorvidos, elevando os níveis plasmáticos e atingindo o pico antes dos aminoácidos ligados à proteína do alimento, aumentando assim a excreção de nitrogênio. Com o parcelamento da alimentação, a concentração plasmática se mantém mais estável, melhorando assim a sua utilização e reduzindo a perda por

lixiviação destes aminoácidos sintéticos (TIBALDI; TULLI; LANARI, 1994; SCHUMACHER; WAX; GROPP, 1997; RODEHUTSCORD et al., 2000).

Certos aminoácidos, quando oferecidos em excesso, podem produzir de reações adversas moderadas, como redução no crescimento e eficiência alimentar, até mais graves, como a ocorrência de lesões e morte dos animais. Um dos mais clássicos imbalanços nutricionais ocorre entre a lisina e arginina. É conhecido que níveis elevados de lisina aumentam a exigência de arginina em aves (D'MELLO, 2003). Deficiências em arginina resultam em diminuição no crescimento e baixa retenção de nitrogênio (TIBALDI; TULLI; LANARI, 1994; RUCHIMAT et al., 1998). De modo geral, arginina em excesso diminui o crescimento e eficiência alimentar em peixes (SANTIAGO; LOVELL, 1988; BORLONGAN, 1991). Entretanto, a adição de arginina em níveis acima da exigência recomendada, não produziu efeitos negativos no pompano de rabo-amarelo *Seriola quinqueradiata* (RUCHIMAT et al., 1998). Os efeitos antagônicos entre lisina e arginina foram avaliados em poucas espécies de peixes, sem que se conseguisse, por exemplo, demonstrar que a existência de efeitos antagônicos entre lisina e arginina para o bagre do canal (ROBINSON; WILSON; POE, 1981), a truta arco-íris (KIM; KAYES; AMUNDSON, 1992), o híbrido “sunshine bass” (GRIFFIN; WILSON; BROWN, 1994), a pescada (TIBALDI; TULLI; LANARI, 1994), a perca amarela (TWIBELL; BROWN, 1997) e o linguado japonês (ALAM et al., 2002a), embora algumas evidências bioquímicas deste antagonismo tenham sido observadas (KAUSHIK; FAUCONNEAU, 1984; BERGER; LIED; SVEIER, 1997; BERGER; SVEIER; LIED, 1998).

1.1.4 A nutrição do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

O pacu é uma espécie tropical, oriunda das bacias dos Rios Paraná, Paraguai e Uruguai (SAINT-PAUL, 1986). Possui hábito alimentar onívoro, explorando uma gama bastante diversificada de alimentos, em função da sazonalidade de ocorrência dos mesmos. Além disso, a espécie apresenta carne saborosa, rápido crescimento, boa aceitação de alimentos industrializados e aceitabilidade para a pesca esportiva. Esses fatores fizeram com que a espécie representasse 5,06% de toda a produção nacional de peixes de água doce em 2005, ficando em 2º lugar entre as espécies nativas. A sua importância fica ainda maior se somada com a produção do híbrido tambacu (*Colossoma macropomum* ♀ x ♂ *Piaractus mesopotamicus*), passando para 11,14% de todo o peixe de água doce produzido no país (SEAP, 2007b). Entretanto, esta participação pode

ter sido subestimada, uma vez que neste estudo não foram computadas estatísticas de produção para os estados da região Nordeste, cinco estados da região Norte e dois da região Sul.

Pela sua importância na aquicultura nacional, o pacu tem se destacado como a mais estudada entre todas as espécies nativas de peixes de águas interiores. Trabalhos relacionados com a nutrição (FERNANDES; LOCHMANN; BOCANEIRA, 2004; BECHARA et al., 2005; TESSER et al., 2005; TESSER; PORTELLA, 2006; TESSER et al., 2006; ABIMORAD; CARNEIRO, 2007; ABIMORAD; CARNEIRO; URBINATI, 2007), sanidade (MARTINS, 1998; MARTINS et al., 1999; BELÉM-COSTA; CYRINO, 2006), fisiologia (GAZOLA; BORELLA, 1997; KALININ et al., 2000; PANEPUCCI et al., 2001), reprodução (MARQUES; GODINHO, 2004; CRUZ-LANDIM; ABDALLA; CRUZ-HÖFLING, 2005) e processamento (SZENTTAMASY et al., 1993) da espécie têm sido publicados na literatura científica nacional e internacional nos últimos anos.

Os primeiros estudos nutricionais com a espécie visaram determinar a exigência e a digestibilidade da proteína, utilizando dietas práticas isoenergéticas ($3000 \text{ kg EM kg}^{-1}$) com 14, 18, 22 e 26% de PB (CARNEIRO; CASTAGNOLLI, 1984; CARNEIRO et al., 1984a). Nestes estudos, a dieta com 26% de PB promoveu maior aproveitamento da proteína e maior ganho de peso dos peixes. Em outro experimento, Carneiro et al. (1984b) utilizaram quatro dietas isoprotéicas (23% PB) e diferentes níveis de EM (2200, 2600, 3000 e $3400 \text{ kcal kg}^{-1}$), e concluíram que $3200 \text{ kcal EM kg}^{-1}$ na dieta proporcionou o melhor desempenho de alevinos de pacu ($\cong 200 \text{ g}$ de peso inicial). Brenner (1988) determinou a exigência protéica de alevinos de pacu, usando seis dietas semipurificadas, isocalóricas ($3300 \text{ kcal EM kg}^{-1}$), contendo nove níveis de PB (12, 20, 28, 36, 44 e 52%) e a caseína como única fonte protéica. Pelo método da regressão segmentada, este autor determinou a exigência em PB em 35,9% para peixes com peso inicial de 22,2 g.

Além do nível de proteína dietética, a qualidade das fontes protéicas também é essencial na nutrição de peixes. O pacu, por ser uma espécie onívora, permite a utilização de grande variedade de fontes protéicas na sua alimentação, sejam elas de origem vegetal ou animal. Fernandes, Carneiro e Sakomura (2000, 2001) não encontraram efeito da substituição (0, 50 e 100%) da farinha de peixe pelo farelo de soja, em dietas isocalóricas com diferentes níveis de proteína, no desempenho de alevinos (peso inicial $4,62 \sim 11,31 \text{ g}$) e juvenis (peso inicial $79,99 \sim 144,31 \text{ g}$) de pacu. Estes mesmos autores relataram que o melhor desempenho ocorreu nas dietas

com 26% e 22% de PB, para alevinos e juvenis da espécie, respectivamente. Vidotti, Carneiro e Viegas (2002) encontraram coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de 72,5 e 80% da proteína oriunda da silagem de peixe ácida e fermentada, respectivamente, para juvenis (146 g) de pacu. Pires (1998) ² *apud* Abimorad e Carneiro (2004) encontrou, também para o pacu, CDA da proteína acima de 80% para a soja crua e tostada, o farelo de algodão, o milho e o farelo de arroz, respectivamente. Abimorad e Carneiro (2004) avaliaram a digestibilidade da proteína de 13 ingredientes: farinha de penas, farinha de peixe, farinha de vísceras, farinha de sangue, farelo de soja, farinha de carne e ossos, soja tostada, farelo de algodão, soja crua, levedura, farelo de trigo, sorgo, farelo de arroz e milho para o pacu. Apenas a farinha de penas ($75,73 \pm 11,33\%$), farinha de sangue ($57,72 \pm 7,14\%$) e a levedura ($68,86 \pm 14,68\%$) apresentaram CDA's inferiores a 80% para a PB.

Isso demonstra que a espécie consegue ter bom aproveitamento até mesmo da proteína oriunda de alimentos energéticos. Entretanto, a qualidade da proteína é determinada pela sua composição e disponibilidade em aminoácidos. Neste sentido, ainda são escassas as informações sobre a digestibilidade de aminoácidos pelo pacu, destacando-se o estudo realizado por Abimorad, Squassoni e Carneiro (2008) que avaliaram a digestibilidade dos aminoácidos de seis ingredientes pela espécie. Neste trabalho, todos os ingredientes apresentaram CDA elevados (>86%) para os aminoácidos, sendo os maiores valores observados no farelo de glúten de milho (91,7%), farelo de soja (91,5%) e farinha de peixe (90,8%).

Uma dieta deficiente em energia em relação à proteína promoverá o uso da proteína como energia para manutenção e não para crescimento. Ao contrário, uma dieta contendo excesso de energia pode reduzir o consumo de alimento e, deste modo, diminuir a ingestão de proteína e outros nutrientes essenciais necessários para máximo crescimento. Portanto, na ausência de fontes de energia não-protéicas na dieta, parte da proteína consumida será degradada pra suprir a demanda de energia para a síntese de tecidos e metabolismo. Carneiro (1990) avaliou dietas com 20 ou 30% de PB e níveis de energia bruta (EB) de 3600 ou 4000 kcal kg⁻¹ para alevinos de pacu mantidos em três diferentes temperaturas – 24, 28 e 32°C – e registrou melhor desempenho dos animais no maior nível de proteína e menor nível de energia (relação PB:ED de 83 mg PB/kcal EB), sob 28 e 32°C. Cantelmo (1993) avaliou a relação entre níveis de energia (2600, 3000 e

² Pires, C.T. **Determinação da digestibilidade aparente da proteína e da matéria seca dos principais alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887).** Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1998. 44 p. Monografia (Trabalho de graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 1998.

3400 kcal ED kg⁻¹) e proteína (26, 30 e 34% PB) para alevinos de pacu com peso inicial médio de 27 g, e concluiu que a espécie pode ser alimentada com 26 ou 30% de PB, independentemente do nível energético da dieta (relação PB:ED variou de 76-115 mg PB kcal⁻¹ ED). Em ambos os estudos (CARNEIRO, 1990; CANTELMO, 1993) não foi possível observar efeito economizador da energia sobre a exigência de proteína dietética. Considerando os trabalhos disponíveis na literatura, Fracalossi (2002) sugeriu que a relação proteína:energia entre 72-109 mg kcal⁻¹ é a ideal para promover o melhor desempenho para a espécie.

Estudos têm demonstrado que o pacu possui relativa eficiência na utilização de gordura como fonte de energia em dietas práticas para o crescimento. Abimorad e Carneiro (2007) estudaram o efeito de níveis de lipídeo (4% e 8%) e carboidratos (41, 46 e 50%) em dietas com dois níveis de proteína (22% e 25% PB) em alevinos de pacu (11,5 g). Os autores não encontraram melhora no desempenho com o incremento de lipídios e carboidratos na dieta com 22% PB, embora na dieta com 25% PB tenha existido melhora na conversão alimentar. No mesmo trabalho, também foi registrada diminuição da digestibilidade da proteína com o aumento do teor de lipídios na dieta, embora não tenha sido observado efeito dos carboidratos dietéticos ou da interação entre esses dois nutrientes.

Os peixes, assim como os outros animais, não apresentam exigência em proteína *per se*, e sim exigências em aminoácidos, sendo sua quantificação pré-requisito para a formulação de dietas que maximizem a utilização da proteína (SHIPTON; BRITZ; WALKER, 2002). Deste modo, a suplementação de aminoácidos pode ser alternativa para maximizar a utilização da proteína, promovendo melhora no crescimento, além de benefícios econômicos e ambientais. Neste sentido, Muñoz-Ramírez e Carneiro (2002) compararam o desempenho de pacus alimentados com dietas contendo 22% de PB, suplementada com níveis de lisina e metionina, com uma dieta controle de 26% de PB sem suplementação. Os autores concluíram que a suplementação não foi suficiente para maximizar o desempenho dos animais, sendo que a dieta controle (26% PB) determinou os melhores resultados. A forma do aminoácido cristalino parece não influenciar no aproveitamento pelo pacu. Tesser et al. (2005) não obtiveram diferença sobre o desempenho de alevinos de pacu alimentados com dietas semipurificadas suplementadas com arginina na sua forma livre ou dipeptídica. Em recente trabalho, Abimorad (2008) determinou a exigência em lisina para alevinos de pacu (8,6 g de peso inicial) em 1,64% de lisina digestível (5,57% da proteína da dieta) usando dietas práticas balanceadas de modo a simular o perfil de

aminoácios muscular da espécie, utilizando os valores de aminoácidos digestíveis dos ingredientes.

Os resultados obtidos nos trabalhos com objetivo de determinar a exigência protéica ou a melhor relação proteína:energia para o pacu têm se mostrado bastante díspares (FRACALOSS, 2002). Possivelmente, estas divergências se devem a diferença no tamanho dos peixes, na composição das rações, nas condições ambientais durante os estudos, na frequência e taxa de alimentação empregada, na possível presença de alimentos naturais, entre outras particularidades de cada experimento. Essa discrepância nos resultados demonstra a necessidade de estudos para melhor compreensão das necessidades nutricionais da espécie.

Referências

- ABIMORAD, E.G. **Digestibilidade e exigência de aminoácidos para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus***. 2008. 83 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal, 2008.
- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de coletas de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1101-1109, 2004.
- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles – fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 36-44, 2007.
- ABIMORAD, E.G.; SQUASSONI, G.H.; CARNEIRO, D.J. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 374-380, 2008.
- AI, O.; MAI, K.; LI, H. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 230, n. 1/4, p. 507-516, 2004.
- AKIYAMA, T.; OOHARA, I.; YAMAMOTO, T. Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species (review paper). **Fisheries Science**, Tokyo, v. 63, n. 6, p. 963-970, 1997.

- ALAM, Md.S.; TESHIMA, S.-I.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance and biochemical parameters of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 68, p. 509-516, 2002a.
- ALAM, Md.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, n. 1/4, p. 359-369, 2002b.
- ALI, A.; AL-ASGAH, N.A. Effect of feeding different carbohydrate to lipid ratios on the growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Animal Research**, Les Ulis, v. 50, p. 91-100, 2001.
- ALMEIDA, L.C.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 6, p. 443-450, 2006.
- AMBARDEKAR, A.A.; REIGHI, R.C. Sources and utilization of amino acids in channel catfish diets: a review. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 69, p. 174-179, 2007.
- ARZEL, J.; METAILLER, R.; LE GALL, P.; GUILLAUME, J. Relationship between ration size and dietary protein level varying at the expense of carbohydrate and lipid in triploid brown trout fry, *Salmo trutta*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 162, n. 3/4, p. 259-268, Mar. 1998.
- AZEVEDO, P.A.; BUREAU, D.P.; LEESON, S.; CHO, C.Y. Growth and efficiency of feed usage by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with different dietary protein: energy ratios at two feeding levels. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 68, p. 878-888, 2002.
- BECHARA, J.A.; ROUX, J.P.; DÍAZ, J.R.; FLORES QUINTANA, C.I.; MEABE, C.A.L. The effect of dietary protein level on pond water quality and feed utilization efficiency of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 546-553, 2005.
- BELÉM-COSTA, A.; CYRINO, J. E. P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p. 281-284, 2006.
- BERGE, G.E.; LIED, E.; SVEIER, H. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolism of arginine. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, 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 Part A**, New York, v. 120, p. 447-485, 1998.
- BICUDO, A.J.A.; CYRINO, J.E.P. Estimating amino acid requirement of brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, 2008. In press.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; SERAFINI, M.A.; RIBEIRO, F.B.; PENA, K.S. Proteína bruta e energia digestível em dietas para alevinos de curimatá (*Prochilodus affinis*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n.6, p. 1795-1806, 2005.

BORBA, M.R.; FRACALOSSO, D.M.; PEZZATO, L.E. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbignyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 183-191, June 2006.

BORBA, M.R.; FRACALOSSO, D.M.; PEZZATO, L.E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J.M. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, Nantes, v. 16, p. 362-369, 2003.

BORLONGAN, I.G. Arginine and threonine requirements of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 93, n. 4, p. 313-322, Apr. 1991.

BOUJARD, T.; MÉDALE, F. Regulation of voluntary intake in juvenile rainbow trout fed by hand or by self-feeders with diets containing two different protein/energy ratios. **Aquatic Living Resources**, Nantes, v. 7, p. 211-215, 1994.

BRENNER, M. **Determinação da exigência de proteína do pacu (*Colossoma mitrei* Berg, 1895)**. 1988. 87 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.

BUREAU, D.P.; KAUSHIK, S.J.; CHO, C.Y. Bioenergetics. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Ed.) **Fish nutrition**. 3rd ed. . San Diego: Elsevier Science, 2002. chap. 1, p.2-54.

CANTELMO, O.A. **Níveis de proteína e energia em dietas para o crescimento do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) em sistema de criação super intensiva**. 1993. 55 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1993.

CARNEIRO, D.J. **Efeito da temperatura na exigência de proteína e energia em dietas para alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. 1990. 59 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1990.

CARNEIRO, D.J.; CASTAGNOLLI, N. Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895), Pisces, Characidae. II Digestibilidade aparente da proteína em dietas isocalóricas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3., 1983, São Carlos. **Anais...**São Carlos:ABRAQ, 1984. p. 125-131.

CARNEIRO, D.J.; CASTAGNOLLI, N.; MACHADO, C.R.; VERARDINO, M. Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895), Pisces, Characidae. I Níveis de proteína dietária. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3., 1983. São Carlos. **Anais...**São Carlos:ABRAQ, 1984a. p. 105-119.

CARNEIRO, D.J.; CASTAGNOLLI, N.; MACHADO, C.R.; VERARDINO, M. Nutrição do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895), Pisces, Characidae. III Níveis de energia metabolizável

em dietas isoprotéicas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3., 1983. São Carlos. **Anais...**São Carlos:ABRAQ, 1984b. p. 133-145.

CARNEIRO, D.J.; RANTIN, F.T.; DIAS, T.C.R.; MALHEIROS, E.B. Interactions between temperature and dietary levels of protein and energy in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). I. The effects on growth and body composition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1/4, p. 130, 1994. Abstract.

CATACUTAN, M.R.; COLOSO, R.M. Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival and body composition of juvenile Asian sea bass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 131, n. 1/2, p. 125-133, 1995.

CHO, C.Y.; SLINGER, S.J.; BAYLEY, H.S. Bioenergetics of salmonids fishes: energy intake, expenditure and productivity. **Comparative Biochemistry Physiology, Part B**, Oxford, v. 73, n. 1, p. 25-41, 1982.

CHO, S.H.; JO, J.-Y.; KIM, D.S. Effects of variable feed allowance with constant energy and ratio of energy and ratio of energy to protein in a diet for constant protein input on the growth of common carp *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 349-356, 2001.

CHO, S.H.; LEE, S.M.; LEE, S.M.; LEE, J.H. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L) reared under optimum salinity and temperature conditions. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 4, p. 235-240, 2005.

CHONG, A.S.C.; HASHIM, R.; ALI, A.B. Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) using *in vivo* and *in vitro* methods. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, n. 3, p.229-238, 2002.

CHOU, R.-L.; SU, M.-S.; CHEN, H.-Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 193,n. 1/2, p. 81-89, 2001.

COTAN, J.L.V.; LANNA, E.A.T.; DELMONDES, M.A.; DONZELE, J.L.; RIBEIRO, F.B.; SERAFINI, M.A. Níveis de energia digestível e proteína bruta para alevinos de lambari também. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 634-640, 2006.

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

COWEY, C.B.; WALTON, M.J. Studies on uptake of ¹⁴C-amino acids derived from both dietary ¹⁴C-protein and dietary ¹⁴C-amino acids by rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, London, v. 33, p. 293-305, 1988.

CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F. C.; CRUZ-HÖFLING, M. A. Morphological changes of Sertoli cells during the male reproductive cycle of the teleost *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 65, n. 2, p. 241-249, 2005.

CUI, Y.; LIU, J. Comparison of energy budge among six teleosts – I. Food consumption, faecal production and nitrogenous excretion. **Comparative Biochemical and Physiology**, Oxford, v. 96A, n. 1, p. 163-171, 1990.

CZUKOR, B.; BOGRACHEVA, T.; CSERHALMI, Z.; FORNAL, J.; SCHUSTER-GAJZÁGÓ, I.; KOVÁCS, E.; LEWANDOWICZ, G.; SORAL-SMIETANA, M. Processing. In: HEDLEY, C.L. Carbohydrates in Grain and Legume Seeds. CAB International: Oxford. Chap 4. p. 89-116.

DE SILVA, S.S.; GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 95, n. 3/4, p. 305-318, 1991.

D'MELLO, J.P.F. Adverse Effects of Amino Acids. In: _____ (Ed.). **Amino acids in animal nutrition**. 2nd ed. Cambridge: CAB International, 2002. p. 125-142.

EINEN, O.; ROEM, A.J. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 3, n. 2, p. 115-126, 1997.

ERFANULLAH; JAFRI, A.K. Evaluation of digestibility coefficients of some carbohydrate-rich feedstuffs for Indian major carp fingerlings. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 29, n. 7, p. 511-519, 1998.

ESPE, M.; LEMME, A.; PETRI, A.; EL-MOWAFI, A. Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 263, n. 1/4, p. 168-178, 2007.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture 2004**. Rome, 2005. 168 p.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2006**. Rome, 2007. 162p.

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

FERNANDES, J.B.K.; CARNEIRO, D.J.; SAKOMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 617-626, 2001.

FERNANDES, J.B.K.; LOCHMANN, R.; BOCANEGRA, F.A. Apparent digestible energy and nutrient digestibility coefficients of diet ingredients for pacu *Piaractus brachypomus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 35, n. 2, p. 237-244, 2004.

FRACALOSS, D.M. Brazilian Species. In: WEBSTER, C.D.; LIM, C. (Ed.). **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. New York: CABI Publishing, 2002. chap. 28, p. 388-395.

- FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 199, n. 3/4, p. 197-227, 2001.
- FU, C.; CUI, Y.; HUNG, S.S.O.; ZHU, Z. Whole-body amino acid pattern of F₄ human growth hormone gene-transgenic red common carp (*Cyprinus carpio*) fed diets with different protein levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 189, n. 3/4, p. 287-292, 2000.
- FURUYA, W.M., FURUYA, V.R.B. Composição de aminoácidos da carcaça do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) baseada no conceito de proteína ideal. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 21, p. 109-117, 2003.
- 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.
- GAZOLA, R.; BORELLA, M.I. Plasma testosterone and 11-ketotestosterone levels of male pacu *Piaractus mesopotamicus* (Cypriniformes, Characidae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 12, p. 1485-1487, 1997.
- GRIFFIN, M.E.; WILSON, K.A.; BROWN, P.B. Dietary arginine requirement of juvenile hybrid striped bass. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, p. 888-893, 1994.
- HAARD, N.F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. **Food Research International**, Barking, v. 5, p. 345-356, 1992.
- HAMRE, K.; BAEVERFJORD, G.; HARBOE, T. Macronutrient composition of formulated diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.) juveniles, II: protein/lipid levels at low carbohydrate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 244, n. 1/4, p. 283-291, 2005.
- HAULER, R.C.; CARTER, C.G. Lysine deposition responds linearly to marginal lysine intake in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2001.
- HEMRE, G.-I.; HANSEN, T. Utilization of different dietary starch sources and tolerance to glucose loading in Atlantic salmon during parr – smolt transformation. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1/4, p. 145-157, 1998.
- HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T.P.; KROGDAHL, Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 175-194, 2002.
- HEMRE, G.I.; SANDNES, K.; LIE, Ø.; WAAGBØ, R. Blood chemistry and organ nutrient composition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed graded amounts of wheat starch. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 37-42, 1995.

HILLESTAD, M.; JOHNSEN, F. High-energy/low protein diets for Atlantic salmon: effects on growth, nutrient retention and slaughter quality. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1/4, p. 109-116, 1994.

HILLESTAD, M.; JOHNSEN, F.; ÅSGÅRD, T. Protein to carbohydrate ratio in high-energy diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 7, p. 517-529, 2001.

HOSSAIN, M.A.; JAUNCEY, K. Studies on the protein, energy and amino acids digestibility of fish meal, mustard oilcake, linseed and sesame meal for common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 83, n. 1/2, p. 59-72, 1989.

HOUSTON, A.H. Review: are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 126, p. 879-894, 1997.

HUNG, S.S.O.; STOREBAKKEN, T. Carbohydrate utilization by rainbow trout is affected by feeding strategy. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, p. 223-230, 1994.

JOBLING, M. Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (Ed.). **Food Intake in Fish**. Oxford: Blackwell Publishing, 2001. Chap. 15, p. 354-375.

JOHNSON, E.G.; WATANABE, W.O.; ELLIS, S.C. Effects of dietary lipid levels and energy: protein ratios on growth and feed utilization of juvenile Nassau grouper fed isonitrogenous diets at two temperatures. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 64, p. 47-54, 2002.

JOVER, M.; GARCÍA-GÓMEZ, A.; TOMÁS, A.; DE LA GÁNDARA, F.; PÉREZ, L. Growth of mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1/4, p. 25-33, 1999.

KALININ A. L., SEVERI W., GUERRA C. D. R., COSTA M. J., RANTIN F. T. Ventilatory flow relative to intrabuccal and intraopercular volumes in the serrasalmid fish *Piaractus mesopotamicus* during normoxia and exposed to graded hypoxia. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 60, n. 2, p. 249-254, 2000.

KAUSHIK, S.J.; FAUCONNEAU, B. Effects of lysine administration on plasma arginine and on some nitrogenous catabolites in rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 79, p. 459-462, 1984.

KAUSHIK, S.J.; MÉDALE, F. Energy requirements, utilization and supply to salmonids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1/4, p. 81-97, 1994.

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

KIM, J-D.; TIBBETTS, S.M.; MILLEY, J.E.; LALL, S.P. Effect of the incorporation level of herring meal into test diet on apparent digestibility coefficients for protein and energy by juvenile

haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, n. 1/4, p.479-486, 2006.

KIM, K.I.; KAYES, T.B.; AMUNDSON, C.H. Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 106, n. 3/4, p. 333-344, 1992.

KIM, L.O.; LEE, S.M. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 243, n. 1/4, p. 323-329, 2005.

KOCH, F.; WIESER, W. Partitioning of energy in fish: can reduction of swimming activity compensate for the cost of production? **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 197, p. 141-146, 1983.

LANNA, E.A.T.; PEZZATO, L.E.; FURUYA, W.M.; VICENTINI, C.A.; CECON, P.R.; BARROS, M.M. Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 2177-2185, 2004.

LEE, D.J.; PUTNAM, G.B. The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 103, p. 916-922, 1973.

LEE, S.-M.; KIM, K.-D. Effects of dietary protein and energy levels on the growth, protein utilization and body composition of juvenile masu salmon (*Oncorhynchus masou* Brevoort). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 39-45, 2001.

LEE, S.-M.; JEON, I.G.; LEE, J.Y. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 211, n. 1/4, p. 227-239, 2002.

LEE, S.-M.; KIM, K.-D.; LALL, S.P. Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 221, n. 1/4, p. 427-438, 2003.

Le GROW, S.M.; BEAMISH, F.W.H. Influence of dietary protein and lipid on apparent heat increment of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science**, Ottawa, v. 43, p. 19-25, 1986.

LIE, Ø. Flesh quality – the role of nutrition. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32 n. 5, p. 341-348, 2001.

LOVELL, R.T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. 260 p.

LUNDSTEDT, L.M.; MELO, J.F.B.; MORAES, E.G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 137, p. 331–339, 2004.

- MACHIELS, M.A.M.; HENKEN, A.M. Growth rate, feed utilization and energy metabolism for the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) as affected by dietary protein and energy content. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 44, n. 4, p. 271-284, 1985.
- MAI, K.; ZHANG, L.; AI, Q.; DUAN, Q.; ZHANG, C.; LI, H.; WAN, J.; LIUFU, Z. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 258, n. 1/4, p. 535-542, 2006.
- MARCOULI, P.A.; ALEXIS, M.N.; ANDRIOPOULOU, A.; ILIOPOULOU-GEORGUDAKI, J. Dietary lysine requirement of juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 25-33, 2006.
- MARQUES, S.; GODINHO, H.P. Short-term cold storage of sperm from six neotropical characiformes fishes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 5, p. 799-804, 2004.
- MARTINO, R.C., J.E.P. CYRINO, L. PORTZ E L.C. TRUGO. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim *Pseudoplatystoma corruscans*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 209, n. 1/4, p. 211-220, 2002a.
- MARTINO, R.C., J.E.P. CYRINO, L. PORTZ E L.C. TRUGO. Performance and fatty acid composition of surubim *Pseudoplatystoma corruscans* fed animal and plant lipids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 209, p. 235-248, 2002b.
- MARTINS, M. L. Evaluation of the addition of ascorbic acid to the ration of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infestation of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 5, p. 655-658, 1998.
- MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R.; COSTA, A. J. Comparative evaluation of the susceptibility of cultivated fishes to the natural infection with myxosporean parasites and tissue changes in the host. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p. 263-269, 1999.
- MELO, J.F.B.; RADÜNZ NETO, J.; SILVA, J.H.S.; TROMBETTA, C.G. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 323-327, 2002.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. Lipídios na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 566-573, 2002.
- MEYER-BURGDORFF, K.H.; OSMAN, M.F.; GÜNTHER, K.D. Energy metabolism in *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, n. 1/4, p. 283-291, 1989.
- MEYER, G.; FRACALLOSSI, D.M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 240, n. 1/4, p. 331-343, 2004.

- MEYER, G.; FRACALOSS, D.M. Estimation of jundia (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirement based on muscle amino acid composition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 4, p. 401-405, 2005.
- MOHANTA, K.N.; MOHANTY, S.N.; JENA, J.K. Protein-sparing effect of carbohydrate in silver barb, *Puntius gonionotus* fry. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 311-317, 2007.
- MOHAPATRA, M.; SAHU, N.P.; CHAUDHARI, A. Utilization of gelatinized carbohydrate in diets of *Labeo rohita* fry. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 189-196, 2003.
- MONTES-GIRAO, P.J.; FRACALOSS, D.M. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundia, *Rhamdia quelen*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 37, n. 4, p. 388-396, 2006.
- MORAIS, S.; KOVEN, W.; RØNNESTAD, I.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. Dietary protein: lipid ratio and lipid nature affects fatty acid absorption and metabolism in a teleost larva. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 93, p. 813-820, 2005.
- MORALES, A.E.; CARDENETE, G.; SANZ, A.; de la HIGUERA, M. Re-evaluation of crude fiber and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1/4, p. 71-79, 1999.
- MORRIS, P.C.; BEATTIE, C.; ELDER, B.; FINLAY, J.; GALLIMORE, P.; JEWISON, W.; LEE, D.; MACKENZIE, K.; MCKINNEY, R.; SINNOTT, R.; SMART, A.; WEIR, M. Effects of the timing of the introduction of feeds containing different protein and lipid levels on the performance and quality of Atlantic salmon, *Salmo salar*, over the entire seawater phase of growth. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 225, n. 1/4, p. 41-65, 2003.
- MUÑOZ-RAMÍREZ, A.P.; CARNEIRO, D.J. Suplementação de lisina e metionina em dietas com baixo nível protéico para o crescimento inicial do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 909-916, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 115p.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. Lipids. In: Lehninger. **Principles of biochemistry**. New York: W.H. Freeman, 2005. chap. 10, p. 343-368.
- NORTVEDT, R.; TUENE, S. Body composition and sensory assessment of three weight groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed three pellet size and three dietary fat levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1/4, p. 295-313, 1998.
- NYINA-WAMWIZA, L.; XU, X.L.; BLANCHARD, G.; KESTEMONT, P. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 5, p. 486-492, 2005.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; PEDINI, M. Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. (Ed.). **Aquicultura no Brasil – bases para um desenvolvimento sustentável**. CNPq: Brasília. Cap. 12. p. 353-382, 2000.

OZÓRIO, R.O.A.; VALENTE, L.M.P.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Growth performance and body composition of white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles fed diets with different protein and lipid levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 255-263, 2006.

PANEPUCCI, R.A.; PANEPUCCI, L.; FERNANDES, M.N.; SANCHES, J.R.; RANTIN, F.T. The effect of hypoxia and recuperation on carbohydrate metabolism in pacu (*Piaractus mesotamicus*). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 61, n. 4, p. 547-554, 2001.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PEZZATO, A.C.; MIRANDA, E.C.; QUINTERO, P.L.G.; FURUYA, W.M. Relación energia:proteína em la nutrición de alevinos de piaucu. **Revista de Medicina Veterinária y Zootecnia**, Bogotá, v. 47, n. 2, p. 2-7, 2000.

PIEDRAS, S.R.N.; POUEY, J.L.O.F.; RUTZ, F. Efeitos de diferentes níveis de proteína bruta e de energia digestível na dieta sobre o desempenho de alevinos de peixe-rei. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 97-101, 2004.

PIEDRAS, S.R.N.; POUEY, J.L.O.F.; MORAES, P.R.R.; RODRIGUES, F.V. Resposta de alevinos de jundiá (*Rhamdia* sp.) alimentados com diferentes níveis de proteína bruta e energia digestível. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 217-220, 2006.

PORTZ, L.; CYRINO, J.E.P.; MARTINO, R.C. Growth and body composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 247-254, 2001.

ROBINSON, E.H.; WILSON, R.P.; POE, W.E. Arginine requirement and apparent absence of a lysine-arginine antagonist in fingerling channel catfish. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 111, p. 46-52, 1981.

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, n. 1/2, p. 163-176, 2000.

RUCHIMAT, T.; MASUMOTO, T.; YOSHIKI, I.; SHIMENO, S. Quantitative arginine requirement of juvenile yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). **Fisheries Science**, Tokyo, v. 64, p. 348-349, 1998.

SÁ, M.V.C.; FRACALLOSSI, D.M. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 1-10, 2002.

SÁ, R.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 310-321, 2006.

SÁ, R.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Growth performance and metabolic utilization of diets with different protein: carbohydrate ratios by white seabream (*Diplodus sargus*, L.) juveniles. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 38, p. 100-105, 2007.

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of south American freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 54, n. 3, p. 205-240, 1986.

SALES, J., BRITZ, P.J. Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for South African abalone (*Haliotis midae* L.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n.1, p. 55-64, 2003.

SALHI, M.; BESSONART, M.; CHEDIAK, G.; BELLAGAMBA, M.; CARNEVIA, D. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, n. 1/4, p. 435-444, 2004.

SAMANTARAY, K.; MOHANTY, S.S. Interactions of dietary levels of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striata*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 156, n. 3/4, p. 241-249, 1997.

SAMPAIO, A.M.B.M.; KUBITZA, F.; CYRINO, J.E.P. Relação energia: proteína na nutrição do tucunaré. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 213-219, 2000.

SANTIAGO, C.B.; LOVELL, R.T. Amino acids requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, p. 1540-1546, 1988.

SANTINHA, P.J.M.; MEDALE, F.; CORRAZE, G.; GOMES, E.F.S. Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 147-156, 1999.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The lipids. In: HALVER, R.W.; HARDY, J.E. (Ed.). **Fish Nutrition**. California:Academic Press, 2002. chap. 4, p. 181-256.

SATPATHY, B.B.; MUKHERJEE, D.; RAY, A.K. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed conversion and body composition in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 17-24, 2003.

SCHUHMACHER, A.; MUENCH, M.; GROPP, J.M. Nonessential amino acid sources in crystalline amino acid diets for trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 11, p. 317-321, 1995.

SCHUMACHER, 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, n. 1/4, p. 15-28, 1997.

SEAP. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. Análise da Balança Comercial Brasileira - Ano 2006. Disponível em:
<http://200.198.202.145/seap/Dados_estatisticos/BALAN%C3%87A%20COMERCIAL%20BRASILEIRA%20DE%20PESCADOS_2006.pdf>. Acesso em: 23 jul.2007a.

SEAP. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. Estatística da Aquicultura e Pesca no Brasil - Ano 2005. Disponível em: <[http://200.198.202.145/seap/Dados_estatisticos/boletim2005a\(tabela\).pdf](http://200.198.202.145/seap/Dados_estatisticos/boletim2005a(tabela).pdf)>. Acesso em: 23 jul 2007b.

SEENAPPA, D.; DEVARAJ, K.V. Effect of different levels of protein, fat and carbohydrate on growth, feed utilization and body carcass composition of fingerlings of *Catla catla* (Ham.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 129, p. 243-249, 1995.

SHIAU, S.Y. Utilization of carbohydrates in warmwater fish – with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, n. 1/4, p. 79-96, 1997.

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, n. 3, p. 221-227, 2002.

SINDIRAÇÕES. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Disponível em <www.sindiracoes.com.br>. Acesso em: 25 jul 2007.

SKALLI, A.; HIDALGO, M. C. ; ABELLÁN, E. ; ARIZCUN, M. ; CARDENETE, G. Effects of the dietary protein/lipid ratio on growth and nutrient utilization in common dentex (*Dentex dentex* L.) at different growth stages. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 235, n. 1/4, p. 1-11, 2004.

SMALL, B.C.; SOARES JÚNIOR, J.H. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, n. 4, p. 207-212, 2000.

SMITH, R.R.; RUMSEY, G.L.; SCOTT, M.L. Net energy maintenance requirements of salmonids as measured by direct calorimetry: effects of body size and environmental temperature. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 108, p. 1017-1024, 1978.

STEFFENS, W. **Principles of fish nutrition**. Chichester: Ellis Horwood , 1989. 384 p.

STEFFENS, W. Protein sparing effects and nutritive significance of lipid supplementation in carp diet. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 49, p. 93-98, 1996.

STICKNEY, R.R.; HARDY, R.W. Lipid requirements of some warmwater species. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, p. 145-156, 1989.

STONE, D.A.J.; ALLAN, G.I.; ANDERSON, A.J. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). III. The protein-sparing effect of wheat starch-based carbohydrates. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, p. 123-134, 2003.

SWEILUM, M.A.; ABDELLA, M.M.; EL-DIN, S.A.S. Effect of dietary protein-energy levels and fish initial sizes on growth rate, development and production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 1414-1421, 2005.

- SZENTTAMASY, E.R.; BARBOSA, S.M.V.B.; OETTERER, M.; MORENO, I.A.M. Freshwater fish technology: utilization of "pacu" (*Piaractus mesopotamicus*). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 2, p. 303-310, 1993.
- TAN, Q.; XIE, S.; ZHU, X.; LEI, W.; YANG, Y. Effect of dietary carbohydrate sources on growth performance and utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 61-70, 2006.
- TANTIKITTI, C.; CHIMSUNG, N. Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, p. 135-141, 2001.
- TESSER, M.B.; PORTELLA, M.C. Ingestão de ração e comportamento de larvas de pacu em resposta a estímulos químicos e visuais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1887-1892, 2006.
- TESSER, M.B.; FLORES-QUINTANA, C.I.; CARNEIRO, D.J.; PIZAURRO JR, J.M.; PORTELLA, M.C. Suplementação de enzimas exógenas em dieta microparticulada para larvicultura do pacu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 6, p. 2211-2218, 2006.
- TESSER, M.B.; TERJESSEN, 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, n. 6, p. 443-453, 2005.
- TIBALDI, E.; TULLI, F.; LANARI, D. Arginine requirement and effect of different dietary arginine and lysine levels for fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture** v. 127, n. 2/3, p. 207-218, 1994.
- TUNG, P.S.; SHIAU, S.Y. Effects of meal frequency on growth performance of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed different carbohydrate diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 343-350, 1991.
- TWIBELL, R.G.; BROWN, P.B. Dietary arginine requirement of juvenile yellow perch. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 1838-1841, 1997.
- VANDENBERG, G.W.; De La NOÛE, J. Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of faeces collection and three digestibility markers. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 237-245, 2001.
- VAN HAM, E.H.; BERNTSEN, M.H.G.; IMSLAND, A.K.; PARPOURA, A.C.; BONGA, S.E.W.; STEFANSSON, S.O. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v. 217, n. 1/4, p. 547-558, 2003.
- VIDAL JÚNIOR, M.V.; DONZELE, J.L.; CAMARGO, A.C.S.; ANDRADE, D.R.; SANTOS, L.C. Níveis de proteína bruta para tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. 1. Desempenho dos tambaquis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 421-426, 1998.

- VIDOTTI, R.M.; CARNEIRO, D.J.; VIEGAS, E.M.M. Acid and fermented silage characterization and determination of apparent digestibility coefficient of crude protein for pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 33, n. 1, p. 58-62, 2002.
- WALTON, M.J.; COWEY, C.B.; ADRON, J.W. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 52, p. 115-122, 1984.
- WANG, S.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; XIE, M.-Q.; YANG, H.-J.; WANG, Y.; LIANG, G.-Y. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, n. 1/4, p. 419-429, 2005.
- WANG, Y.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; DU, Z.-Y.; WANG, J.-T.; WANG, S.; XIAO, W.P. Effects of dietary carbohydrate level on growth and body composition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 1408-1413, 2005.
- WATANABE, T. Strategies for further development of aquatic feeds. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 68, p. 242-252, 2002.
- WEBSTER, C.D.; LIM, C. Introduction to fish nutrition. In: _____. **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. New York: CABI Publishing, 2002. chap. 1, p.1-27.
- WILSON, R.P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1/4, p. 67-80, 1994.
- WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Ed.). **Fish Nutrition**. 3rd .ed. New York: Academic Press, 2002. chap. 3, p. 144-179.
- WILSON, R.P.; POE, W.E. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, New York, v. 80, p. 385-388, 1985.
- WILSON, R.P.; POE, W.E. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono- and disaccharides as energy sources. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 117, p. 280-285, 1987.
- YAMAMOTO, T.; UNUMA, T.; AKIYAMA, T. The influence of dietary protein and fat levels on tissue free amino acid levels of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 182, n. 34, p. 353-372, 2000.
- ZANONI, M.A. **Níveis de fibra bruta em dietas de crescimento do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)** HOLMBERG, 1887. 1996. 66 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1996.

2 DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO CORPORAL, E HEMATOLOGIA DE JUVENIS DE PACU (*Piaractus mesopotamicus*) ALIMENTADOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA E ENERGIA

Resumo

A proteína é responsável por grande parte do custo das dietas para aquicultura e o seu uso como fonte de energia para peixes é indesejável. Estudos têm demonstrado que a formação e função das células sanguíneas podem ser influenciadas pela concentração de nutrientes dietéticos. O efeito da relação proteína: energia dietética sobre os parâmetros de desempenho, composição corporal, econômicos e hematológicos de juvenis de pacu foi avaliado usando cinco níveis de proteína bruta (PB) -22, 26, 30, 34 e 38%- e cinco níveis de energia digestível (ED) -2600, 2800, 3000, 3200 and 3400 kcal kg⁻¹- em um esquema fatorial 5 × 5, com três repetições. Juvenis de pacu (peso inicial ± 15 g) foram alimentados com as dietas experimentais por 67 dias, duas vezes, ao dia até aparente saciedade. O ganho de peso e a taxa de crescimento específico aumentaram significativamente com a elevação da PB dietética. Elevação da PB das dietas até 28% aumentou a eficiência alimentar ($p<0,05$), embora a elevação até 38% PB não tenha melhorado significativamente a eficiência alimentar. O valor produtivo da proteína e a taxa de eficiência protéica diminuíram ($p<0,05$) com o aumento da PB das dietas em todos os níveis de ED testados. Entretanto, a TEP aumentou quando a ED da dieta foi elevada de 2600 para 2800 kcal. As concentrações de ED afetaram ($p<0,05$) a concentração de umidade, proteína, gordura, energia bruta corporal e o fator de condição. A taxa de eficiência econômica foi influenciada pela PB ($p<0,05$) e ED ($p<0,05$) das dietas e pela interação entre ambas ($p<0,05$). O índice de lucratividade econômica somente foi influenciado pela concentração de PB ($p<0,05$) das dietas. A proteína plasmática total aumentou ($p<0,05$) de acordo com a elevação das concentrações de PB e ED nas dietas. A glicose plasmática diminuiu ($p<0,05$) com a elevação da PB nas dietas. A exigência mínima para ganho de peso de juvenis de pacu é 27% de PB, com relação PB:ED ótima de 92,9 mg PB kcal⁻¹ ED. As concentrações protéicas e energéticas estudadas não causaram prejuízos a saúde dos peixes.

Palavras-chave: *Piaractus mesopotamicus*; Nutrição de peixes; Relação energia proteína; Exigências nutricionais; Hematologia; Parâmetros econômicos

GROWTH, BODY COMPOSITION AND HEMATOLOGY OF PACU (*Piaractus mesopotamicus*) JUVENILES FED DIFFERENT PROTEIN:ENERGY LEVELS

Abstract

Protein represents a large proportion of cost of aquafeeds and use of protein as dietary energy source for fish is undesirable. Blood cells formation and function can be influenced by dietary concentration of nutrients, protein included. Juvenile pacu (± 15 g) were fed for 67 days, twice a day to apparent satiation, with experimental diets containing five levels of crude protein (CP) - 220, 260, 300, 340 and 380 g kg⁻¹ - and five levels of digestible energy (DE) - 2600, 2800, 3000, 3200 and 3400 kcal kg⁻¹ - in a 5 $\times$ 5 factorial design (n = 3), and effects of dietary protein:energy ratio on growth, body composition, economic and hematology parameters of fish were determined. Weight gain and specific growth rate increased significantly with amount dietary CP. Increasing dietary CP level to 28% increased feed efficiency (p<0.05), but further elevation to 38% did not significantly increase feed efficiency. Protein productive value and protein efficiency ratio decreased (p<0.05) with increasing dietary CP at all tested levels of dietary DE. However, PER increased with increasing dietary DE from 2600 to 2800 kcal. DE levels affected (p<0.05) whole body moisture, protein, fat, gross energy and condition factor. CP levels affected (p<0.05) whole body protein, gross energy and ash content. Economic efficiency was influenced by dietary CP (p<0,05) and DE (p<0,05), and by interaction between the two factors. However, income was affected by dietary CP level (p<0,05) alone. Total plasma protein increased (p<0.05) following dietary CP and DE levels. Plasma glucose decreased (p<0.05) with increased CP in diets. Nutritional requirement for weight gain of pacu juveniles is 27% of CP, with optimum CP: DE ratio of 92,9 mg PB kcal⁻¹ DE. All dietary CP and DE levels studied did not pose harms to fish health.

Keywords: *Piaractus mesopotamicus*; Fish nutrition; Protein; Energy ratio; Nutritional requirement; Hematology; Economic parameters

2.1 Introdução

O pacu, *Piaractus mesopotamicus*, é um Characiforme nativo dos rios, lagos, planícies e florestas inundadas das bacias do Paraná, Paraguai e Uruguai na América do Sul. Além de ser apreciado na pesca esportiva, também é uma espécie importante na aquicultura, em função do seu hábito alimentar onívoro, elevada taxa de crescimento, qualidade da carne e boa aceitação pelo mercado consumidor (URBINATI; GONÇALVES, 2005).

Concentrações inadequadas de proteína e energia dietéticas e a relação entre ambos podem acarretar em aumento nos custos de produção de peixes confinados e deteriorização da qualidade da água, resultando no aumento dos efluentes gerados pela atividade. Deste modo, adequada relação proteína: energia é importante na formulação de dietas comerciais (LEE; KIM, 2005).

As exigências em proteína que proporcionam o melhor desempenho produtivo do pacu variam de 26% a 37% de proteína bruta (PB) em função do tamanho do peixe, condições experimentais, fonte de proteína e nível de energia na dieta (BRENNER, 1988; FERNANDES; CARNEIRO; SAKOMURA, 2000), permanecendo de certo modo controversa em função desta alta variação. A utilização da proteína para crescimento pode ser incrementada parcialmente pela substituição de fontes energéticas não-protéicas (lipídios e carboidratos) na dieta (SEENAPPA; DEVARAJ, 1995; SATPATHY; MUKHERJEE; RAY, 2003; KIM; LEE, 2005; WANG et al., 2005; OZÓRIO et al., 2006; MOHANTA; MOHANTY; JENA, 2007). Entretanto, pouca informação sobre a ótima relação energia: proteína ou utilização de fontes de energia não-protéicas está disponível para a espécie (CARNEIRO et al., 1994; ABIMORAD; CARNEIRO, 2007). Fracalossi (2002), baseada em revisão de literatura, sugeriu que a ótima relação proteína: energia para o crescimento do pacu está entre 72 e 109 mg kcal⁻¹.

Em geral, a determinação das exigências nutricionais em peixes é feita por meio de ensaios de desempenho tipo dose-resposta. Entretanto, diversos estudos têm demonstrado que diferenças na hematopoiese e/ou na função das células sanguíneas pode ser indicativo de alterações nas dietas (GREENE; SELIVONCHICK, 1990; KLINGER; BLAZER; ECHEVARRIA, 1996; CAMARGO; POUEY; MARTINS, 2005). Relações entre macro-respostas, como ganho de peso e metabolismo, por exemplo, são controversas especialmente em peixes tropicais e, além disso, dados relacionando o conteúdo de proteína dietética e respostas

metabólicas permanecem escassos, especialmente em se tratando de espécies autóctones (VIEIRA; INOUE; MORAES, 2005). Portanto, o conhecimento das respostas hematológicas em função de alterações nos nutrientes dietéticos pode ser útil para a formulação de rações estratégicas, principalmente em sistemas intensivos, onde os peixes estão sujeitos a diversos estressores que podem afetar negativamente a sua resistência a doenças. A exemplo de outras atividades econômicas, a aquicultura apresenta como objetivo final a obtenção de lucro com a venda do produto final. Deste modo, a prospecção econômica de estratégias nutricionais visando melhorar o desempenho é oportuna e necessária.

O presente experimento foi realizado para determinar os melhores níveis de proteína e energia na dieta e/ou a relação entre ambos para a formulação de dietas para juvenis de pacu.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Peixes e condições experimentais

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo. O laboratório aloja 32 caixas circulares de polipropileno de 1 m³, com capacidade para quatro gaiolas experimentais de policroto de vinila atóxico de 60 L (malha com abertura de 5 mm). As caixas eram abastecidas por um sistema fechado de recirculação de água com filtro biológico, e submetidos a aeração forçada a partir de compressor radial e difusores de ar; a temperatura da água foi mantida com o uso de resistências elétricas colocadas no reservatório do sistema de filtragem. A temperatura ($28,7 \pm 1,8$ °C) e o oxigênio dissolvido ($6,1 \pm 0,1$ mg L⁻¹) da água foram monitorados diariamente com oxímetro digital modelo YSI 55; o pH ($7,67 \pm 0,28$) semanalmente com potenciômetro de bancada (INOLAB®, Weilheim, Alemanha) e a amônia ($\leq 0,5$ mg L⁻¹) com kit comercial colorimétrico (Alfakit®, Florianópolis, SC). Todos os parâmetros de qualidade da água permaneceram dentro dos limites aceitáveis para o melhor desenvolvimento da espécie (URBINATI; GONÇALVES, 2005). O fotoperíodo durante o período experimental foi de 12 horas, mantido com o auxílio de lâmpadas fluorescentes de 160 w (220 v), controladas por temporizador.

Juvenis de pacu adquiridos de produtor comercial foram banhados em solução de permanganato de potássio ($1 \text{ g KMnO}_4 \text{ L}^{-1}$) durante um minuto e distribuídos em 75 gaiolas de 60 L, de forma a constituírem grupos homogêneos de indivíduos. O período de adaptação às instalações foi de sete dias, durante o qual foram alimentados com ração comercial (40% PB) até a aparente saciedade.

2.2.2 Dietas experimentais

Foram formuladas 25 dietas experimentais, contendo cinco níveis de proteína bruta (22, 26, 30, 34 e 38% PB) e cinco de energia digestível (2600, 2800, 3000, 3200 e 3400 kcal ED kg^{-1}), com auxílio de software de custo mínimo (Super Crac 4.0[®]) (Tabela 2). As dietas foram formuladas de modo que além de atender os níveis de PB e ED, a farinha de peixe contribuisse com aproximadamente 10% da PB total da dieta. Também foi estabelecida concentração mínima de 0,75% de fósforo disponível (PEZZATO et al., 2006) nas dietas. A ED dos ingredientes foi calculada de acordo com os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) obtidos para o pacu por Abimorad e Carneiro (2004). Para o farelo de glúten de milho e quirera de arroz, foram utilizados os CDA obtidos para a tilápia nilótica (PEZZATO et al., 2002) e para o jundiá (OLIVEIRA FILHO; FRACALOSSI, 2006), respectivamente, em virtude do hábito alimentar onívoro semelhante ao pacu.

Para elaboração das dietas, os ingredientes foram finamente moídos ($\leq 1 \text{ mm}$), misturados em um misturador tipo “Y”, umedecidos com aproximadamente 25-30% de água e granulados (4 mm) em moinho de rosca sem fim. Após secagem (24 h) em estufa de ventilação forçada (50°C), as dietas foram armazenadas em recipientes plásticos protegidos de luz e mantidas sob refrigeração durante todo o período experimental.

Tabela 2 - Dietas experimentais

(Continua)

ED (kcal kg ⁻¹)	2600					2800					3000				
PB (%)	22	26	30	34	38	22	26	30	34	38	22	26	30	34	38
<i>Ingredientes (%)</i>															
F. de soja	22,85	32,57	41,42	49,79	59,36	23,49	33,30	37,84	42,57	50,32	19,06	33,48	27,46	31,31	35,53
F. de peixe	3,00	4,00	4,50	5,00	5,50	3,00	4,00	4,50	5,00	5,50	3,00	4,00	4,50	5,00	5,50
Protenose	-	1,00	1,00	1,00	1,00	-	1,00	4,05	6,97	5,47	3,46	1,00	11,53	15,01	15,54
F. de trigo	15,80	0,87	1,00	6,71	6,64	17,45	1,00	1,00	1,00	15,46	16,87	1,00	1,00	1,00	20,00
Milho	1,00	8,51	5,03	2,50	6,27	24,14	34,85	29,65	25,10	1,00	37,06	40,47	34,99	27,45	5,30
Quirera de arroz	45,69	41,00	36,00	24,00	10,00	21,00	15,50	13,09	10,00	14,90	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Óleo soja	1,16	1,56	1,55	1,50	1,50	1,92	1,87	1,50	1,10	1,50	2,79	1,73	2,28	2,02	1,58
Celulose	5,98	5,98	5,48	5,48	5,71	4,98	4,46	4,35	4,24	1,84	3,73	4,29	4,22	4,19	2,54
Supl. Min. e Vit. ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
L-lisina HCL	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosf. Bicalcico	3,50	3,50	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Custo (R\$/kg) ²	0,586	0,631	0,645	0,653	0,659	0,557	0,597	0,645	0,691	0,713	0,586	0,588	0,723	0,780	0,806
<i>Composição Química (% matéria natural)</i>															
PB ³	21,40	25,12	30,03	34,65	37,73	22,97	26,47	30,35	34,70	38,27	22,38	26,33	29,34	35,09	38,42
ENN ⁴	57,15	52,03	45,72	42,40	36,33	53,77	51,53	47,13	43,43	40,88	53,80	53,36	50,93	43,85	38,66
EE ⁵	4,52	6,77	8,05	6,08	7,05	7,51	7,30	7,31	6,00	5,35	7,13	5,48	5,72	7,60	6,38
MM ⁶	6,23	6,30	6,26	7,30	7,80	6,30	6,33	6,52	6,92	7,94	6,03	6,22	5,86	4,26	7,19
FB ⁷	4,51	4,06	4,01	4,23	5,07	4,92	3,20	3,53	3,56	2,86	4,15	3,93	3,05	3,38	3,44
MS ⁸	93,81	94,28	94,07	94,66	93,98	95,47	94,83	94,84	94,61	95,30	93,49	95,32	94,90	94,18	94,09
EB (kcal kg ⁻¹)	4126	4343	4477	4424	4473	4399	4412	4464	4434	4467	4299	4338	4394	4616	4477

Tabela 2 - Dietas experimentais

(Conclusão)

ED (kcal kg ⁻¹)	3200					3400				
PB (%)	22	26	30	34	38	22	26	30	34	38
<i>Ingredientes (%)</i>										
F. de soja	12,15	12,78	16,20	18,55	23,16	1,00	1,00	7,21	10,00	15,58
F. de peixe	3,50	4,50	4,50	5,00	5,50	3,50	4,50	4,50	5,00	5,50
Protenose	5,60	11,82	19,56	21,00	25,50	13,41	19,52	24,65	27,00	30,00
F. de trigo	32,00	25,00	1,00	24,28	12,61	29,88	27,31	10,00	26,30	21,55
Milho	26,91	26,70	37,34	10,88	12,83	31,06	27,08	30,61	9,75	10,92
Quirera de arroz	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	5,00
Óleo soja	4,21	3,19	3,21	2,92	2,67	5,14	4,16	4,93	4,65	4,17
Celulose	1,51	1,99	4,18	3,35	3,72	1,59	2,12	3,88	3,28	3,27
Supl. Min. e Vit. ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
L-lisina HCL	0,60	0,50	0,50	0,50	0,50	0,90	0,80	0,70	0,50	0,50
Fosf. Bicalcico	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Custo (R\$/kg) ²	0,640	0,721	0,811	0,847	0,914	0,748	0,828	0,892	0,922	0,966
<i>Composição Química (% matéria natural)</i>										
PB ³	21,78	26,13	30,10	34,69	38,58	22,36	26,62	30,88	34,99	38,53
ENN ⁴	57,57	53,07	48,52	42,81	41,00	54,56	50,77	46,72	42,16	39,55
EE ⁵	5,41	6,26	6,73	6,05	5,68	8,88	7,99	8,75	8,30	7,92
MM ⁶	6,21	6,10	5,30	6,33	6,06	5,60	5,76	5,27	6,07	6,19
FB ⁷	3,08	2,99	3,13	3,41	3,30	3,32	3,62	3,29	3,79	3,09
MS ⁸	94,05	94,55	93,78	93,29	94,62	94,72	94,76	94,91	95,31	95,28
EB (kcal kg ⁻¹)	4215	4350	4436	4406	4511	4455	4472	4602	4624	4650

¹ Suplemento Mineral e Vitaminico (Supre Mais®), ingrediente kg⁻¹: Vitaminas: A=1.200.000 UI; D₃=200.000 UI; E=12.000 mg; K₃=2.400 mg; B₁=4.800 mg; B₂=4.800 mg; B₆=4.000 mg; B₁₂=4.800 mg; ác. fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; C=48.000 mg; biotina=48mg; colina=65.000mg; niacina=24.000mg; minerais: Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=6.000 mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se=20 mg;

² Calculado com base no preço (R\$ kg⁻¹) dos ingredientes apurados em 02/07/2007: farelo de soja (R\$ 0,45); farinha de salmão chilena (R\$ 2,80); protenose (R\$ 1,50); farelo de trigo (R\$ 0,33); quirera de arroz (R\$ 0,45); milho (R\$ 0,31); óleo de soja (R\$ 1,20); L-lisina HCl (R\$ 8,00); fosfato bicalcico (R\$ 1,00); BHT (R\$ 8,00) e celulose (R\$ 0,20).

³ PB: proteína bruta; ⁴ ENN: extrativo não nitrogenado; ⁵ EE: extrato etéreo; ⁶ MM: matéria mineral; ⁷ FB: fibra bruta; ⁸ MS: matéria seca; ⁹ EB: energia bruta calculada considerando 5,6; 4,1 e 9,4 kcal g⁻¹ para proteína, carboidratos e lipídios.

2.2.3 Procedimentos experimentais

Após o período de aclimação, os peixes foram pesados ($15,5 \pm 0,4$ g), medidos ($9,1 \pm 0,8$ cm de comprimento total) e estocados aleatoriamente em gaiolas (60 L; 12 peixes por gaiola) distribuídas em caixas d' água circulares de (1 m^3 ; 3 gaiolas por caixa) em um delineamento fatorial 5×5 totalmente casualizado. As dietas eram fornecidas aos peixes em duas refeições diárias (07h00m e 15h00m) até a aparente saciedade por 60 dias. Determinou-se o momento de saciedade aparente quando os peixes apresentavam pouca atividade na superfície, natação no fundo em cardume, baixa atividade preensora e o início de alimento no fundo da gaiola sem ser consumido. O consumo de cada gaiola era mensurado semanalmente por meio da pesagem de recipiente, individualmente designado para cada gaiola, utilizado no armazenamento da ração.

Ao final do período experimental, após jejum de 24 horas, os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (50 mg L^{-1}) e obteve-se o peso final de cada um dos grupos experimentais. O desempenho e a retenção de nutrientes foram avaliados considerando-se os seguintes parâmetros:

- Ganho de peso (g) – GP

$$GP = P_f - P_i$$

- Índice de eficiência alimentar - IEA

$$IEA = GP \div CT_{(g)}$$

- Índice de consumo alimentar (% peso corporal dia^{-1}) – ICA

$$ICA = 100 \times \frac{CT_{(g)} \div [(P_f + P_i) \div 2]}{\text{dias}}$$

- Taxa de crescimento específico (% crescimento dia^{-1}) – TCE

$$TCE = 100 \times \frac{(\ln P_f - \ln P_i)}{\text{dias}}$$

- Taxa de eficiência protéica – TEP

$$TEP = GP \div PBI$$

- Fator de condição – FC

$$FC = 100 \times \frac{GP}{(\text{comprimento total})^3}$$

- Índice hepatossomático (%) – IHS

$$IHS = \frac{\text{peso do fígado (g)}}{\text{peso corporal total (g)}}$$

- Proteína bruta ingerida – PBI

$$PBI = CT_{(g)} \times \text{proteína na dieta}_{(\%)}$$

- Valor produtivo da proteína (%) – VPP

$$VPP = 100 \times \frac{\left[(PBC_f(\%) \times P_f) - (PBC_i(\%) \times P_i) \right]}{PBI}$$

- Valor produtivo da energia (%) – VPE

$$VPE = 100 \times \frac{\left[(EBC_f \times P_f) - (EBC_i \times P_i) \right]}{EBI}$$

Em que: P_i é peso inicial; P_f é peso final; CT é consumo total de ração; ln logaritmo natural; PBI é total de proteína bruta ingerida; PBC_i é proteína bruta corporal inicial; PBC_f é proteína bruta corporal final; EBC_i é energia bruta corporal inicial; EBC_f é energia bruta corporal final e EBI é total de energia bruta ingerida.

Três peixes de cada gaiola foram aleatoriamente amostrados, sacrificados por overdose de benzocaína (500 mg L^{-1}) e individualmente medidos e pesados. O fígado de cada peixe foi cuidadosamente removido e pesado para o cálculo do índice hepatossomático. A determinação da composição corporal total foi realizada por meio de uma amostra composta de dez peixes ao início do experimento e amostras compostas de três peixes por gaiola ao final do período experimental. Os espécimes para análise química corporal foram moídos e mantidos congelados (-20°C) até a realização das análises.

As dietas experimentais e amostras de peixes foram analisadas para matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral de acordo com os métodos preconizados pela Association of Official Analytical Chemist - AOAC (2000). A proteína bruta ($N \times 6.25$) foi determinada pelo método de Kjeldahl. A matéria seca foi determinada pela secagem das amostras até peso

constante a 105 °C em estufa de ventilação forçada. O extrato etéreo foi determinado pela extração por éter após hidrólise ácida. A matéria mineral foi determinada em forno de mufla a 550 °C por 24 h. A fibra bruta foi determinada pela digestão ácido/básica. A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica. O extrativo não nitrogenado foi calculado pela diferença (100 - proteína bruta - extrato etéreo - matéria mineral - fibra bruta).

2.2.4 Coleta e processamento de amostras para hematologia

Ao início do experimento, foi coletado sangue de 20 peixes para estabelecer os parâmetros hematológicos da população original. Após o manejo dos peixes para avaliação dos parâmetros de desempenho e retenção de nutrientes, os peixes remanescentes continuaram recebendo o mesmo manejo alimentar por mais sete dias, para retorno à homeostase. Ao fim deste período de realimentação, realizou-se a coleta das amostras de sangue precedidas de 16 horas de jejum. Os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (50 mg L⁻¹) e o sangue coletado através de punção caudal com seringas embebidas em EDTA 10%. Os principais dados biométricos (peso, comprimento total e comprimento padrão) foram registrados após cada coleta.

O número total de eritrócitos (NTE; 10⁶ μ L⁻¹) foi determinado com auxílio de hemocítometro (câmara de Neubauer) usando a solução de Natt e Herrick (1952) como diluente (1:200). O hematócrito (HTC; %) foi determinado utilizando-se uma tabela padrão após a centrifugação das amostras em tubos capilares por cinco minutos a 10.000 $\times g$ (GOLDENFARB et al., 1971). A taxa de hemoglobina (HB; g dL⁻¹) foi determinada utilizando-se o método da cianometahemoglobina (BLAXHALL; DAISLEY, 1973) com auxílio de kit comercial padrão (Bioclin[®], Belo Horizonte, MG, Brasil). Foram calculadas as variáveis hematimétricas: volume corpuscular médio (VCM; fL), hemoglobina corpuscular média (HCM; g) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM; g dL⁻¹) (WINTROBE, 1934).

A proteína plasmática total (PPT; g dL⁻¹) foi determinada com auxílio de um refratômetro portátil a partir do plasma separado nos tubos capilares usados para determinação do hematócrito. Uma alíquota das amostras de sangue coletadas foi separada para obtenção de plasma por centrifugação (2795 $\times g$; 5 min.) e congelada a -20 °C para posterior análise. As amostras foram analisadas dentro de sete dias após processo de descongelamento. A glicose plasmática (GLU; mg dL⁻¹) foi determinada com teste colorimétrico comercial baseado na reação de

oxidase/peroxidase (Laborlab[®], Guarulhos, SP, Brasil). A concentração de triglicerídeos plasmáticos (TG; mg dL⁻¹) foi determinada com auxílio de um kit comercial padrão (Laborclin[®], Pinhais, PR, Brasil).

2.2.5 Parâmetros econômicos

As dietas experimentais foram avaliadas quanto a sua economicidade utilizando-se os índices propostos por Martínez-Llorens et al. (2007):

a) Taxa de eficiência econômica (kg⁻¹)

$$TEC = \frac{\text{alimento oferecido (kg)} \times \text{custo da ração (kg}^{-1}\text{)}}{\text{ganho de peso (kg)}}$$

b) Índice de lucratividade econômica (peixe⁻¹) - ILE

$$ILE = \text{peso final (kg peixe}^{-1}\text{)} \times \text{preço do peixe (kg}^{-1}\text{)} - TEC (\text{kg peixe}^{-1}) \times \text{ganho de peso (kg)}$$

Para estimar o valor do preço dos peixes (kg⁻¹), utilizou-se o seguinte cálculo:

$$\text{Preço (kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{custo alevino (R\$ indivíduo}^{-1}\text{)}}{\text{peso médio final do experimento (g)}} \times 1000$$

Considerou-se para efeito de cálculo um custo de R\$ 0,30 por alevino de pacu, com peso médio ao final do experimento de 56,21 g. Portanto o custo final foi estimado em R\$ 5,33 kg⁻¹.

2.2.6 Análise estatística

Para atender as premissas da análise de variância (ANOVA), todos os dados passaram por análise exploratória para avaliação da normalidade e homogeneidade das variâncias. Posteriormente, os dados foram submetidos à ANOVA. Para a avaliação de diferenças entre médias foram efetuados contrastes entre pares de médias utilizando-se o teste de Tukey. Para

todas as análises utilizou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os dados também foram submetidos à análise de regressão (SHEARER, 2000). Os dados foram analisados com o auxílio do software Statistica versão 7.0 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, EUA).

2.3 Resultados

2.3.1 Desempenho produtivo

A sobrevivência registrada durante o período experimental foi de 100% e não foi observado rejeição às dietas experimentais. Os resultados de desempenho, retenção de nutrientes e lucratividade dos juvenis de pacu estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3 – Desempenho e utilização de nutrientes de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB) e energia digestível (ED)

Dietas	Ganho de peso	Índice de Eficiência alimentar	Índice de consumo alimentar	Taxa de crescimento específico	Taxa de eficiência protéica	Valor produtivo da proteína	Valor produtivo da energia	Taxa de eficiência econômica	Índice de lucratividade econômica
PB (%):ED kcal kg ⁻¹	g		% biomassa dia ⁻¹	% dia ⁻¹		%	%	R\$ kg ⁻¹	R\$ peixe ⁻¹
PB:2600 ¹	39,2	0,87 ^b	2,1 ^a	2,07	2,99 ^b	51,0	12,6 ^{ab}	0,73 ^{cd}	3,13
PB:2800	41,4	0,94 ^a	2,0 ^{ab}	2,15	3,23 ^a	51,4	12,8 ^{ab}	0,68 ^d	3,34
PB:3000	42,9	0,92 ^{ab}	2,1 ^a	2,18	3,18 ^{ab}	49,2	12,5 ^b	0,76 ^c	3,37
PB:3200	43,5	0,94 ^a	2,1 ^a	2,22	3,20 ^{ab}	53,2	13,1 ^a	0,84 ^b	3,33
PB:3400	36,7	0,92 ^{ab}	1,9 ^b	1,99	3,14 ^{ab}	48,1	13,1 ^a	0,95 ^a	2,92
22:ED ²	33,4 ^b	0,83 ^b	2,0	1,90 ^b	3,78 ^a	61,5 ^a	12,9 ^{ab}	0,76 ^c	2,84 ^b
26: ED	40,9 ^{ab}	0,91 ^a	2,1	2,15 ^{ab}	3,49 ^b	56,2 ^a	12,6 ^{ab}	0,75 ^c	3,26 ^{ab}
30: ED	40,5 ^{ab}	0,95 ^a	2,0	2,12 ^{ab}	3,16 ^c	47,9 ^b	13,2 ^a	0,79 ^{bc}	3,21 ^{ab}
34: ED	44,3 ^a	0,95 ^a	2,0	2,23 ^a	2,80 ^d	45,7 ^{bc}	12,9 ^{ab}	0,82 ^{ab}	3,39 ^a
38: ED	44,6 ^a	0,95 ^a	2,0	2,24 ^a	2,50 ^e	41,7 ^c	12,5 ^b	0,85 ^a	3,39 ^a
ANOVA									
ED	0,1813	0,0397	0,0030	0,1026	0,0485	0,2878	0,0375	<,0001	0,0759
PB	0,0064	<,0001	0,1733	0,0049	<,0001	<,0001	0,0329	<,0001	0,0213
ED × PB	0,5258	0,0115	0,1564	0,4877	0,0225	0,9660	0,0019	0,0005	0,4397
EPM ³	1,08	0,01	0,02	0,03	0,06	1,10	0,12	0,01	0,06

As médias (n=15) na mesma coluna com diferentes sobrescritos são diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹ médias agrupadas em função do nível de energia digestível

² médias agrupadas em função do nível de proteína bruta

³ erro padrão da média

O GP e a TCE foram influenciados somente pela concentração de PB das dietas, e ambos apresentaram modelo exponencial de distribuição, pelo qual a exigência de PB da dieta foi estimada em 31,87% e 28,81%, respectivamente (Figura 1). Em ambos os casos, a exigência nutricional foi definida pelo ponto sobre a abscissa que corresponde a 95% do valor da assíntota superior que toca a ordenada (ROBBINS; NORTON; BAKER, 1979; BAKER, 1986). Para determinação da exigência mínima de PB do pacu utilizou-se o modelo de regressão segmentada (*broken line*) (ZEITOUN et al., 1976). O ponto de quebra (*break point*) da curva de resposta do GP foi estimado em 27,1% PB e para a TCE em 26,83% PB (Figura 2).

Figura 1 - Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, considerando o ganho de peso (GP) e a taxa de crescimento específico (TCE) pelo modelo exponencial

Figura 2 - Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, considerando o ganho de peso (GP) e a taxa de crescimento específico (TCE) usando o modelo *broken line*

A relação PB:ED que proporcionou máximo desempenho foi 114,10 mg kcal⁻¹ no modelo polinomial quadrático ($p < 0,001$) e 92,9 mg kcal⁻¹ na regressão segmentada ($p < 0,001$) (Figura 3).

Figura 3 - Estimativa da relação proteína bruta:energia digestível (PB:ED) para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus* considerando o ganho de peso (GP) pela regressão polinomial quadrática (A) e segmentada de duas curvas (B)

O ICA variou de 1,9 a 2,1 % da biomassa e foi afetado pelos diferentes níveis de ED ($p < 0,05$), apresentando modelo cúbico de distribuição (Figura 4). Não foi observado efeito significativo dos níveis de PB ou interação entre esses dois fatores ($p > 0,05$) para o ICA. Os peixes alimentados com o menor nível de ED (2600 kcal kg⁻¹) tiveram consumo 10% superior aos peixes alimentados com o nível mais elevado de ED (3400 kcal kg⁻¹).

Figura 4 - Relação entre a concentração de energia digestível (ED) da dieta e o índice de consumo alimentar (ICA) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

O IEA foi influenciado significativamente pela PB e ED das dietas. O aumento da PB dietética de 22 para 28% proporcionou incremento no IEA, embora a elevação da PB deste ponto até 38% não proporcionou aumento no IEA (Figura 5A). O IEA também melhorou quando a ED foi elevada de 2600 até 2750 kcal kg⁻¹ (Figura 5B) e não foi observado aumento significativo no IEA quando a energia dietética foi elevada até 3400 kcal kg⁻¹. Entretanto, nas dietas com 38% de PB, melhora significativa do IEA só ocorreu na dieta com 3400 kcal em comparação a dieta com 2600 kcal ED. Já na dieta com 26% de PB, essa melhora significativa ocorreu quando a ED da dieta foi elevada de 2600 para 2800 kcal, não havendo melhora significativa elevando-se a ED até 3400 kcal kg⁻¹ (Tabela 4).

A TEP diminuiu proporcionalmente ao incremento de PB da dieta em todos os níveis de ED estudados (Figura 6; Tabela 4). Quando a ED das dietas foi elevada de 2600 para 2800 kcal, houve discreto aumento da TEP, não existindo incremento significativo da TEP elevando-se a ED até 3400 kcal (Figura 7). Esse comportamento também foi observado na dieta com 26% de PB quando a interação entre PB e ED foi decomposta. Entretanto, nas dietas com 38% de PB, os peixes só apresentaram aumento significativo da TEP com 3400 kcal ED (Tabela 4).

Figura 5 - Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) e energia digestível para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, considerando o índice de eficiência alimentar (IEA) pelo modelo de regressão segmentada de uma (5A) e duas curvas (5B)

Figura 6 - Relação entre a proteína bruta (PB) da dieta sobre a taxa de eficiência protéica (TEP) em juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 7 - Relação entre a energia digestível (ED) da dieta sobre a taxa de eficiência protéica (TEP) em juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Tabela 4 - Efeito da interação entre proteína bruta e energia digestível em diferentes parâmetros de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Proteína bruta %	Energia Digestível				
	2600	2800	3000	3200	3400
	kcal kg ⁻¹				
	<i>Eficiência alimentar</i>				
22	0,80 ^b	0,85 ^b	0,86	0,82 ^b	0,83 ^b
26	0,83 ^{abB}	1,00 ^{aA}	1,00 ^A	0,89 ^{abAB}	0,83 ^{bB}
30	0,95 ^a	0,95 ^{ab}	0,88	0,99 ^a	0,97 ^{ab}
34	0,92 ^{ab}	0,96 ^{ab}	0,96	1,01 ^a	0,93 ^{ab}
38	0,85 ^{abB}	0,92 ^{abAB}	0,92 ^{AB}	1,00 ^{aAB}	1,06 ^{aA}
	<i>Taxa de eficiência protéica</i>				
22	3,6 ^a	3,9 ^a	3,9 ^a	3,7 ^a	3,8 ^a
26	3,2 ^{abB}	3,8 ^{aA}	3,8 ^{aA}	3,4 ^{abAB}	3,2 ^{abB}
30	3,2 ^{ab}	3,8 ^b	2,9 ^b	3,3 ^{ab}	3,2 ^{ab}
34	2,7 ^{bc}	2,8 ^{bc}	2,8 ^b	3,0 ^{bc}	2,7 ^b
38	2,2 ^{cB}	2,4 ^{cAB}	2,4 ^{bAB}	2,6 ^{cAB}	2,8 ^{bA}
	<i>Valor produtivo da energia (%)</i>				
22	13,1	12,7	12,2 ^{ab}	13,6	13,1
26	12,1	12,6	13,4 ^a	12,7	12,2
30	13,2	12,7	13,5 ^a	13,0	13,8
34	12,7	13,3	12,8 ^a	12,6	12,9
38	12,3 ^{AB}	12,5 ^{AB}	9,6 ^{bB}	13,7 ^A	13,5 ^A
	<i>Taxa de eficiência econômica (R\$ kg⁻¹)</i>				
22	0,74 ^{AB}	0,65 ^{bcB}	0,68 ^{bcB}	0,79 ^{AB}	0,91 ^A
26	0,76 ^B	0,60 ^{cC}	0,59 ^{cC}	0,82 ^B	1,00 ^A
30	0,68 ^B	0,68 ^{bcB}	0,83 ^{abAB}	0,82 ^{AB}	0,92 ^A
34	0,71 ^B	0,72 ^{abB}	0,82 ^{abB}	0,84 ^B	0,99 ^A
38	0,78 ^B	0,77 ^{abB}	0,88 ^{aAB}	0,92 ^A	0,91 ^A
	<i>Energia bruta corporal (kcal g⁻¹)</i>				
22	1,99 ^{AB}	2,01 ^{AB}	2,11 ^{aB}	2,24 ^{aA}	1,93 ^{AB}
26	1,86	1,91	1,76 ^{ab}	2,18 ^{ab}	2,12
30	1,82 ^{BC}	1,77 ^C	2,11 ^{aA}	1,95 ^{abABC}	2,00 ^{AB}
34	1,90	1,81	2,12 ^a	1,90 ^b	2,04
38	1,88 ^{AB}	1,76 ^{AB}	1,91 ^{bB}	2,13 ^{abA}	1,98 ^{AB}

Os valores apresentados são médias (n=3).

Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0.05$) pelo teste de Tukey entre proteína dentro dos níveis de energia. Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0.05$) pelo teste de Tukey entre energia dentro dos níveis de proteína.

Semelhante a TEP, o VPP também foi afetado ($p<0,05$) pela concentração de PB das dietas, apresentando comportamento linear decrescente (Figura 8), embora diminuição significativa só tenha sido observada a partir de 30% de PB (Tabela 3); não houve efeito da ED ou da interação entre PB e ED sobre os valores de VPP. O VPE foi influenciado significativamente pelos valores de PB, ED e pela interação entre esses fatores.

Figura 8 - Efeito da proteína bruta (PB) das dietas sobre o valor produtivo da proteína (VPP) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

De modo geral, o custo (R\$ kg⁻¹) das rações experimentais elevou-se proporcionalmente ao aumento dos níveis de ED e PB e redução da relação PB:ED (Tabela 3). A variação do custo das dietas experimentais em função dos teores de energia digestível e proteína bruta está representada na Figura 9.

Figura 9 - Custo (R\$ kg⁻¹) das dietas experimentais em função dos teores de energia digestível (ED) e proteína bruta (PB)

A concentração de PB das dietas influenciou de maneira linear a TEC (Figura 10A). Os maiores valores da TEC foram registrados nas dietas com 34 e 38% de PB, embora não sejam estatisticamente diferentes entre si (Tabela 3). A ED provocou aumento da TEC (Figura 10B),

sendo o maior valor registrado para as dietas com 3400 kcal. Na decomposição da interação, percebe-se que a ED foi o principal fator influenciando a TEC em todos os níveis de PB estudados; já a PB influenciou significativamente as dietas com 2800 e 3000 kcal apenas. Nas dietas com 2800 os maiores valores de TEC foram registrados para 34 e 38%, sem diferença estatística entre eles; com 3000 kcal a elevação da PB de 30 para 38% não provocou aumento significativo na TEC (Tabela 4). O ILE apresentou crescimento exponencial [$y=3,6567(1-0,9291^x)$; $r=0,91$] em função da elevação da PB das dietas, apresentando os maiores valores com 34% e 38% de PB, que diferiram ($p<0,05$) apenas da dieta com 22% de PB (Tabela 3). Não existiu influência ($p>0,05$) da ED ou da interação deste fator com a PB sobre o ILE.

Figura 10 - Efeito da proteína bruta (PB) - A - e energia digestível (ED) - B - sobre a taxa de eficiência econômica (TEC) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

2.3.2 Composição corporal e morfometria

A composição química corporal e os parâmetros morfométricos dos peixes ao início e final do experimento estão sumarizados na Tabela 5. O extrato etéreo (EE) corporal apresentou comportamento linear ($y=2,0535+0,0032x$; $r=0,86$) em relação ao incremento de ED dietética. O menor valor (10,25%) de EE foi registrado nos peixes alimentados com 2800 kcal na dieta e o maior valor (12,97%) com 3200 kcal, embora este não seja estatisticamente diferente dos valores registrados para 3000 e 3400 kcal. Foi observada correlação ($r= -0,76$; $p< 0,0001$) entre o EE e umidade (UM) corporal (Figura 11A); não houve influência ($p>0,05$) da PB ou da interação desta com a ED sobre o conteúdo de EE e UM corporais. Também foi detectada forte correlação

($r=0,94$; $p<0,0001$) entre o EE e energia bruta (EB) corporais (Figura 11B); embora diferentemente do EE, a EB tenha sofrido influência significativa da concentração de PB e da interação entre PB e ED das dietas. Só foi detectada diferença significativa na EB corporal dos peixes alimentados com 22 e 38% de PB na dieta. Não foi possível detectar comportamento claro da EB corporal quando a interação entre PB e ED dietética foi decomposta (Tabela 4). Embora a proteína bruta corporal (PBC) tenha sido significativamente influenciada pela PB da PB da dieta, não foi observado um comportamento claro em relação aos tratamentos, uma vez que a análise de regressão não foi significativa ($p>0,05$). O menor valor de PBC foi observado nos peixes alimentados com 30% PB, embora este só seja significativamente diferente dos peixes alimentados com 38% de PB dietética. A ED dietética provocou redução linear ($y=18,223-0,0009x$; $r=0,84$) da PBC, embora os valores de PBC não sejam diferentes ($p>0,05$) quando a ED variou de 3000 até 3400 kcal. O conteúdo de cinzas corporal (CC) não foi significativamente influenciado pela PB, ED ou pela interação de ambos. O índice hepatossomático (IHS) variou entre 1,34 e 1,49 %, não foi influenciado pelos níveis de PB e ED das dietas, e apresentou redução de 38% em relação ao IHS da população inicial. O fator de condição (FC) dos peixes aumentou significativamente ($y=2,9050+0,0003x$; $r=0,96$) com a suplementação de ED e em relação aos valores iniciais, embora diferença significativa só tenha sido observada entre 2600 e 3400 kcal.

Figura 11 - Correlação entre o extrato etéreo corporal (EE) e a umidade (UM) - A - e a energia bruta (EB) corporais - B - de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Tabela 5 - Composição química corporal e morfometria de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB) e energia digestível (ED)

Dietas	Umidade	Proteína	Extrato etéreo	Cinzas	Energia bruta	IHS ¹	FC ²
PB (%): ED (kcal kg ⁻¹)	%	%	%	%	kcal g ⁻¹	%	
<i>Inicial</i>	77,5	14,20	3,56	3,44	1,13	2,29	2,04
PB:2600 ³	67,8 ^a	16,07 ^a	10,53 ^{bc}	4,09	1,89 ^{ab}	1,47	3,56 ^b
PB:2800	67,5 ^a	15,84 ^{ab}	10,25 ^c	4,00	1,85 ^b	1,45	3,62 ^{ab}
PB:3000	66,6 ^{ab}	15,11 ^b	12,20 ^{ab}	3,70	1,99 ^{ab}	1,34	3,70 ^{ab}
PB:3200	65,4 ^b	15,99 ^{ab}	12,97 ^a	3,76	2,12 ^a	1,49	3,69 ^{ab}
PB:3400	66,8 ^{ab}	15,14 ^b	12,39 ^a	3,82	2,01 ^{ab}	1,34	3,78 ^a
22: ED ⁴	66,5	15,68 ^{ab}	12,53	3,92	2,06 ^a	1,44	3,67
26: ED	66,9	15,53 ^{ab}	11,54	3,61	1,95 ^{ab}	1,49	3,67
30: ED	66,8	14,92 ^b	11,94	3,89	1,96 ^{ab}	1,41	3,62
34: ED	66,9	15,97 ^{ab}	11,29	3,82	1,96 ^{ab}	1,37	3,67
38: ED	67,1	16,09 ^a	10,97	4,14	1,93 ^b	1,39	3,71
ANOVA							
ED	0,0013	0,0261	<0,0001	0,2420	0,0089	0,0723	0,0246
PB	0,6208	0,0383	0,1083	0,1034	0,0178	0,4555	0,7777
ED × PB	0,0834	0,5457	0,2163	0,8080	0,0008	0,4916	0,2297
EPM ⁵	2,94	1,21	2,90	0,25	41,91	0,02	0,03

As médias (n=15) na mesma coluna com diferentes sobrescritos são diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

¹ índice hepatossomático

² fator de condição

³ médias agrupadas em função do nível de ED das dietas

⁴ médias agrupadas em função do nível de PB das dietas

⁵ erro padrão da média

2.3.3 Variáveis hematológicas

Os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos juvenis de pacu estão sumarizados na Tabela 12. O CHCM foi influenciado significativamente pela concentração de ED da dieta, elevando-se linearmente ($y=23,1+0,0014x$; $r=0,81$) ao incremento energético das dietas. Também houve efeito ($p < 0,05$) da interação entre PB e ED dietética sobre os valores de CHCM, onde nas dietas com 26 e 38% de PB os maiores valores numéricos de CHCM foram registrados quando a ED das dietas foi de 3200 e 3400 kcal, respectivamente. Na dieta com 3400 kcal não foi possível observar comportamento claro do CHCM em função dos diferentes níveis de PB dietética, sendo o maior valor observado com 38% de PB, embora este seja estatisticamente diferente do observado nas dietas com 34% (Tabela 7). Existiu tendência ($p= 0,0634$) da concentração

energética das dietas de influenciar a concentração de hemoglobina, que quando submetida à análise de regressão apresentou comportamento quadrático significativo ($y = -11,8986 + 0,0139x - 2,28E-6x^2$; $r = 0,97$) em função da elevação da concentração energética das dietas, sendo o CHCM máximo (9,28) para ED de 3043 kcal. Também houve tendência ($p = 0,0620$) da interação entre PB e ED dietética influenciar as concentrações de hemoglobina. Realizando a decomposição, diferenças significativas foram observadas somente na dieta com 34% de PB, na qual a concentração de hemoglobina reduziu-se significativamente na maior concentração energética (3400 kcal) quando comparada as dietas com 2600, 3000 e 3200 kcal (Tabela 7).

Tabela 6 - Variáveis hematológicas e bioquímicas de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com diferentes níveis de energia digestível (ED) e proteína bruta (PB)

Dietas	NTE ¹	HTC ²	HB ³	VCM ⁴	HCM ⁵	CHCM ⁶	GLU ⁷	PPT ⁸	TG ⁹
PB (%) : ED (kcal kg ⁻¹)	10 ⁶ µL ⁻¹	%	g dL ⁻¹	fL	g dL ⁻¹		mg dL ⁻¹	g dL ⁻¹	mg dL ⁻¹
Inicial	1,84	28,6	8,9	155,2	48,4	31,1	65,8	5,06	128,6
PB:2600 ¹⁰	1,79	33,2	8,9	188,6	50,4	26,7 ^b	68,5	5,29 ^b	131,9
PB:2800	1,73	33,8	9,1	199,1	53,5	26,9 ^b	67,1	5,40 ^{ab}	132,4
PB:3000	1,73	33,8	9,3	194,8	53,5	27,3 ^{ab}	70,1	5,50 ^{ab}	140,9
PB:3200	1,80	33,1	9,3	188,6	52,4	28,1 ^a	73,3	5,53 ^a	133,4
PB:3400	1,71	32,7	9,0	194,3	53,4	27,5 ^{ab}	76,0	5,51 ^a	142,9
22:ED ¹¹	1,74	32,5	8,8	186,6	50,4	27,2	80,1 ^a	5,28 ^b	146,2
26: ED	1,72	33,2	9,1	198,0	54,3	27,5	69,2 ^b	5,29 ^b	134,8
30: ED	1,74	33,5	9,1	195,4	53,1	27,0	71,0 ^{ab}	5,49 ^{ab}	143,7
34: ED	1,85	33,6	9,2	185,2	50,6	27,3	69,2 ^b	5,51 ^a	132,5
38: ED	1,72	33,8	9,2	200,6	54,7	27,4	65,8 ^b	5,66 ^a	125,1
ANOVA									
ED	0,6947	0,3786	0,0634	0,6067	0,5594	0,0010	0,0651	0,0122	0,6454
PB	0,3257	0,2760	0,2342	0,1616	0,1500	0,7014	0,0025	<,0001	0,1559
ED × PB	0,7411	0,4650	0,0620	0,9331	0,9502	0,0032	0,4532	0,0178	0,4369
EPM ¹²	0,02	0,21	0,06	2,33	0,67	0,14	1,21	0,03	2,99

As médias (n=15) na mesma coluna com diferentes sobrescritos são diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹ número total de eritrócitos

² porcentagem de hematócrito

³ taxa de hemoglobina

⁴ volume corpuscular médio

⁵ hemoglobina corpuscular média

⁶ concentração de hemoglobina corpuscular média

⁷ glicose plasmática

⁸ proteína plasmática total

⁹ triglicerídeos plasmáticos

¹⁰ médias agrupadas em função do nível de energia digestível

¹¹ médias agrupadas em função do nível de proteína bruta

¹² erro padrão da média

Tabela 7 - Efeito da interação entre proteína bruta (PB) e energia digestível (ED) em diferentes parâmetros de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

PB (%)	Energia Digestível (ED)				
	2600	2800	3000	3200	3400
----- kcal kg ⁻¹ -----					
<i>Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média</i>					
22	26,73 ^{ab}	27,72	26,60	28,96	26,76 ^{ab}
26	26,02 ^{bB}	26,95 ^{AB}	27,50 ^{AB}	28,97 ^A	27,91 ^{abAB}
30	26,43 ^{ab}	26,36	27,19	27,45	27,51 ^{ab}
34	28,17 ^a	27,14	28,03	26,83	26,45 ^b
38	26,22 ^{bB}	26,25 ^B	27,13 ^{AB}	28,50 ^A	28,76 ^{aA}
<i>Hemoglobina</i>					
22	8,73	9,25	8,72	8,93	8,60
26	8,58	9,14	9,25	9,47	9,10
30	8,81	8,86	9,48	8,76	9,56
34	9,33 ^A	9,15 ^{AB}	9,42 ^A	9,56 ^A	8,36 ^B
38	8,88	8,95	9,59	9,58	9,20
<i>Proteína plasmática total</i>					
22	5,12	5,42	5,28 ^{bc}	5,20 ^b	5,40 ^{ab}
26	5,13	5,23	5,18 ^c	5,57 ^{ab}	5,32 ^b
30	5,53	5,33	5,57 ^{abc}	5,30 ^b	5,70 ^{ab}
34	5,32	5,53	5,67 ^{ab}	5,73 ^{ab}	5,28 ^b
38	5,37 ^B	5,47 ^{AB}	5,80 ^{aA}	5,85 ^{aA}	5,83 ^{aA}

Os valores apresentados são médias (n=3).

Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey entre proteína dentro dos níveis de energia.

Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey entre energia dentro dos níveis de proteína.

A glicose plasmática (GLU) apresentou-se inversamente relacionada com a concentração de PB dietética ($p < 0,05$) como mostra a Figura 12A, sendo que os peixes alimentados com 22% de PB apresentaram valores de GLU significativamente maiores que os demais, não existindo diferença significativa de 26 a 34% PB. Foi observada tendência ($p = 0,0651$) de elevação da GLU com o incremento da ED, que mostrou-se significativa quando submetida a análise de regressão (Figura 12B). A proteína plasmática total (PPT) elevou-se linearmente em função da PB (Figura 13A) e ED (Figura 13B). A PPT apresentou maior concentração nos peixes alimentados com 38% de PB, sendo significativamente diferente das dietas com 22 e 26% de PB. A ED proporcionou o valor máximo ($5,53 \text{ g dL}^{-1}$) de PPT nos peixes alimentados com 3200 kcal, embora este seja estatisticamente diferentes apenas da dieta com 2600 kcal. Na decomposição da interação, observou-se elevação significativa da PPT dos peixes alimentados com 38% de PB a partir de 3000 kcal se comparado a dieta de 2600 kcal, e a elevação de 3000 até 3400 kcal não proporcionou significativa elevação da PPT (Tabela 7). Não foi observado efeito significativo da

proteína ou energia dietética, ou interação de ambas, sobre a concentração de triglicerídeos plasmáticos.

Figura 12 - Efeito da concentração de proteína bruta (PB) - A - e energia digestível (ED) - B - das dietas sobre a concentração de glicose plasmática (GLU) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 13 -Efeito da concentração de proteína bruta (PB) - A - e energia digestível (ED) - B - dietética sobre a concentração de glicose plasmática (GLU) de juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

2.4 Discussão

2.4.1 Desempenho produtivo

A proteína representa um dos maiores custos na formulação de dietas para organismos aquáticos. Conseqüentemente, para minimizar os custos relativos à alimentação, o nível de proteína da dieta e a retenção de proteína pelos peixes necessitam ser otimizadas. Os resultados do presente estudo demonstraram que a PB dietética foi o principal fator afetando o crescimento de juvenis de pacu (Tabela 3).

A exigência nutricional pode diferir consideravelmente dependendo do modelo estatístico usado para determiná-la. Bureau e Encarnação (2006) consideraram que a popularidade do método da regressão segmentada (*broken-line*) para estimar a exigência nutricional deve-se principalmente pelo fato de que um único ponto (*break point*) pode ser definido como exigência, simplificando assim a interpretação das curvas de resposta. Soma-se a isto, o fato de que alguns autores definirem o *break point* como a exigência nutricional mínima (ZEITOUN et al., 1976) para garantir o máximo desempenho de uma espécie (PORTZ; DIAS; CYRINO, 2000), embora Robbins, Norton e Baker (1979) tenham encontrado a exigência em colina em frangos pelo método *broken line* superior (355 mg kg^{-1}) ao determinado através pelo não linear (209 mg kg^{-1}). Deve-se ressaltar que, embora alguns dados possam ser modelados usando o método *broken-line*, diversos autores relatam que este método geralmente subestima a exigência nutricional e que, neste caso, os modelos curvilineares são preferidos (ZEITOUN et al., 1976; ROBBINS; NORTON; BAKER, 1979; BAKER, 1986; FULLER; GARTHWAITE, 1993; SHEARER, 2000). De fato, ao reavaliar diversos estudos de exigência nutricional usando modelos curvilineares, Shearer (2000) reavaliou a exigência nutricional de diversas espécies usando modelos curvilineares, e encontrou valores de exigência nutricional em média 200% superiores àqueles determinados pelo método *broken-line*, concluindo que este método tem sido aplicado de forma inadequada em muitos casos, resultando em subestimativa da exigência nutricional. Segundo Robbins, Norton e Baker (1979), quando o modelo *broken-line* e curvilinear se ajustam adequadamente aos dados, as exigências nutricionais calculadas são muito próximas. Baker (1986) destaca como desvantagem dos modelos curvilineares a inexistência de brusca mudança na curva (*break point*) que represente a exigência, sendo necessária a determinação aleatória de

um ponto, que pode ser representado por 95% do maior valor da assíntota superior. Embora os modelos curvilíneos representem a melhor relação entre o crescimento e o aporte de nutriente, eles podem não refletir as pequenas diferenças em ganho de peso abaixo e acima do ponto máximo, nem considerar a habilidade do animal para adaptar-se a amplitude de proteína dietética dentro da qual o animal pode armazenar, excretar ou adaptar-se ao nível do nutriente fornecido sem alterações significativas no processo metabólico (ZEITOUN et al., 1976).

No presente estudo, a exigência em PB estimada pelo método *broken line* foi de 26,83 e 27,14% e pelo modelo logarítmico foi de 28,81 e 31,87%, respectivamente para a taxa de crescimento específico e ganho de peso. Estes resultados são similares aos resultados registrados para o pacu (26% PB) por Fernandes, Carneiro e Sakomura (2000), e para outros caracídeos brasileiros, como o curimatá *Prochilodus scrofa* (26% PB) por Bomfim et al. (2005), piaçu *Leporinus macrocephalus* (28% PB) por Pezzato et al. (2000), piracanjuba *Brycon orbignyanus* (29% PB) por Sá e Fracalossi (2002), tambaqui *Colossoma macropomum* (25% PB) por Vidal Júnior et al. (1998). Entretanto, são inferiores às exigências de PB (39,4%) determinada por Brener (1988) para juvenis de pacu (22 g) pelo método da regressão segmentada. Também são superiores os valores da exigência protéica determinados para o jundiá – 32,6 ou 37,3% PB – em função do nível energético da dieta (MEYER; FRACALOSSO, 2004).

O desempenho avaliado pela TCE no presente estudo variou entre 1,9 e 2,2 % por dia. Estes resultados podem ser considerados elevados quando comparados com os aqueles obtidos por Abimorad e Carneiro (2007) que registraram TCE de 0,75 a 0,81% alimentando pacus (11,1 g) com concentrações de proteína (22 e 25%), lipídios (4 e 8%) e carboidratos (41, 46 e 50%). Por outro lado, Tesser et al. (2005) registraram TCE de 3,15 a 3,53% em pacus com peso inicial de 4,3 g alimentados com dietas semi-purificadas (caseína e glúten de milho como fontes de proteína) contendo diferentes níveis e fontes de arginina. Neste último caso, a superioridade da TCE quando comparada aos registrados no presente estudo, pode ser resultado não só da diferença entre as dietas utilizadas, mas também do menor peso inicial, uma vez que peixes menores apresentam crescimento mais acelerado (WEBSTER; LIM, 2002).

Todas as dietas testadas foram bem aceitas pelos peixes, com valores de ICA variando entre 1,9 a 2,1 % da biomassa. Estes valores são similares aos relatados por Tesser et al. (2005) para mesma espécie. No presente estudo o consumo voluntário do pacu diminuiu quando alimentado com elevado nível energético (3400 kcal kg⁻¹), como observado em outros estudos

com diferentes espécies (PORTZ; CYRINO; MARTINO, 2001; BORBA et al. 2003; SALHI et al. 2004). Entretanto, a amplitude do ICA observada entre o menor (2,1%) e o maior (1,9%) nível de ED testado é muito pequena. Isto sugere que o pacu é hábil para ajustar o seu consumo voluntário em uma ampla variação energética, uma vez que não existiu diferença significativa no ICA dos peixes alimentados com 2600 até 3200 kcal kg⁻¹. De acordo com Santinha et al. (1999), quando os peixes são alimentados até a saciedade aparente, o crescimento pode não depender somente da composição da dieta, mas também da capacidade do peixe de regular o consumo.

No presente estudo a TEP foi inversa e linearmente relacionada aos níveis de PD da dieta. O mesmo foi observado em outras espécies autóctones como o tambaqui (VIDAL JÚNIOR et al., 1998), pirapitinga, *Piaractus brachipomus* (VÁSQUEZ-TORRES, PEREIRA FILHO; ARIAS-CASTELLANOS, 2002) e o lambari do rabo amarelo *Astyanax bimaculatus* (COTAN et al., 2006). Isso é geralmente observado em peixes em que a eficiência de retenção da proteína aumenta com baixa ingestão de proteína (SALHI et al., 2004; SÁ; POUSÃO-FERREIRA; OLIVA-TELES, 2006), assim menos da proteína dietética é excretada ou utilizada como fonte energética. Catacutan, Pagador e Teshima (2001) sugeriram a existência de mecanismo compensatório que permitiria a utilização de baixos níveis protéicos, explicando deste modo a maior utilização de proteína nos peixes alimentados com 22-26% de PB.

Entretanto, a TEP aumentou 19% nas dietas com 26% de PB quando a ED foi elevada de 2600 para 2800 kcal, mas o incremento de ED até 3200 kcal não aumentou a TEP ($p>0,05$) e na maior concentração energética (3400 kcal) houve redução da TEP em relação a dieta com 2800 kcal. Nas dietas com 38 % de PB, aumento significativo da TEP só foi observado nas dietas com 3400 kcal (Tabela 4). O aumento da retenção da proteína (TEP) com a elevação da ED até 2800 kcal kg⁻¹ sugere que pode estar ocorrendo um baixo uso da proteína dietética como fonte de energia (DE SILVA; GUNASEKERA; SHIM, 1991; SALHI et al, 2004). Entretanto, De Silva e Anderson (1995) não consideram a TEP o método mais adequado para esta avaliação, uma vez que não mensura a proteína destinada a manutenção e considera a deposição de lipídio como proteína. Estes autores recomendam que, nestes casos, seja utilizado para avaliação o valor produtivo da proteína (VPP). Deste modo, os resultados obtidos com a TEP e o VPP sugerem que o pacu utiliza preferencialmente a proteína dietética como fonte de energia e que adequada relação PB: ED é necessária para economizá-la como fonte energética e usá-la para deposição de proteína corporal em juvenis de pacu.

No presente estudo não ficou claramente demonstrado que aumento na ED dietética possa proporcionar aumento na retenção de proteína, indicando efeito economizador da proteína em juvenis de pacu. Também não observou-se efeito economizador da proteína em outras espécies de peixes autóctones de hábito alimentar onívoro, como o piauçu (PEZZATO et al., 2000), a piracanjuba (BORBA et al., 2003), o curimatá (BOMFIM et al., 2005) e o lambari do rabo amarelo (COTAN et al., 2006). O tambaqui mostrou modesto efeito economizador da proteína, uma vez que a elevação de 5 para 20% de lipídios na dieta aumentou o uso líquido da proteína de 2 para 2,3% (van der MEER; ZAMORA; VERDEGEM, 1997). Na verdade, o mais expressivo exemplo de efeito economizador da proteína em peixes nativos é o jundiá. Esta espécie teve a sua exigência em PB reduzida de 37,3 para 32,6% quando a energia metabolizável (EM) da dieta foi elevada de 3200 para 3650 kcal kg⁻¹ (MEYER; FRACALLOSSI, 2004). Embora o jundiá seja classificado como uma espécie onívora como as outras, apresenta tendência a carnivoria, com trato gastrintestinal simples, sem secos pilóricos e intestino curto, semelhante aos peixes carnívoros (OLIVEIRA FILHO; FRACALLOSSI, 2006).

O pacu apresenta boa produção e retorno econômico em sistemas intensivos (JOMORI et al., 2005). Nestes sistemas, a alimentação pode corresponder em até 60% dos custos de produção, tornando assim oportuna a prospecção sobre o retorno econômico das dietas experimentais utilizadas. O índice de lucratividade econômica (ILE) e a taxa de eficiência econômica (TEC) aumentaram com a elevação dos teores de proteína nas dietas. Considerando-se que a proteína é o macronutriente mais caro nas rações para organismos aquáticos, a elevação da ILE e TEC só foi possível pela elevação do ganho de peso com o incremento da PB das dietas. Isso demonstra que estes dois índices estão intrinsecamente relacionados com o ganho de peso demonstrado pelos animais, sendo que o ILE apresentou maior semelhança com o ganho de peso, uma vez que ambos apresentaram crescimento exponencial com a elevação da PB das dietas.

A influência da ED e da interação com a PB sobre os valores da TEC não refletem os resultados obtidos para o GP e IEA, uma vez que os valores máximos deste índice foram obtidos nas maiores concentrações de PB e ED. Sweilum, Abdella e El-Din (2005) avaliaram o retorno econômico de tilápias nilóticas de diferentes classes de peso (22,9 e 39,8 g) alimentadas com níveis de EM (2500, 3000 e 3500 kcal kg⁻¹) e PB (20,25 e 30%) e relataram que o retorno econômico aumentou significativamente com a elevação da PB da dieta e foi reduzido com o

aumento da ED nos peixes menores; porém, nos peixes maiores o retorno econômico máximo foi obtido no nível intermediário de PB e ED.

Uma vez que o objetivo final da produção de peixes é a lucratividade econômica, os resultados obtidos sugerem que o ILE é o parâmetro mais adequado em relação a TEC para avaliar o retorno econômico propiciado pelas dietas experimentais. Segundo Martinez-Llorenz et al. (2007), isso se deve ao fato deste índice considerar os efeitos técnicos como crescimento e conversão alimentar, e variáveis econômicas, como o custo da dieta e o preço de venda dos peixes. Para a avaliação do retorno econômico das dietas experimentais em juvenis em fase inicial de crescimento, a utilização do ILE demonstrou ser boa ferramenta, uma vez que normalmente são vendidos vivos e por unidade. Entretanto, os resultados obtidos com o ILE devem ser avaliados com cautela para peixes com peso comercial para abate. Fatores como o rendimento de carcaça e/ou rendimento de filé, que podem representar diferencial no preço final de venda, não são considerados por este índice e possuem relação estreita com a nutrição dos animais. Em espécies reofilicas como o pacu, que acumulam grande quantidade de gordura visceral para suprir as suas necessidades energéticas no período reprodutivo – em que ocorre escassez de alimento – a utilização de índices econômicos que considerem o rendimento de produto comestível torna-se ainda mais importante, aumentando deste modo a acurácia da avaliação.

2.4.2 Composição corporal e morfometria

Não houve efeito significativo das concentrações de ED na maioria dos parâmetros de desempenho. Entretanto, a concentração energética das dietas mostrou efeitos significativos na composição corporal (Tabela 5). Isto é indicativo de que a adequada relação PB: ED é essencial para obter rápido crescimento e melhor qualidade no produto final nos peixes (DUAN et al., 2001). No presente estudo foi avaliada a composição corporal total dos peixes. No entanto, o objetivo final da produção do pacu é a comercialização de carne, usualmente na forma eviscerada, filés ou postas. Por ser espécie reofilica, o pacu apresenta tendência para depositar elevadas quantidades de gordura – mais pronunciadamente na cavidade visceral do que no tecido muscular – para ser utilizada durante os períodos de migração e escassez de alimentos. Com isso, a melhor relação PB: ED encontrada no presente estudo considerando-se os parâmetros de

desempenho (93 a 114 mg kcal^{-1}), pode não se mostrar totalmente adequada quando se considera a qualidade do produto final.

As concentrações de diferentes componentes químicos no corpo dos peixes normalmente aumentam proporcionalmente a elevação da massa corporal. Deste modo, os peixes eram mais magros (relação proteína: lipídeo elevada) no início do experimento, quando comparados com os resultados ao final do presente estudo (Figura 14). Embora a amplitude observada seja pequena, foi demonstrado que o incremento da ED resultou em peixes mais gordos, e conseqüentemente reduziu a umidade corporal. Isto é resultado da correlação inversa observada entre a umidade e lipídeo corporal (Figura 11A) e entre proteína e lipídio corporais ($r = -0,53$; $p < 0,0001$). Outros estudos também registraram aumento na gordura corporal proporcionalmente aos níveis de ED (van der MEER; ZAMORA; VERDEGEM, 1997; BORBA et al., 2003; SALHI et al., 2004).

Figura 14 - Proporção entre matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM) corporal de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, ao início do período experimental e após alimentação com diferentes níveis de energia digestível (ED)

O aumento no IHS relacionado ao aumento dos níveis de ED foi observado em diversos estudos (NEMATIPOUR; BROWN; GATLIN III, 1992; JOVER et al., 1999; GUMMADI; REIGH, 2003; KIM et al., 2004), entretanto nenhum efeito foi observado no presente estudo relacionado aos tratamentos utilizados. Resultado semelhante também foi observado na piracanjuba (BORBA et al., 2003) e no sargo branco do Mediterrâneo *Diplodus sargus* (SÁ; POUSÃO-FERREIRA; OLIVA-TELES, 2006). A redução média de 38% no IHS dos peixes alimentados com as dietas experimentais quando comparados a população inicial, sugere a mobilização de energia hepática. Entretanto, não é claro o motivo desta mobilização, e porque

não houve armazenamento do excesso de energia fornecido aos peixes na forma de lipídio e glicogênio hepáticos, o que resultaria em aumento do IHS.

Mudanças na condição são acompanhadas pelas mudanças na composição dos tecidos corporais, sendo as mudanças mais marcantes nos percentuais de lipídios e umidade (JOBBLING, 2001). No presente estudo, o FC elevou-se proporcionalmente a deposição de gordura corporal em função do incremento energético das dietas, concordando com Herbinge e Friars (1991) que afirmaram ser o FC um razoável preditor do conteúdo de lipídeo corporal.

2.4.3 Variáveis hematológicas

A avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos pode ser usada para o diagnóstico de patologias e monitoramento da condição sanitária em peixes (HOUSTON, 1997). As alterações na proporção destes parâmetros são importantes indicadores para o diagnóstico de doenças e estresse, ou apenas deste último (TAVARES; MORAES, 2007). Entretanto, estas técnicas têm sido pouco usadas em virtude da amplitude e intervalos de confiança normais destes parâmetros não estarem bem definidos em muitas espécies de peixe, especialmente para espécies neotropicais (CENTENO et al., 2007).

De acordo com Harvey (1997), deficiência em aminoácidos pode causar diminuição na eritropoiese e na produção de hemoglobina, resultando em anemia. Entretanto, os valores de hemoglobina e hematócrito encontrados no presente estudo estão dentro dos anteriormente registrados para a espécie (MARTINS et al. 1995; TAVARES-DIAS et al. 1999 a, b; MARTINS et al. 2000; TAVARES-DIAS; MATAQUEIRO, 2004), indicando a ausência de anemia e a adequação de todas as dietas neste sentido.

Os valores de PPT encontrados no presente estudo são compatíveis com os resultados relatados para a tilápia híbrida *Oreochromis* sp. (HRUBEC; CARDINALE; SMITH, 2000). Entretanto, estes valores são maiores do que os relatados por Abimorad, Carneiro e Urbinati (2007) para o pacu (4,0-4,3 g dL⁻¹), Borges et al. (2004) para o jundiá (3,5-4,9 g dL⁻¹) e Tavares-Dias e Moraes (2007) para o bagre do canal (4,0-4,6 g dL⁻¹). A influência dos níveis de proteína nos valores de proteína plasmática também foi registrada no falso linguado japonês *Paralichthys olivaceus* (KIM et al. 2004). Entretanto, a concentração de proteína plasmática não variou

significativamente no híbrido “palmeto bass” (♀ *Morone saxatilis* × ♂ *M. chrysops*) alimentado com diferentes relações de proteína e energia (GUMMADI; REIGH, 2003).

As mudanças na concentração de metabólitos plasmáticos refletem ajustes bioquímicos do metabolismo em função de alterações na dieta. Os principais efeitos de altas concentrações de proteína na dieta são o aumento na excreção de nitrogênio e gliconeogênese (VIEIRA; INOUE; MORAES, 2005). A elevação na PPT e diminuição nos valores de GLU, proporcionalmente ao aumento da PB da dieta, sugere possível mobilização de proteína como substrato para gliconeogênese hepática (BARCELLOS et al. 2003). Entretanto, as mudanças observadas nos parâmetros bioquímicos no presente estudo não podem ser explicadas como resultado de um único fator.

Estudos têm documentado mudanças nos índices hematológicos e bioquímicos em função da idade ou tamanho do peixe. Uma correlação positiva ($r=0,42$; $p<0,05$) entre PPT e ganho de peso foi detectada no presente estudo. Resultado similar foi relatado para o robalo europeu híbrido *Morone chrysops* x *M. saxatilis* (HRUBEC; SMITH; ROBERTSON, 2001) e para a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (HILLE, 1982). Segundo Kaneko (1997), em geral animais apresentam elevação da PPT em função da diminuição da albumina e aumento da concentração de globulinas com a idade. Hrubec, Smith e Robertson (2001) entretanto, não observaram alterações na relação albumina: globulina no robalo europeu híbrido de diferentes idades.

Em geral, elevação da concentração protéica das dietas resulta em aumento da glicose plasmática, como relatado para o pacu (ABIMORAD; CARNEIRO; URBINATI, 2007) e a matrinxã *Brycon amazonicus* (=cephalus) (VIEIRA; INOUE; MORAES, 2005). Resultado contrário foi observado no presente estudo, onde as concentrações de GLU do pacu diminuíram com o aumento da PB dietética. Este resultado é similar ao observado por Cameron et al. (2002) para a truta das fontes *Salvelinus alpinus*. No presente estudo, a elevação da concentração de PB das dietas impôs a redução do carboidrato total e, conseqüentemente, dos níveis de açúcar nas dietas. Os níveis de carboidratos em dietas para peixes são classificados como toleráveis ou ótimos (HILTON; PLISETSKAYA; LEATHERLAND, 1987), sendo o tolerável aquele que não prejudica o crescimento ou resulta em mortalidade, e os níveis ótimos são definidos aquele em que há oxidação total da glicose para produção de energia, possibilitando assim economia da proteína dietética. Abimorad, Carneiro e Urbinati (2007) registraram aumento na concentração da glicose plasmática em pacus quando a concentração de carboidratos das dietas aumentou de 41

para 50%. Peixes tropicais conseguem utilizar maiores níveis de carboidratos dietéticos se comparados com peixes de clima temperado ou marinhos (WILSON, 1994), e de acordo com Hemre, Mommsen e Krogdahl (2002), peixes onívoros possuem maior tolerância a glicose se comparados com espécies carnívoras.

2.5 Conclusões

A saúde dos juvenis de pacu não foi afetada pelos tratamentos utilizados, embora baixos níveis de PB e ED resultassem em crescimento e eficiência alimentar reduzidos. Este estudo demonstrou que juvenis de pacu com peso inicial de 15 g apresentam exigência mínima de 27% de PB com uma relação PB: ED ótima de 92,9 mg PB kcal⁻¹ ED.

Referências

- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de coletas de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1101-1109, 2004.
- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles – fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 38, p 36-44, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –AOAC. Methods of Analysis, 14th ed. Washington, 2000. p.152-160.
- BAKER, D.H. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, p. 2339-2349, 1986.
- BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L.B.; FIORENZE, I.; QUEVEDO, R.M.; CERICATO, L.; CONRAD, J.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; LACERDA, L.A.; TERRA, S. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, p. 1465-1469, 2003.

- BLAXHALL, P.C.; DAISLEY, K.W. Routine hematological methods for use with fish blood. **Journal of Fish Biology**, London, v. 5, p. 771-781, 1973.
- BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; SERAFINI, M.A.; RIBEIRO, F.B.; PENA, K.S. Proteína bruta e energia digestível em dietas para alevinos de curimatã (*Prochilodus affinis*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n.6, p. 1795-1806, 2005.
- BORBA, M.R.; FRACALOSSO, D.M.; PEZZATO, L.E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J.M. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, Nantes, v. 16, p. 362-369, 2003.
- BORGES, A.; SCOTTI, L.V.; SIQUEIRA, L.V.; JURINITZ, D.F.; WASSERMAN, G.F. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 30, p. 21-25, 2004.
- BRENNER, M. **Determinação da exigência de proteína do pacu (*Colossoma mitrei* Berg, 1895)**. 1988. 87 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.
- BUREAU, D.P.; ENCARNACÃO, P.M. Adequately defining the amino acid requirements of fish: the case example of lysine. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, 8., 2006, Monterrey, **Anais eletrônicos...** Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León, 2006. Disponível em: <
<http://w3.dsi.uanl.mx/publicaciones/maricultura/viii/pdf/3Bureau.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2008.
- CAMARGO, S.O.; POUEY, J.L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 1406-1411, 2005.
- CAMERON, C.; GURURE, R.; REDDY, K.; MOCCIA, R.; LEATHERLNAD, J. Correlation between dietary lipid: protein ratios and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (Linnaeus). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 33, 383-394, 2002.
- CARNEIRO, D.J.; RANTIN, F.T.; DIAS, T.C.R.; MALHEIROS, E.B. Interactions between temperature and dietary levels of protein and energy in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). I. The effects on growth and body composition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1/4, p. 130-130, 1994. Abstract.
- CATACUTAN, M.R.; PAGADOR, G.E.; TESHIMA, S. Effect of dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios on growth, survival and body composition of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal 1775). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 10, p. 811-818, 2001.
- CENTENO, L.; SILVA-ACUÑA, R.; BARRIOS, R.; LUGO, R.S.; MATUTE, C.; PÉREZ, J.L. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) em tres etapas

de crecimiento cultivadas em el estado Delta Amacuro, Venezuela. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 25, n. 4, p. 237-243, 2007.

COTAN, J.L.V.; LANNA, E.A.T.; DELMONDES, M.A.; DONZELE, J.L.; RIBEIRO, F.B.; SERAFINI, M.A. Níveis de energia digestível e proteína bruta para alevinos de lambari tambiú. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 634-640, 2006.

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

DE SILVA, S.S.; GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 95, p. 305-318, 1991.

DUAN, Q.; MAI, K.; ZHONG, H.; SI, L.; WANG, X. Studies on the nutrition of the large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. I: growth response to graded levels of dietary protein and lipid. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 46-52, 2001.

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

FRACALOSS, D.M. Brazilian Species. In: WEBSTER, C.D.; LIM, C. (Ed.). **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. New York: CABI Publishing, 2002. chap. 28, p. 388-395.

FULLER, M.F.; GARTHWAITE, P. The form of response of body protein accretion to dietary amino acid supply. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, p. 957-963, 1993.

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 56, p.35-39, 1971.

GREENE, D.H.S.; SELIVONCHICK, D.P. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 89, p. 165-182, 1990.

GUMMADI, R.C.; REIGH, R.C. Growth performance and body composition of palmetto bass fed five levels of dietary protein at two energy-to-protein ratios. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 65, p. 278-288, 2003.

HARVEY, J.W. The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press: 1997. chap 7. p. 157-203.

HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T.P.; KROGDAHL, Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, p. 175-194, 2002.

HERBINGER, C. M.; FRIARS, G. W. Correlation between condition factor and total lipid content in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. **Aquaculture and Fish Management**, Bethesda, v. 22, p. 527-529, 1991.

HILLE, S.A. A literature review of the blood chemistry of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. **Journal of Fish Biology**, London, v. 20, p. 535-569, 1982.

HILTON, J.W.; PLISETSKAYA, E.M.; LEATHERLAND, J.F. Does oral 3,5,3'-triiodo-L-thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 4, p. 113-120, 1987.

HOUSTON, A.H. Review: are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 126, p. 879-894, 1997.

HRUBEC, T.C.; CARDINALE, J.L.; SMITH, S.A. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis* Hybrid). **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 29, p. 7-12, 2000.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A.; ROBERTSON, J.L. Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 29, p. 7-12, 2001.

JOBLING, M. Nutrient repartitioning and the influence of feed composition on body composition. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (Ed.). **Food Intake in Fish**. Oxford: Blackwell Publishing, 2001. chap. 15, p. 354-375.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MARTINS, M. I. E. G.; PORTELLA, M.C. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 243, p. 175-183, 2005.

JOVER, M.; GARCÍA-GÓMEZ, A.; TOMÁS, A.; DE LA GÁNDARA, F.; PÉREZ, L. Growth of mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1/4, p. 25-33, 1999.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th. San Diego: Academic Press, 1997. chap 5. p. 117-138.

KIM, L.O.; LEE, S.M. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 243, n. 1/4, p. 323-329, 2005.

KIM, K.-W.; WANG, X.; CHOI, S.-M.; PARK, G.-J.; BAI, S.C. Evaluation of optimum dietary protein-to-energy ratio in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, n. 3, p. 250-255, 2004.

- KLINGER, R.C.; BLAZER, V.S.; ECHEVARRIA, C. Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 147, 225-233, 1996.
- LEE, S-M.; KIM, K-D. Effect of various levels of lipid exchanged with dextrin at different protein level in diet on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 435-442, 2005.
- MARTÍNEZ-LLORENS, S.; MOÑINO, A. V.; VIDAL, A.T.; SALVADOR, V.J.M.; TORRES, M.P.; CERDÁ, M.J. Soybean meal as a protein source in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) diets: effects on growth and nutrient utilization. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 38, p. 82-90, 2007.
- MARTINS, M.L.; CATAGNOLLI, N.; ZUIM, S.M.F.; URBINATI, E.C. Influência de diferentes níveis de vitamina C na ração sobre parâmetros hematológicos de alevinos de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 12, p. 609-618, 1995.
- MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; MORAES, J.R.E.; MALHEIROS, E.B. Falha na resposta do cortisol, estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes:Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, p. 545-552, 2000.
- MEYER, G.; FRACALOSSI, D.M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 240, n. 1/4, p. 331-343, 2004.
- MOHANTA, K.N.; MOHANTY, S.N.; JENA, J.K. Protein-sparing effect of carbohydrate in silver barb, *Puntius gonionotus* fry. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 311-317, 2007.
- NATT, M.P.; HERRICK, C.A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, Champaign, v. 31, p. 735-738, 1952.
- NEMATIPOUR, G.R.; BROWN, M.L.; GATLIN III, D.M. Effects of dietary energy: protein ratio on growth characteristics and body composition of hybrid striped bass, *Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 107, n. 4, p. 359-368, 1992.
- OLIVEIRA FILHO, P.R.C.; FRACALOSSI, D.M. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1581-1587, 2006.
- OZÓRIO, R.O.A.; VALENTE, L.M.P.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Growth performance and body composition of white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles fed diets with different protein and lipid levels. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 255-263, 2006.

PEZZATO, L.E.; ROSA, M.J.S.; BARROS, M.M.; GUIMARÃES, I.G. Exigência em fósforo disponível para alevinos de tilápia do Nilo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1600-1605, 2006

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PEZZATO, A.C.; MIRANDA, E.C.; QUINTERO, P.L.G.; FURUYA, W.M. Relación energia:proteína em la nutrición de alevinos de piaucu. **Revista de Medicina Veterinária y Zootecnia**, Córdoba, v. 47, n. 2, p. 2-7, 2000.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.Q.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 1595-1604, 2002.

PORTZ, L.; CYRINO, J.E.P.; MARTINO, R.C. Growth and body composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 247-254, 2001.

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

ROBBINS, K.R.; NORTON, H.W.; BAKER, D.H. Estimation of nutrient requirement from growth data. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 109, p. 1710-1714, 1979.

SÁ, M.V.C.; FRACALOSSO, D.M. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 1-10, 2002.

SÁ, R.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 310-321, 2006.

SALHI, M.; BESSONART, M.; CHEDIAK, G.; BELLAGAMBA, M.; CARNEVIA, D. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, n. 1/4, p. 435-444, 2004.

SAMPAIO, A.M.B.M.; KUBITZA, F.; CYRINO, J.E.P. Relação energia: proteína na nutrição do tucunaré. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 213-219, 2000.

SANTINHA, P.J.M.; MEDALE, F.; CORRAZE, G.; GOMES, E.F.S. Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 147-156, 1999.

SATPATHY, B.B.; MUKHERJEE, D.; RAY, A.K. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed conversion and body composition in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 17-24, 2003.

SEENAPPA, D.; DEVARAJ, K.V. Effect of different levels of protein, fat and carbohydrate on growth, feed utilization and body carcass composition of fingerlings of *Catla catla* (Ham.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 129, n. 1/4, p. 243-249, 1995.

SHEARER, K.D. Experimental design, statistical analysis and modeling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, p. 91-102, 2000.

SWEILUM, M.A.; ABDELLA, M.M.; EL-DIN, S.A.S. Effect of dietary protein-energy levels and fish initial sizes on growth rate, development and production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 1414-1421, 2005.

TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M.I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, p. 157-162, 2004.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. **Journal of Fish Biology**, London, v. 71, p. 383-388, 2007.

TAVARES-DIAS, M.; TENANI, R.A.; GIOLI, L.D.; FAUSTINO, C.D. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes:Characidae) em policultivo intensivo. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 16, p. 423-431, 1999a.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.H.C.; MARTINS, M.L.; SILVA, E.D.; MORAES, F.R.; PERECIN, D. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária. I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, p. 337-342, 1999b.

TESSER, M.B.; TERJESSEN, 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, n. 6, p. 443-453, 2005.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. cap. 10, p. 225-246.

VAN DER MEER, M.B.; ZAMORA, J.E.; VERDEGEM, M.C.J. Effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 28, n. 6, p. 405-417, 1997.

VÁSQUEZ-TORRES, W.; PEREIRA FILHO, M.; ARIAS-CASTELLANOS, J.A. Estudos para composição de uma dieta referência semipurificada para avaliação de exigências nutricionais em juvenis de pirapitinga, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 283-292, 2002.

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

VIEIRA, V.P.; INOUE, L.A.K.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 140, p. 337-342, 2005.

WANG, Y.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; DU, Z.-Y.; WANG, J.-T.; WANG, S.; XIAO, W.P. Effects of dietary carbohydrate level on growth and body composition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 14, p. 1408-1413, 2005.

WEBSTER, C.D.; LIM, C. Introduction to fish nutrition. In: WEBSTER, C.D.; LIM, C. (Ed.). **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. New York: CABI, 2002. chap. 1, p. 1-27.

WILSON, R.P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, p. 67-80, 1994.

WINTROBE, M.M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig, v. 51, p. 32-49, 1934.

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**, Vancouver, v. 33, p. 167-172, 1976.

3 EXIGÊNCIA NUTRICIONAL EM LISINA DE JUVENIS DE PACU *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887)

Resumo

A lisina é o aminoácido essencial de referência em peixes e o mais limitante na maioria dos ingredientes usados para fabricação comercial de rações para aquicultura. A exigência em lisina dietética para juvenis do pacu *Piaractus mesopotamicus*, com peso inicial de $4,3 \pm 0,04$ g, foi determinada fornecendo cinco dietas experimentais isonitrogenadas (32% proteína bruta) contendo caseína, gelatina e L-aminoácidos cristalinos com níveis crescentes de lisina (0,96; 1,17; 1,44; 1,69 e 1,96% da matéria seca da dieta) por 74 dias. Cada dieta foi aleatoriamente designada para grupos ($n=4$) de 18 peixes cada alimentados três vezes ao dia até a aparente saciedade. Não foram observados mortalidade ou sinais de deficiência além de redução no desempenho dos peixes alimentados com dietas deficientes ou com excesso de lisina. O peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específico, índice de eficiência alimentar, taxa de eficiência protéica, valor produtivo da proteína, composição corporal, morfometria e hematologia foram influenciados ($p < 0,05$) pelas concentrações de lisina dietética. A análise polinomial quadrática indicou a exigência em lisina em 1,45, 1,51 e 1,43% da matéria seca, respectivamente para ganho de peso, eficiência alimentar e valor produtivo da proteína. Foram obtidos valores de lipídios e proteína corporais significativamente mais altos nos peixes alimentados com as dietas com 0,9 e 1,96% de lisina. Baseado nestes dados foi determinado que a exigência em lisina para juvenis de pacu é de 1,5% da matéria seca ou 4,7% da proteína da dieta.

Palavras-Chave: Aminoácidos essenciais; Perfil de aminoácidos muscular; Proteína ideal; Exigência em aminoácidos; Relação A/E

DIETARY LYSINE REQUIREMENT OF JUVENILE PACU *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887)

Abstract

Lysine is the reference essential amino acid in fish and the most limiting in feedstuffs used to manufacture commercial aquafeeds. Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (4.3 ± 0.04 g) was determined by feeding five isonitrogenous (32% crude protein) amino acid test diets containing casein, gelatin and L-crystalline amino acids with graded levels of lysine (0.96, 1.17, 1.44, 1.69 and 1.96% of dry diet) for 74 days, three times a day until apparent satiation, to groups (n=4) of 18 fish in a totally randomized design trial. No mortality or nutritional deficiency signs were observed; reduced growth was recorded for fish fed diets with either the lower or the higher lysine contents. Final weight, weight gain, specific growth rate, feed efficiency, protein efficiency ratio, protein productive value, proximate whole body composition, morphometry and hematology were affected ($p < 0.05$) by dietary lysine concentrations. Second-degree polynomial regression analysis of weight gain and protein efficiency ratio data indicated dietary lysine requirement of 1.45, 1.51 and 1.43% of dry diet, respectively to weight gain, feed efficiency and protein productive value. Significantly higher lipid and protein contents values were obtained for whole body of fish fed the diets with 0.9 and 1.96% of lysine. Lysine requirement of juvenile pacu was determined as being 1.5% of dry diet or 4.7% of dietary protein.

Keywords: Essential amino acid; Muscle amino acid profile; Ideal protein; Amino acid requirement; A/E ratio,

3.1 Introdução

As rações para aquicultura estão entre as rações mais caras do mercado de alimentos para nutrição animal. Este alto custo é atribuído em parte ao uso de ingredientes de elevado valor agregado (e.g. óleo e farinha de peixe) nestas rações. Com o objetivo de melhorar a relação custo-benefício das dietas, a farinha de peixe vem sendo substituída por fontes protéicas mais econômicas, porém em muitos casos com inadequado perfil de aminoácidos essenciais (AAE). Este crescente uso de fontes protéicas alternativas aumenta a necessidade de maior conhecimento das exigências e eficiência de uso dos aminoácidos (AA) em peixes.

Assim como para os demais monogástricos, em peixes a lisina é o aminoácido essencial mais limitante na fase inicial de crescimento (SMALL; SOARES JÚNIOR, 2000; ALAM et al., 2002a; ESPE et al., 2007). A lisina exerce importante papel na formação do colágeno, já que a hidroxilisina e hidroxiprolina – produtos da hidroxilação da lisina e prolina, respectivamente – são os principais constituintes do colágeno (NELSON; COX, 2005). Junto com a metionina, a lisina serve como um precursor para a carnitina, que está envolvida com o transporte de ácidos graxos para oxidação na mitocôndria (WALTON; COWEY; ADRON, 1984). Deficiências em lisina resultam em prejuízos ao crescimento, erosão nas nadadeiras e alta mortalidade em truta arco-íris (KETOLA, 1983).

A exigência de todos os AAE é conhecida para poucas espécies de peixes, como a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, a carpa comum, *Cyprinus carpio*, o bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, o salmão real, *Oncorhynchus tshawytscha*, o salmão “Chum”, *Oncorhynchus keta* e a enguia japonesa, *Anguilla japonica* (NRC, 1993). Entretanto, diversas espécies possuem a exigência de um ou mais AAE determinados. Por outro lado, a exigência em lisina - assim como para os outros AAE - permanece obscura para a grande maioria das espécies autóctones, exceção feita ao jundiá *Rhamdia quelen*, que teve a sua exigência em lisina determinada por Montes-Girao e Fracalossi (2006).

O objetivo do presente trabalho foi determinar a exigência em lisina para alevinos de pacu; avaliar os efeitos sobre a composição corporal e os parâmetros hematológicos e estimar a exigência dos outros AAE por meio do conceito de proteína ideal.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Peixes e condições experimentais

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo. O laboratório é constituído de 32 caixas circulares de fibra com volume de 1 m³, abastecidas com um sistema fechado de recirculação de água com filtro biológico, com aeração forçada, temperatura controlada e fotoperíodo controlado de 12 L:12 E. Alevinos de pacu (± 2 g) foram adquiridos de produtor comercial e submetidos a um período de aclimação às condições experimentais durante dez dias.

Após o período de aclimação, os peixes foram pesados ($4,33 \pm 0,04$ g), estocados em gaiolas de 60 L (18 peixes/gaiola) distribuídas em caixas d’ água circulares de 1 m³ (3 gaiolas por caixa) em um delineamento inteiramente casualizado (n=4). Os peixes foram alimentados em três refeições diárias (09h00m, 13h00m e 17h00m) até a aparente saciedade por 74 dias. Determinou-se o momento de saciedade aparente quando os peixes apresentavam pouca atividade na superfície, natação no fundo em cardume, baixa atividade preensora e início da presença de alimento não consumido no fundo da gaiola. O consumo de cada gaiola foi mensurado a cada três dias.

A temperatura ($30,3 \pm 1,8$ °C) e o oxigênio dissolvido ($5,8 \pm 0,3$ mg L⁻¹) da água foram monitorados diariamente; pH ($7,3 \pm 0,2$) e amônia ($\leq 0,5$ mg L⁻¹) semanalmente. Todos os parâmetros de qualidade da água permaneceram dentro dos limites aceitáveis para o melhor desenvolvimento da espécie (URBINATI; GONÇALVES, 2005).

3.2.2 Dietas experimentais

Os ingredientes e composição química proximal das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 8, a composição em aminoácidos dos ingredientes na Tabela 9 e o conteúdo de aminoácidos de cada dieta na Tabela 10. As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas (32% PB), com aproximadamente 14% da proteína suprida por caseína e gelatina, e o restante por uma mistura de AA cristalinos sem lisina. A mistura de AA foi

suplementada de modo a simular o perfil de AA encontrado em 32% da proteína do ovo, exceto para lisina. Níveis crescentes de L-lisina HCl (0,9 a 2,1%, com incremento de 0,3%) foram adicionados às dietas. Para que as dietas permanecessem isonitrogenadas, a adição da L-lisina HCl foi feita substituindo-se na mesma proporção (1:1) a mistura entre os ácidos aspártico e glutâmico.

Para elaboração das dietas experimentais, todos os ingredientes foram misturados, umedecidos com solução de NaOH 6N (10% volume/peso) e água destilada (20% v/p) para neutralizar o pH das dietas experimentais, de modo que o pH variou de 8,5 a 9,0. A mistura resultante foi homogeneizada, granulada e seca em estufa ventilada (45°C) por 24 h. Os grânulos resultantes foram quebrados, homogeneizados em peneiras granulométricas (2 a 2,5 mm de abertura) e armazenados em recipientes plásticos protegidos de luz e mantidas sob refrigeração (4°C) durante todo o período experimental.

Tabela 8 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais

Ingredientes	Dietas experimentais				
	1	2	3	4	5
	----- % -----				
Caseína	11,60	11,60	11,60	11,60	11,60
Gelatina	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
Premix de aminoácidos ¹	15,44	15,44	15,44	15,44	15,44
Dextrina	32,01	32,01	32,01	32,01	32,01
Celulose microfina ²	14,81	14,81	14,81	14,81	14,81
Carboximetilcelulose	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	3,25	3,25	3,25	3,25	3,25
Óleo de peixe	3,25	3,25	3,25	3,25	3,25
Fosfato bicálcico	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Suplemento Mineral-Vitâmico ³	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Palatabilizante ⁴	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL- α -tocoferol	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-lisina HCl	0,00	0,38	0,76	1,14	1,52
Asp:Glu (1:1)	4,72	4,34	3,96	3,58	3,20
Composição química (% matéria seca)					
Matéria seca	89,15	89,58	89,84	88,83	89,76
Proteína bruta	32,56	33,10	32,88	32,92	32,35
Extrato etéreo	4,70	5,47	4,71	5,29	5,63
Matéria mineral	9,75	9,47	9,26	10,10	9,68

¹ Vetec Química[®] (%): L-Arg 1,87; L-His 0,69; L-Ile 1,22; L-Leu 1,91; L-Met 0,68; L-Fen 1,32; L-The 1,21; L-Tri 0,38; L-Val 1,45; L-Tir 0,90; L-Ser 1,95; L-Ala 1,35; L-Gli 0,51

² Rhoster[®]

³ Suplemento Mineral e Vitâmico (Supremais[®]; ingrediente kg⁻¹): Vitaminas: A=1.200.000 UI; D₃=200.000 UI; E=12.000 mg; K₃=2.400 mg; B₁=4.800 mg; B₂=4.800 mg; B₆=4.000 mg; B₁₂=4.800 mg; ácido fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; C=48.000 mg; biotina=48mg; colina=65.000mg; niacina=24.000mg; minerais: Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=6.000 mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se=20 mg

⁴ Betaína

Tabela 9 - Composição em aminoácidos dos ingredientes das dietas

Aminoácidos	Proteína intacta		AA cristalinos	Total	Proteína do ovo (32% PB)
	Caseína (11,6%)	Gelatina (2,3%)			
AAE ¹	----- % Matéria Seca (MS) -----				
Arg	0,38	0,18	1,52	2,08	2,08
Fen	0,50	0,05	1,30	1,84	1,84
His	0,26	0,02	0,56	0,84	0,84
Ile	0,52	0,04	1,20	1,76	1,76
Leu	0,97	0,08	1,88	2,92	2,92
Lis	0,82	0,08	1,30	2,20	2,20
Met	0,39	0,02	0,67	1,08	1,08
The	0,44	0,04	1,19	1,67	1,67
Tri	0,12	0,00	4,68	4,80	4,80
Val	0,66	0,06	1,43	2,15	2,15
AAANE ²					
Asp	0,75	0,12	2,56	3,44	3,44
Glu	2,16	0,23	2,10	4,49	4,49
Ala	0,37	0,21	1,33	1,91	1,91
Gli	0,21	0,48	0,50	1,19	1,19
Pro	1,00	0,29	0,00	1,24	1,24
Ser	0,54	0,07	1,92	2,53	2,53
Tir	0,57	0,02	0,88	1,47	1,47

¹ Aminoácidos essenciais² Aminoácidos não essenciais

Tabela 10 - Composição em aminoácidos das dietas experimentais

Aminoácidos	Dietas experimentais				
	1	2	3	4	5
AAE ¹	----- % Matéria Seca (MS) -----				
Arg	2,27	2,32	2,30	2,30	2,28
Fen	1,69	1,74	1,73	1,71	1,75
His	0,76	0,76	0,76	0,73	0,78
Ile	1,74	1,81	1,75	1,72	1,82
Leu	2,71	2,79	2,78	2,75	2,82
Lis	0,90	1,17	1,44	1,69	1,96
Met	1,62	1,65	1,61	1,61	1,62
The	1,73	1,71	1,70	1,71	1,70
Tri	nd	nd	nd	nd	nd
Val	1,87	1,94	1,85	1,79	1,95
AAANE ²					
Asp	3,37	3,11	2,95	2,84	2,46
Glu	5,26	5,03	4,81	4,65	4,34
Ala	1,85	1,93	1,95	1,89	1,97
Gli	0,35	0,36	0,38	0,37	0,37
Pro	1,28	1,27	1,38	1,36	1,35
Ser	1,49	1,46	1,51	1,51	1,50
Tir	2,51	2,52	2,59	2,50	2,46
AAE	1,40	1,40	1,45	1,46	1,38

¹ Aminoácidos essenciais² Aminoácidos não essenciais

nd – não determinado

3.2.3 Coleta e processamento das amostras de sangue

Ao final do período experimental, após aproximadamente 20 horas da última refeição e antes do manejo para avaliação dos parâmetros de desempenho e retenção de nutrientes, foram coletadas amostras de sangue dos peixes. Três peixes de cada gaiola foram anestesiados em solução de benzocaína (50 mg L^{-1}) e o sangue retirado através de punção caudal com seringas embebidas EDTA 10%. Após a coleta do sangue, foi registrado o peso individual e comprimento total dos peixes. Em seguida foram devolvidos a sua gaiola de origem para recomposição do grupo a fim de proceder a coleta dos parâmetros de desempenho e retenção de nutrientes. Devido ao tamanho diminuto dos peixes ao início do período experimental, não foi possível realizar a coleta dos parâmetros hematológicos da população inicial.

O número total de eritrócitos (NTE; $10^6 \mu \text{ L}^{-1}$) foi determinado com auxílio de hemocítmetro (câmara de Neubauer), usando-se a solução de Natt e Herrick (1952) como diluente (1:200). O hematócrito (HTC; %) foi determinado utilizando-se uma tabela padrão após a centrifugação das amostras em tubos capilares por cinco minutos a $10.000 \times g$ (GOLDENFARB et al., 1971). A taxa de hemoglobina (HB; g dL^{-1}) foi determinada através do método da cianometahemoglobina (BLAXHALL; DAISLEY, 1973) com auxílio de kit comercial padrão (Bioclin[®], Belo Horizonte, MG, Brasil). Foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM; fL), hemoglobina corpuscular média (HCM; g) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM; g dL^{-1}) (WINTROBE, 1934).

A proteína plasmática total (PPT; g dL^{-1}) foi determinada com auxílio de um refratômetro portátil a partir do plasma separado nos tubos capilares usados para determinação do hematócrito. Uma alíquota das amostras de sangue coletadas foi separada para obtenção de plasma por centrifugação (5.000 rpm ; 5 min.) e congelada a $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ até posterior análise. As amostras foram analisadas dentro de sete dias após processo de descongelamento. A glicose plasmática (GLU; mg dL^{-1}) foi determinada com kit comercial baseado na reação de oxidase/peroxidase (Laborlab[®], Guarulhos, SP, Brasil).

3.2.4 Coleta e processamento das amostras

Após a coleta das amostras de sangue, todos os peixes de cada gaiola foram contados e pesados para determinação dos parâmetros de desempenho e retenção de nutrientes. Após a obtenção do peso total, cinco peixes de cada gaiola foram coletados aleatoriamente, sacrificados por overdose de benzocaína (500 mg L^{-1}), moídos, homogeneizados em uma amostra composta e congelados ($-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$) para determinação da composição corporal. A determinação da composição corporal total inicial foi realizada por meio de uma amostra composta de 20 peixes ao início do experimento. Outros dois peixes de cada gaiola foram sacrificados, pesados e eviscerados para determinação do índice hepatossômico.

As dietas experimentais e amostras de peixes foram analisadas de acordo com os métodos preconizados pela Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 2000). A proteína bruta ($\text{N} \times 6,25$) foi determinada pelo método de Kjeldahl. A matéria seca foi determinada pela secagem das amostras até peso constante a $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa de ventilação forçada. O extrato etéreo foi determinado utilizando-se extração por éter após hidrólise ácida. A matéria mineral foi determinada em forno de mufla a $550 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. A análise de aminoácidos foi realizada de acordo com metodologia descrita por White, Hart e Fry (1986).

3.2.5 Parâmetros avaliados

O desempenho e a retenção de nutrientes foram avaliados considerando-se os seguintes parâmetros:

- Ganho de peso (%) – GP

$$\text{GP} = (P_f - P_i) \div P_i$$

- Índice de eficiência alimentar - IEA

$$\text{IEA} = \text{GP} \div \text{CT}_{(g)}$$

- Índice de consumo alimentar (% peso corporal dia⁻¹) – ICA

$$ICA = 100 \times \frac{CT_{(g)} \div [(P_f + P_i) \div 2]}{\text{dias}}$$

- Taxa de crescimento específico (% crescimento dia⁻¹) – TCE

$$TCE = 100 \times \frac{(\ln P_f - \ln P_i)}{\text{dias}}$$

- Taxa de eficiência protéica – TEP

$$TEP = GP \div PBI$$

- Índice hepatosomático (%) – IHS

$$IHS = \frac{\text{peso do fígado (g)}}{\text{peso corporal total (g)}}$$

- Valor produtivo da proteína (%) – VPP

$$VPP = 100 \times \frac{[(PBC_{f(\%)}) \times P_f] - [(PBC_{i(\%)}) \times P_i]}{PBI}$$

Em que: P_i é peso inicial; P_f é peso final; CT é consumo total de ração; ln logaritmo natural; PBI é total de proteína bruta ingerida; NC_i é nitrogênio corporal inicial; NC_f é nitrogênio corporal final; e TNI é total de nitrogênio ingerido.

3.2.6 Estimativa da exigência dos AAE

Inicialmente foi calculada a relação A/E presente no músculo do pacu (MACHADO; SGARBIERI, 1991; ABIMORAD; SQUASSONI; CARNEIRO, 2008), segundo Kaushik (1998): A/E = 1000 × (% AAE no músculo ÷ ∑ AAE+cis+tir no músculo). Posteriormente, determinou-se a exigência dos outros AAE seguindo a fórmula preconizada por Arai (1981): exigência AA = relação A/E do aminoácido essencial × (exigência em lisina (%)) ÷ relação A/E da lisina no músculo), utilizando-se a exigência em lisina determinada no presente estudo.

A exigência em lisina e a estimativa de AAE encontrados no presente estudo pela relação A/E foram comparadas com outros dois métodos utilizados para estimar a exigência de AAE com

base no perfil de aminoácidos da carcaça. O primeiro método utilizado foi o proposto por Tacon (1987), como segue: $[AAE_{\text{exig}} = (\% \text{ PB da dieta} \times Q \times Z) \div 10000]$; utilizando-se a exigência protéica como 27% PB da dieta; Q é a % AAE+cis+tir que corresponde a 35% da exigência de PB da espécie; e Z é a composição corporal do AA a ser estimado expresso em % dos $\Sigma AAE+cis+tir$. Os valores encontrados foram expressos em porcentagem da proteína. O segundo método utilizado foi o proposto por Meyer e Fracalossi (2005), no qual: $[AAE_{\text{exig}} = (\text{quantidade de um AA específico no tecido muscular do peixe} \times \text{média do somatório da exigência total de AAE do bagre do canal, tilápia do Nilo e carpa comum}) \div \text{total de AAE do músculo da espécie alvo}]$.

3.2.7 Análise estatística

Para atender as premissas da análise de variância (ANOVA), todos os dados foram submetidos à análise exploratória, onde se avaliou a normalidade e homogeneidade das variâncias. Posteriormente, os dados foram submetidos à ANOVA. Para a avaliação de diferenças entre médias foram efetuados contrastes entre pares de médias utilizando-se o teste de Tukey. Para todas as análises utilizou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As exigências nutricionais para o máximo crescimento do pacu foram determinadas por meio de análise de regressão (SHEARER, 2000). Os dados foram analisados com o auxílio do software Statistica versão 7.0 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, EUA).

3.3 Resultados

3.3.1 Parâmetros de desempenho

Não foi observada mortalidade durante todo o período experimental ou rejeição as dietas experimentais. Todos os parâmetros de desempenho e retenção de nutrientes foram afetados significativamente pelos tratamentos ao final do experimento (Tabela 11).

Tabela 11 - Desempenho e utilização de nutrientes de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com níveis crescentes de lisina

Rações	Peso inicial	Peso final	Ganho de peso	Taxa de crescimento específico	Índice de eficiência alimentar	Índice de consumo alimentar	Taxa de eficiência protéica	Valor produtivo da proteína
% Lis	g	g	%	% dia ⁻¹		% biomassa dia ⁻¹		%
0,90	4,33±0,02	28,05±2,47 ^b	546,7±56,4 ^c	2,52±0,12 ^c	0,58±0,02 ^b	3,64±0,11 ^a	1,97±0,09 ^b	27,9±1,7 ^b
1,17	4,36±0,02	32,69±1,23 ^{ab}	650,2±26,8 ^{ab}	2,72±0,05 ^{ab}	0,64±0,02 ^a	3,40±0,11 ^{ab}	2,15±0,08 ^{ab}	31,7±3,3 ^{ab}
1,44	4,33±0,05	34,40±1,18 ^a	698,3±30,5 ^a	2,81±0,05 ^a	0,65±0,03 ^a	3,38±0,18 ^{ab}	2,20±0,10 ^a	29,6±4,2 ^{ab}
1,69	4,34±0,05	31,10±1,61 ^{ab}	617,2±36,1 ^{abc}	2,66±0,07 ^{abc}	0,64±0,02 ^a	3,36±0,10 ^b	2,18±0,09 ^a	33,3±3,9 ^a
1,96	4,31±0,05	29,56±2,30 ^b	585,0±46,9 ^{bc}	2,60±0,09 ^{bc}	0,62±0,01 ^{ab}	3,44±0,06 ^{ab}	2,12±0,05 ^{ab}	32,7±0,3 ^a
<i>p</i>	0,8345	0,0040	0,0034	0,0084	0,0008	0,0028	0,0019	0,0357

As médias ± desvio padrão (n=4) na mesma coluna com diferentes sobrescritos diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Houve aumento do ganho de peso (Figura 15) e da taxa de crescimento específico (Figura 16) com a elevação da concentração de lisina até 1,45% e 1,46%, respectivamente, sendo que a suplementação de lisina após estes níveis causaram a queda destes parâmetros de desempenho. O mesmo comportamento foi observado para o índice de eficiência alimentar (IEA) (Figura 17) e a taxa de eficiência protéica (Figura 18), que apresentaram valores mais elevados com 1,51% e 1,54%, respectivamente.

Figura 15 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o ganho de peso de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 16 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e a taxa de crescimento específico (TCE) de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 17 – Relação entre a concentração de lisina na dieta e o índice de eficiência alimentar (IEA) de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 18 – Relação entre a concentração de lisina na dieta e a taxa de eficiência protéica (TEP) de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

O valor produtivo da proteína (VPP), expressa em percentual da proteína ingerida, apresentou um comportamento exponencial (Figura 19). Neste caso, a exigência de lisina foi calculada como sendo 95% do maior valor encontrado para o VPP, como recomendado por Robbins, Norton e Baker (1979). O consumo alimentar diminuiu com a elevação do nível de lisina dietética até 1,55% (Figura 20).

Figura 19 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o valor produtivo da proteína (VPP) de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 20 – Relação entre a concentração de lisina na dieta e o índice de consumo alimentar (ICA) de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Os parâmetros de crescimento e retenção de nutrientes também foram avaliados pelos modelos de regressão segmentada. Para o GP e TEP o modelo de duas curvas foi o que melhor se ajustou aos dados, sendo a exigência em lisina determinada em 1,32% da dieta [$y=707,1-383,3(1,32-x)-201,7(x-1,32)$; $r=0,96$; $p<0,0033$) e 1,45% da dieta [$2,2395-0,4524(1,45-x)-0,2407(x-1,45)$; $r=0,93$; $p<0,0109$]. Os modelos de regressão segmentada de uma e duas curvas não se mostraram significativos para o VPP ($p>0,05$).

3.3.2 Composição corporal e morfometria

Não houve influência significativa dos tratamentos sobre a matéria seca e o conteúdo de cinzas corporal, embora o mesmo não tenha sido observado para a proteína bruta corporal, extrato etéreo corporal e o índice hepatossomático (Tabela 12).

Tabela 12 - Composição química corporal total de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com níveis crescentes de lisina

Rações	Matéria seca	Proteína bruta	Extrato etéreo	Cinzas	Índice hepatossomático
% Lisina	----- % Matéria Original -----				
Inicial	22,04	13,11	3,52	4,41	1,74
0,90	28,53 ± 2,55	13,99 ± 0,54 ^b	10,30 ± 2,05 ^a	3,34 ± 0,56	1,53 ± 0,11 ^a
1,17	27,79 ± 1,20	14,59 ± 1,08 ^{ab}	8,24 ± 0,88 ^{ab}	3,21 ± 0,17	1,54 ± 0,29 ^a
1,44	28,97 ± 2,22	14,43 ± 0,39 ^{ab}	9,53 ± 2,27 ^{ab}	3,31 ± 0,51	1,24 ± 0,29 ^b
1,69	26,87 ± 1,89	15,01 ± 1,25 ^a	7,54 ± 1,68 ^b	3,44 ± 0,41	1,38 ± 0,23 ^{ab}
1,96	28,02 ± 1,69	15,18 ± 0,33 ^a	7,38 ± 1,69 ^b	3,75 ± 0,50	1,31 ± 0,20 ^{ab}
<i>p</i>	0,6311	0,0315	0,0319	0,5165	0,0391

As médias ± desvio padrão (n=4) na mesma coluna com diferentes sobrescritos são diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

O conteúdo de proteína bruta e extrato etéreo corporais apresentaram comportamentos antagônicos em relação ao incremento de lisina dietética. A concentração de proteína bruta aumentou linearmente ($y = 13,124 + 1,058x$; $r = 0,93$) com a elevação da lisina nas dietas, ao contrário do extrato etéreo que apresentou comportamento linear decrescente ($y = 12,182 - 2,4649x$; $r = 0,80$). O índice hepatossomático apresentou comportamento semelhante ao extrato etéreo corporal ($y = 1,7043 - 0,2014x$; $r = 0,70$).

3.3.3 Parâmetros hematológicos

Os resultados dos parâmetros hematológicos estão sumarizados na Tabela 13. Houve influência significativa dos níveis de lisina dietética sobre o número total de eritrócitos, percentual de hematócrito e taxa de hemoglobina dos alevinos de pacu. As outras variáveis hematológicas não foram influenciadas pelos tratamentos. Quando submetidos à análise de regressão, o número total de eritrócitos apresentou comportamento cúbico (Figura 21) e o hematócrito apresentou comportamento linear significativo (Figura 22). Os valores da taxa de hemoglobina encontrados não demonstraram comportamento coerente com os tratamentos utilizados.

Tabela 13 - Parâmetros hematológicos de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com níveis crescentes de lisina

Rações	NTE ¹	HTC ²	HB ³	VCM ⁴	HCM ⁵	CHCM ⁶	PPT ⁷	GLU ⁸
% Lis	10 ⁶ μL^{-1}	%	g dL ⁻¹	fL	g dL ⁻¹		g dL ⁻¹	mg dL ⁻¹
0,90	1,36±0,2 ^{ab}	29,5±1,2 ^b	11,0±0,7 ^b	222,1±33,9	83,0±12,5	37,5±3,3	5,4±0,4	78,6±12,1
1,17	1,30±0,2 ^b	31,3±1,2 ^{ab}	12,0±0,4 ^a	252,9±49,8	95,6±18,9	38,3±1,5	5,1±0,3	76,1±9,6
1,44	1,47±0,2 ^{ab}	30,1±1,9 ^{ab}	11,2±0,8 ^{ab}	209,2±32,1	76,6±12,5	36,9±1,4	5,4±0,2	82,1±16,1
1,69	1,62±0,2 ^a	31,8±0,4 ^a	12,0±0,8 ^{ab}	199,3±25,4	75,0±9,6	38,2±1,7	5,2±0,2	90,9±15,6
1,96	1,46±0,2 ^{ab}	31,6±0,5 ^a	11,7±0,5 ^{ab}	217,6±31,1	81,4±12,6	37,2±1,8	5,4±0,3	80,9±5,6
<i>p</i>	0,0458	0,0022	0,0124	0,0950	0,0638	0,6957	0,0918	0,4660

¹ número total de eritrócitos

² percentual de hematócrito

³ taxa de hemoglobina

⁴ volume corpuscular médio

⁵ hemoglobina corpuscular média

⁶ concentração de hemoglobina corpuscular média

⁷ proteína plasmática total

⁸ glicose plasmática

Figura 21 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o número total de eritrócitos de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Figura 22 - Relação entre a concentração de lisina na dieta e o hematócrito de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus*

3.3.4 Estimativa da exigência dos AAE

Utilizando a relação A/E do perfil de aminoácidos muscular do pacu e a exigência em lisina experimentalmente determinada no presente estudo, foi estimada a exigência para os outros AAE, que variou de 0,36% da dieta para histidina a 1,32% da dieta para leucina (Tabela 14).

Tabela 14 - Composição muscular de aminoácidos do pacu, *Piaractus mesopotamicus* e estimativa da exigência em aminoácidos pelo conceito de proteína ideal

Aminoácidos	Composição muscular			Relação A/E (Arai, 1981)	Exigência AA's pela relação A/E	Exigência ajustada para 32% PB
	Machado e Sgarbieri (1991)	Abimorad, Squassoni e Carneiro (2008)	Média			
Arginina	6,6	6,66	6,63	128,99	1,02	3,19
Fenilalanina	4,3	4,29	4,30	83,56	0,66	2,06
Histidina	2,2	2,54	2,37	46,11	0,36	1,14
Isoleucina	4,5	4,21	4,36	84,73	0,67	2,09
Leucina	8,8	8,35	8,58	166,83	1,32	4,12
Lisina	10,0	9,50	9,75	189,69	1,50	4,69
Metionina	2,8	2,18	2,49	48,44	0,38	1,20
Treonina	3,8	4,82	4,31	83,85	0,66	2,07
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Valina	3,9	4,63	4,27	82,98	0,66	2,05
Cistina	0,8	0,72	0,76	14,79	0,12	0,37
Tirosina	3,8	3,36	3,58	69,65	0,55	1,72
ΣAAE+Cis+Tir	51,5	51,26	51,38			

Os métodos utilizados no presente estudo estimaram valores 23% (MEYER; FRACALOSSO, 2005) e 41% (TACON, 1987) superiores aos determinados pela relação A/E, inclusive em relação à exigência em lisina determinada no presente estudo. As maiores diferenças entre os métodos foram observadas para a exigência em lisina, leucina, fenilalanina + tirosina e arginina (Tabela 15; Figura 23).

Tabela 15 - Comparação entre métodos para estimativa da exigência de aminoácidos baseado na composição de aminoácidos muscular do pacu, *Piaractus mesopotamicus*

Aminoácido	Métodos						
	Exigência Nutricional (% proteína)			Composição AAE ¹	Relação A/E (Arai,1981)	Meyer e Fracalossi (2005)	Tacon (1987)
	<i>I. punctatus</i>	<i>O. niloticus</i>	<i>C. carpio</i>				
Arginina	4,30	4,20	4,30	6,63	3,19	3,94	4,51
Fenilalanina + Tirosina	5,30	5,54	4,40	7,88	3,78	4,68	5,37
Histidina	1,50	1,72	2,10	2,37	1,14	1,41	1,61
Isoleucina	2,60	3,11	2,50	4,36	2,09	2,59	2,97
Leucina	3,50	3,39	3,30	8,58	4,12	5,09	5,84
Lisina	5,10	5,12	5,70	9,75	4,69	5,79	6,64
Metionina + Cistina	2,30	3,22	2,10	3,25	1,57	1,93	2,21
Treonina	2,00	3,75	3,90	4,31	2,07	2,56	2,93
Triptofano	0,50	1,00	3,60	nd	nd	nd	nd
Valina	3,00	2,80	0,80	4,27	2,05	2,53	2,90
ΣTAAE +Cis+Tir-Tri	29,60	32,85	29,10	51,38			
Média		30,52					

¹ Média dos valores obtidos por Machado e Sgarbieri (1991) e Abimorad, Squassoni e Carneiro (2008).

Figura 23 - Comparação entre diferentes métodos para estimar a exigência de aminoácidos essenciais (AAE) baseados no perfil de aminoácidos muscular do pacu, *Piractus mesopotamicus*

3.4 Discussão

A inclusão de um nível ótimo de lisina é necessária para a formulação de dietas com adequada relação custo-benefício para a produção de alevinos de pacu. Segundo Zhou, Q-C. et al. (2007), a exigência em lisina de peixes com menor exigência em proteína (e.g. espécies onívoras e herbívoras de água doce) são menores do que aquelas espécies com elevada exigência protéica (e.g. peixes marinhos e carnívoros dulcícolas).

O ganho de peso tem sido o principal critério utilizado para determinação da exigência em lisina, embora alguns autores considerem que o uso da deposição de proteína seja um critério mais adequado, uma vez que este é o principal fator determinante na exigência de aminoácidos (BUREAU; ENCARNÇÃO, 2006). Geralmente o uso da deposição de proteína como critério de resposta resulta em uma estimativa mais elevada da exigência em lisina do que o ganho de peso (RODEHUTSCORD et al., 1997; FORSTER; OGATA, 1998; MAI et al., 2006). Entretanto,

o inverso foi observado na carpa comum variedade Jian (ZHOU, X-Q. et al. 2007), em que a deposição de proteína gerou exigência em lisina menor que o ganho de peso.

As exigências em lisina dietética para índices otimizados de GP (1,45%), TCE (1,46%), VPP (1,43%), IEA (1,51%) e TEP (1,54%) foram muito próximas, demonstrando que ambos os fatores, GP ou VPP, poderiam ser utilizados na estimativa da exigência em lisina para o pacu. Deste modo, pode-se concluir que a inclusão de 1,5% de lisina (4,7% da proteína) da dieta é necessária para o máximo desempenho de alevinos de pacu. A exigência em lisina encontrada para o pacu foi inferior àquela determinada para o jundiá (5,1% da proteína) por Montes-Girao e Fracalossi (2006), para o bagre do canal (5,0% da proteína) por Robinson, Wison e Poe (1980), para a tilápia do Nilo (5,1% da proteína) por Santiago e Lovell (1988) e para a carpa capim *Ctenopharyngodon idella* (5,4% da proteína) por Wang et al. (2005). Quando expressa em % da dieta, a exigência em lisina encontrada no presente estudo é muito próxima àquela determinada por Abimorad (2008) também para alevinos de pacu (8,6 g peso inicial) em 1,77% da dieta (1,64% lisina digestível; 5,57% da proteína da dieta). Este mesmo autor usou o método da regressão segmentada (*broken line*) para estimativa da exigência em lisina, e utilizou dietas práticas (28 % PB; 23% PD) suplementadas com níveis crescentes de L-lisina com perfil de aminoácidos digestíveis semelhante ao encontrado no músculo do pacu.

Em geral, a exigência de lisina determinada para a maioria das espécies encontra-se entre 4-5% da proteína dietética, embora a amplitude seja de 3,2 a 6,1% (WILSON, 2002). Diversos fatores, além das diferenças interespecíficas, podem ser responsáveis pela variação dos valores de exigência em lisina para espécies com hábito alimentar semelhantes ou até mesmo dentro da mesma espécie. São eles: tamanho do peixe, manejo alimentar, fonte protéica, perfil de aminoácidos utilizado nas dietas, variedade genética, condições de cultivo, modelo estatístico utilizado para análise dos dados, níveis de outros nutrientes e aminoácidos, temperatura da água, densidade de estocagem, e outras condições de produção adotadas (FORSTER; OGATA, 1998; KIM; KAYES; AMUNDSON, 1992; SIMMONS et al., 1999; DE SILVA; GUNASEKERA; GOOLEY, 2000; AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 1997; SHEARER, 2000; MAI et al., 2006).

Peixes alimentados com dietas purificadas ou semipurificadas, com a inclusão de elevados níveis de aminoácidos cristalinos (>20%), em geral apresentam crescimento inferior a peixes alimentados com dietas onde a fonte protéica é intacta (WILSON, 2002; BUREAU;

ENCARNAÇÃO, 2006). Esse crescimento inferior não foi observado no presente estudo, pois a TCE dos peixes foi superior àquelas observadas em outros trabalhos (MUÑOZ-RAMIREZ; CARNEIRO, 2002; ABIMORAD, 2008), mas inferior ao relatado por Tesser et al. (2005) para a mesma espécie. Quando os aminoácidos são suplementados na forma cristalina, existe a necessidade de fornecer número maior de refeições, de forma a manter a concentração de aminoácidos plasmáticos mais estáveis e reduzir as perdas nitrogenadas (TIBALDI; TULLI; LANARI, 1994; SCHUMACHER; WAX; GROPP, 1997; RODEHUTSCORD et al., 2000). Essa maior frequência de arraçoamento é necessária, pois os aminoácidos cristalinos são absorvidos mais rapidamente se comparados aos aminoácidos provenientes de fontes intactas. Assim, os aminoácidos exigidos para a síntese protéica podem não estar disponíveis simultaneamente no *pool* de aminoácidos absorvidos nas proporções exigidas, causando desbalanceamento de aminoácidos nos tecidos e promovendo um catabolismo dos aminoácidos numa taxa maior do que a síntese protéica (AMBARDEKAR; REIGH, 2007). A frequência de arraçoamento (três vezes ao dia) utilizada no presente estudo foi maior do que a utilizada na maioria dos estudos (duas vezes dia) para determinação de exigência em aminoácidos (MURILLO-GURREA et al., 2001; TANTIKITTI; CHIMSUNG, 2001; LUO et al., 2006; MARCOULI et al., 2006; MONTES-GIRAO; FRACALOSSO, 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2008), o que explicaria o bom crescimento observado nos peixes.

A menor palatabilidade das dietas com elevada inclusão de aminoácidos cristalinos também tem sido sugerida como uma das causas do menor desempenho promovido por essas dietas (NRC, 1993). Não foi observada rejeição das dietas experimentais em nenhum dos tratamentos, de modo que o ICA no presente estudo é maior do que o relatado por Tesser et al. (2005) para a mesma espécie, porém menor do que aquele obtido com o jundiá (MONTES-GIRAO; FRACALOSSO, 2006) e o turbot (PERES; OLIVA-TELES, 2008) alimentados com dietas purificadas. O consumo no presente estudo pode ter sido influenciado pela dificuldade de observação da apreensão dos grânulos de ração ao início do experimento, em virtude do tamanho reduzido (4 g) dos peixes, o que pode ter gerado perdas de alimento.

A maior frequência de arraçoamento utilizada no presente experimento também refletiu no IEA médio dos peixes (0,62), que embora tenha sido inferior ao registrado (0,77) por Fernandes, Carneiro e Sakomura (2000), foi superior ao registrado por Abimorad (2008) para o

pacu (0,42) e semelhante ao registrado por Muñoz-Ramirez e Carneiro (2002) para o pacu e Furuya et al. (2006) para a tilápia do Nilo (0,62).

O modelo estatístico utilizado para analisar a relação dose-resposta também influencia a exigência estimada, com o método da regressão segmentada geralmente apresentando valores estimados menores que os modelos não-lineares. Montes-Girao e Fracalossi (2005) estimaram a exigência em lisina para o jundiá em 4,5% e 5,1% da proteína dietética pelos métodos da regressão segmentada e polinomial quadrática, respectivamente. A exigência em lisina estimada por ambos os modelos de regressão foram muito próximos no presente estudo, corroborando Robbins, Norton e Baker (1979) que afirmaram que quando ambos os modelos se ajustam adequadamente aos dados, as exigências determinadas são similares. Segundo Zeitoun et al. (1976), os modelos não lineares descrevem de maneira mais acurada a complexidade das respostas fisiológicas apresentadas pelos organismos vivos. Portanto, no presente estudo optou-se por utilizar a exigência pelo modelo polinomial, pois este representou melhor a resposta obtida nos diversos parâmetros, apresentando em geral maior coeficiente de determinação (r) e maior nível de significância (p).

Na truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, dietas deficientes em lisina causaram erosão da nadadeira caudal (KETOLA, 1983), embora o mesmo sinal clínico não tenha sido observado por Walton, Cowey, Adron (1984) na mesma espécie. Montes-Girao e Fracalossi (2005) observaram a ocorrência de lordose e/ou escoliose – devido à redução na produção de colágeno – em alevinos do Siluriforme jundiá alimentados com dietas deficientes em lisina. Forster e Ogata (1998) relataram que juvenis do linguado japonês, *Paralichthys olivaceus*, apresentaram coloração atípica quando alimentados com dietas deficientes em lisina. No pacu, além da redução no desempenho e retenção de nitrogênio, não foram observados outros sinais clínicos da deficiência em lisina, semelhante ao observado em diversas outras espécies (TANTIKITTI; CHIMSUNG, 2001; AHMED; KHAN, 2004; MAI et al., 2006; MARCOULI et al, 2006; DAIRIKI; DIAS; CYRINO, 2007; ZHOU, X-Q. et al., 2007).

Os peixes alimentados com excesso de lisina dietética também apresentaram redução no desempenho, sendo que o mesmo efeito foi observado em outros trabalhos (AHMED; KHAN, 2004; WANG et al., 2005; MAI et al., 2006; MONTES-GIRAO; FRACALLOSSI, 2006). Entretanto, não foi observada redução no desempenho do linguado japonês (ALAM et al., 2002a) e do bagre do canal (ROBINSON; WILSON; POE, 1981) alimentados com altas concentrações de

lisina na dieta. A possível explicação para a redução observada neste estudo, seria o efeito negativo na interação lisina-arginina, embora o efeito deste antagonismo no desempenho dos peixes não tenha sido demonstrado em outras espécies (ROBINSON; WILSON; POE, 1981; KIM; KAYES; AMUNDSON, 1992; GRIFFIN; WILSON; BROWN, 1994; TWIBELL; BROWN, 1997). Entretanto, algumas evidências bioquímicas desse antagonismo foram registradas na truta arco-íris (KAUSHIK; FAUCONNEAU, 1984) e no salmão do Atlântico, *Salmo salar* (BERGE; LIED; SVEIER, 1997; BERGE; SVEIER; LIED, 1998); i.e., os níveis plasmáticos de arginina destas espécies foram afetados pela concentração de lisina dietética.

Diferentes maneiras têm sido propostas para expressar a exigência em aminoácidos, existindo significativas diferenças de opinião sobre a maneira mais apropriada para este fim (COWEY, 1994; RODEHUTSCORD et al., 1997; WILSON, 2002). A exigência em aminoácidos pode ser expressa em percentual da dieta (% dieta), por unidade de ED (g kcal^{-1} ED) ou como proporção da proteína da dieta ($\text{g } 16 \text{ g}^{-1}$ N), embora tradicionalmente venha sendo expressa como percentual da dieta (NRC, 1993). A influência da composição da dieta sobre a exigência de aminoácidos vem merecendo atenção dos nutricionistas nos últimos anos, mas os resultados ainda têm se mostrado controversos. Abboudi et al. (2006) não registraram influência da concentração de proteína sobre a exigência em lisina do salmão do Atlântico. Entretanto, níveis mais elevados de proteína promoveram o uso mais eficiente da lisina na truta arco-íris (RODEHUTSCORD et al., 2000). A energia digestível não afetou a exigência em lisina na truta arco-íris (ENCARNAÇÃO et al., 2004), mas a fonte energética utilizada influenciou o uso da lisina na mesma espécie (ENCARNAÇÃO; DE LANGE; BUREAU, 2006).

O uso de dietas purificadas ou semi purificadas é a metodologia mais utilizada para a determinação da exigência em aminoácidos. Entretanto, recentemente alguns autores têm proposto o uso de dietas práticas balanceadas pelo perfil de aminoácidos digestíveis e suplementadas com o aminoácido a ser avaliado (FURUYA et al., 2001; FURUYA et al., 2004 a,b; FURUYA et al., 2006; ABIMORAD, 2008). Estas dietas apresentam reduzida lixiviação dos aminoácidos, proporcionam um *pool* mais estável de aminoácidos plasmáticos e conseqüente liberação destes a uma taxa compatível com a capacidade de uso pelo metabolismo (FURUYA et al., 2004a) proporcionando, geralmente, melhor desempenho dos peixes, além de serem mais palatáveis e com menor custo de preparação. O uso destas dietas resultou na determinação da

exigência em lisina digestível em 1,64% e 1,56% da dieta para o pacu (ABIMORAD, 2008) e a tilápia do Nilo (FURUYA et al., 2006), respectivamente.

Embora a comparação entre valores de aminoácidos digestíveis e totais não deva ser feita, se considerarmos que grande parte dos aminoácidos suprida nas dietas purificadas está na sua forma cristalina – portanto prontamente disponíveis – estes valores de exigência em lisina são muito próximos aos determinados no presente estudo para o pacu (1,5% da dieta) e por Santiago e Lovell (1988) para a tilápia do Nilo (1,43% da dieta). Entretanto, a exigência em lisina foi determinada por Furuya et al. (2006) e Abimorad (2008) pelo modelo de regressão segmentada, diferente deste estudo, e Santiago e Lovell (1988), que utilizaram o modelo polinomial quadrático. Já Furuya et al. (2004a) encontraram pelo modelo quadrático exigência em lisina (1,42%) para tilápias em terminação (118 g) similar ao relatado por Santiago e Lovell (1988) em alevinos (0,15-0,87 g). Furuya et al. (2001) e Furuya et al. (2004b) utilizando dietas práticas, também encontraram exigência de metionina+cistina digestível pelo modelo polinomial quadrático superior ao preconizado por Santiago e Lovell (1988) para a mesma espécie.

Além dos fatores anteriormente discutidos que influenciam na determinação da exigência em aminoácidos, as diferenças encontradas entre as duas metodologias (dietas purificadas versus dietas práticas) podem ser oriundas da variação do valor nutricional (digestibilidade) dos aminoácidos entre ingredientes distintos, e em função da composição química e processamento utilizado para fabricação, quando consideramos o mesmo ingrediente. Existe íntima relação entre a disponibilidade dos aminoácidos fornecidos com os aminoácidos livres nos tecidos e plasma, resultante da diferença na eficiência de absorção entre os aminoácidos dietéticos (BICUDO; CYRINO, in press). Por exemplo, Gómez-Requeni et al. (2004) mostraram que juvenis da dourada, *Sparus aurata*, alimentados com diferentes fontes protéicas e conteúdos similares de arginina e lisina, apresentaram maior retenção destes aminoácidos nos peixes alimentados com farinha de peixe se comparados aqueles alimentados com dietas contendo fontes protéicas de origem vegetal. Também o bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua*, alimentado com dietas tendo a farinha de peixe como fonte protéica, retiveram 39,2% de Arg, 40,5% His, 39,4% Ile, 35,8% Leu, 46,7% Lis, 39,9% Met, 40,8% Fen, 47,6% The, 44,7% Tri e 30,2% Val. Estes valores de retenção foram maiores que aqueles observados quando a mesma espécie foi alimentada com dietas baseadas no farelo de soja desengordurado e farelo de soja bioprocessado, embora não tenha existido diferença significativa para peixes com um ou dois anos de idade (REFSTIE et al.,

2006). Portanto, embora o uso de dietas práticas apresente algumas vantagens em relação às dietas purificadas, o uso delas esbarra na pouca informação disponível sobre valores de aminoácidos digestíveis para as diferentes espécies e os fatores que influenciam o seu valor nutricional (e.g. composição química do ingrediente, temperatura da água, idade e tamanho do peixe).

A proteína corporal elevou-se com a inclusão dos níveis de lisina, mesmo sendo observado para o valor produtivo da proteína. Por outro lado, a concentração de lipídio corporal foi negativamente influenciada pela elevação dos níveis de lisina. A elevação da PB corporal em função do incremento de lisina é bem documentada para várias espécies (MARCOULI et al., 2006; MONTES-GIRAO; FRACALOSSI, 2006; ZHOU, Q-C. et al., 2007; ZHOU, X-Q. et al., 2007). Entretanto, a influência do incremento da lisina dietética sobre a composição de gordura corporal permanece controverso.

Em geral, os aminoácidos supridos em excesso são deaminados e utilizados como fonte energética, aumentando o acúmulo de lipídio corporal (AHMED; KHAN, 2004; WANG et al., 2005). Entretanto, nenhum efeito significativo da concentração de lisina sobre o conteúdo de gordura corporal foi observado em várias espécies (MONTES-GIRAO; FRACALOSSI, 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2008; LUO et al. 2006; MARCOULI et al., 2006) e efeito negativo do incremento de lisina dietética sobre a concentração de lipídios corporais foi observado no robalo japonês, *Lateobrax japonicus* (MAI et al., 2006) e no bijupirá (ZHOU, Q-C. et al., 2007), corroborando o resultado encontrado no presente trabalho.

O índice hepatossomático (IHS) dos alevinos de pacu foi significativamente maior nas dietas deficientes em lisina, semelhante às observações feitas na dourada (MARCOULI et al., 2006), no bijupirá (ZHOU, Q-C. et al., 2007) e no linguado, *Scophthalmus maximus* (PERES; OLIVA-TELES, 2008). Entretanto, comportamento inverso – elevação do IHS proporcionalmente à elevação de lisina dietética – foi observado por Wang et al. (2005) na carpa capim, por Luo et al. (2006) na garoupa, *Epinephelus coioides*, e por Zhou, X-Q. et al. (2007) na carpa comum variedade Jian.

Existem poucas informações sobre a influência da concentração de aminoácidos dietéticos sobre os parâmetros hematológicos em peixes teleósteos. Valores de referência dos parâmetros hematológicos normais em peixes teleósteos não estão estabelecidos para a maioria das espécies, o que dificulta seu uso como indicador da saúde ou estresse sob condições experimentais

(HRUBEC; CARDINALE; SMITH, 2000; TAVARES; MORAES, 2007). Os valores dos parâmetros hematológicos registrados no presente estudo são similares aos registrados em outros trabalhos para a espécie (TAVARES-DIAS et al. 1999; TAVARES-DIAS; MATAQUEIRO, 2004), exceto para a concentração de hemoglobina que apresentou valores superiores ao máximo registrado para a espécie ($10,4 \text{ g dL}^{-1}$) por Tavares-Dias et al. (1999) e para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, por Centeno et al. (2007). A concentração de metabólitos plasmáticos reflete ajustes bioquímicos para alterações na composição nutricional da dieta (VIEIRA; INOUE; MORAES, 2005). Não foi observado efeito da concentração de lisina sobre a concentração de glicose e proteína plasmática total. Este resultado concorda com o obtido por Ruchimat et al. (1997), que também não observaram efeito da concentração de lisina dietética sobre a proteína plasmática total do atum de rabo amarelo, *Seriola quinqueradiata*. Por outro lado, a proteína plasmática total apresentou concentrações significativamente menores nas dietas deficientes em lisina em outras espécies (LUO et al, 2006; ZHOU, Q-C. et al, 2007; WANG et al., 2005).

Sabe-se que existe íntima relação entre a proteína plasmática total e metabolismo protéico com o status nutricional e proteína tecidual (COLES, 1984). Deste modo, não está claro o porquê de não ter existido influência dos níveis de lisina sobre a concentração de proteína plasmática total no pacu, uma vez que outros parâmetros de eficiência protéica (TEP e RN) foram significativamente influenciados. A concentração de glicose plasmática no pacu também não foi influenciada pelas dietas experimentais, ao contrário do que foi observado em outras espécies. Na carpa capim elevou-se proporcionalmente à elevação de lisina na dieta (WANG et al., 2005). Na garoupa, embora tenha existido influência das concentrações de lisina sobre a glicose plasmática, os valores não se mostraram correlacionados com a inclusão de lisina na dieta (LUO et al., 2006).

No presente trabalho, foi observada elevação numérica da glicose plasmática sem significância estatística ($p>0,05$) – provavelmente devido à grande variação observada nos resultados – nos peixes alimentados com até 1,69% de lisina na dieta. Zhou, Q-C. et al. (2007) sugeriram que as alterações nos parâmetros hematológicos em juvenis de bijupirá alimentados com dietas deficientes em lisina, seriam resultado do estresse nutricional sofrido pelos peixes e não em função da deficiência de um aminoácido específico. A glicose plasmática pode ser utilizada como um indicador indireto de estresse (REDDY; LEATHERLAND, 1998). Segundo Reddy e Leatherland (1998), o hematócrito também pode ser um indicativo de resposta ao estresse, porém o seu uso precisa ser validado para determinadas espécies de peixes antes da sua

aplicação generalizada como medida de diagnóstico. Entretanto, para validação da hipótese de estresse no presente trabalho, teria sido necessário mensurar outros parâmetros, como, por exemplo, a concentração de cortisol plasmático. O número total de eritrócitos foi influenciado pela lisina dietética, sendo os maiores valores registrados nos peixes alimentados com 1,69% de lisina, diferente do observado por Ruchimat et al. (1997) e Zhou, Q-C. et al. (2007) que não observaram influência da concentração de lisina sobre o número de eritrócitos do yellowtail e do bijupirá, respectivamente. Em monogástricos, os eritrócitos são importantes no transporte de aminoácidos provenientes do fígado, sendo que a concentração de alguns aminoácidos como aspartato, glutamato, glicina, histidina e lisina, são consideravelmente menores no plasma que no interior dos eritrócitos (SEAL; PARKER, 2000). Os mecanismos para explicar a influência do aporte de aminoácidos dietéticos sobre os parâmetros hematológicos em peixes não estão claros, devendo ser alvo de estudos futuros.

A exigência em aminoácidos usualmente é determinada por meio de experimentos dose-resposta, que demandam um tempo relativamente longo e custos elevados com dietas purificadas ou semi-purificadas, especialmente quando o objetivo é determinar a exigência de todos os aminoácidos essenciais (AAE). Diversos autores têm demonstrado existir alta correlação entre o perfil de aminoácidos corporais e a exigência em AAE em peixes (WILSON; COWEY, 1985; WILSON; POE, 1985; NGAMSNAE; DE SILVA; GUNASEKERA, 1999; SMALL; SOARES JÚNIOR, 2000; MAI et al., 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2008). Não existe similaridade entre o perfil de aminoácidos corporal entre espécies filogeneticamente próximas ou de mesmo hábito alimentar, reforçando a necessidade da determinação da exigência em aminoácidos para cada espécie (AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 1997; BICUDO; CYRINO, in press). Deste modo, o conceito de proteína ideal tem sido amplamente utilizado para estimar a exigência em AAE em peixes, uma vez que, por este conceito, embora a exigência de cada aminoácido possa variar em diferentes fases de desenvolvimento, a relação entre eles (A/E) permanece constante (WILSON, 2002).

O uso do perfil de aminoácidos corporais para determinar a exigência em AAE justifica-se quando dados provenientes de ensaios experimentais não estão disponíveis (WILSON, 2002). A relação A/E tem sido o método mais amplamente utilizado na estimativa da exigência em aminoácidos em peixes (KAUSHIK, 1998; WILSON, 2002), entretanto a sua aplicação depende da determinação experimental da exigência de um aminoácido referência, usualmente a lisina

(ARAI, 1981). O uso da lisina como referência para os outros aminoácidos justifica-se por ser o primeiro aminoácido limitante em peixes, ser exclusivamente utilizado para a deposição de proteína corporal, a sua determinação em laboratório ser relativamente simples e por ter a sua exigência determinada para um número maior de espécies do que os outros aminoácidos (PERES; OLIVA-TELES, 2008).

Tacon (1987) e Meyer e Fractalossi (2005) propuseram dois métodos para estimativa da exigência de aminoácidos utilizando-se o perfil de AAE corporais sem a necessidade de determinar experimentalmente de um aminoácido referência. No presente experimento, demonstrou-se que os métodos de Tacon (1987) e Meyer e Fractalossi (2005) superestimam a exigência em lisina para o pacu em 41 e 23%, respectivamente. A exigência em lisina para o jundiá estimada por Meyer e Fractalossi (2005) foi 13% superior (5,8% da proteína) a exigência determinada experimentalmente (5,1% da proteína) por Montes-Girao e Fractalossi (2006). Ressalte-se que tanto no presente estudo como em Montes-Girao e Fractalossi (2006), as exigências foram determinadas pelo modelo polinomial quadrático, que em geral resulta em valores superiores àqueles determinados pelo modelo da regressão segmentada. Na estimativa dos outros AAE foi observado a mesma tendência de superestimativa da exigência, com o método de Tacon (1987) apresentando valores superiores aos de Meyer e Fractalossi (2006), e ambos superiores ao estimado pela relação A/E. Entretanto, os valores estimados por todos os métodos encontram-se dentro da média para a maioria das espécies, exceto para a leucina, que apresentou valores superiores à média encontrada para a maioria das espécies. De fato, Wilson (2002) afirma que os resultados de exigência de leucina baseados na relação A/E são em geral superiores aos encontrados em experimentos dose reposta.

Limitações dos métodos utilizados para estimar a exigência em AAE baseados no perfil de aminoácidos corporais têm sido demonstradas em diferentes espécies de peixes (MAMBRINI; KAUSHIK, 1995; ALAM et al., 2002b; ROLLIN et al., 2003; Peres e Oliva Teles, 2007). O método de Tacon (1987) fixa o somatório da exigência em AAE mais cistina e tirosina em 35% da exigência protéica, independente da espécie ou fase de desenvolvimento, o que pode levar a sub ou superestimativa das exigências em aminoácidos. No método proposto por Meyer e Fractalossi (2006), utiliza-se a média do somatório da exigência em AAE mais cistina e tirosina do bagre do canal, carpa comum e tilápia do Nilo, na estimativa das exigências nutricionais e o somatório dos AAE corporais mais cistina e tirosina, da espécie estudada. O somatório dos AAE

corporais mais cistina e tirosina do pacu é um pouco menor (51,38) do que o registrado para o jundiá (53,46) por Meyer e Fracalossi (2005), devido a ausência da determinação do conteúdo de triptofano na musculatura do pacu. Isso explica a maior diferença na estimativa de exigência da lisina para o pacu (23%) em relação ao jundiá (13%) quando comparadas as exigências destas espécies determinadas em experimentos dose-resposta.

Outra possível limitação do método de Meyer e Fracalossi (2005) é a utilização de exigências nutricionais de três espécies onívoras, o que restringe o uso deste método a espécies com mesmo hábito alimentar, uma vez que em geral espécies carnívoras apresentam exigência em AAE superiores às onívoras (ZHOU, Q-C. et al., 2007). Outra limitação geral destes métodos para estimar a exigência em AAE em peixes (ARAI, 1981; TACON, 1987; MEYER; FRACALOSS, 2006) é o fato de considerarem que todos os AAE apresentam a mesma eficiência de uso e exigência de manutenção similar (BUREAU; ENCARNÇÃO, 2006; PERES; OLIVA-TELES, 2008). Entretanto, recentes estudos têm sugerido que diferentes AAE apresentam eficiência de uso distintas (BUREAU; ENCARNÇÃO, 2006).

A despeito da aparentemente limitada acurácia, a utilização do perfil de AAE corporais para estimar a exigência de AAE em peixes é ferramenta razoável para o uso de pesquisadores e da indústria, até que informações baseadas em experimentos dose-resposta estejam disponíveis. Esta afirmação justifica-se pelo grande número de espécies utilizadas na piscicultura, especialmente em ambientes neotropicais. Adicionalmente, a determinação de valores de digestibilidade e da eficiência de uso dos aminoácidos contribuirá para a formulação e processamento de dietas que maximizem a síntese protéica e reduzam a excreção de nitrogênio para o ambiente aquático.

3.5 Conclusões

É necessária a inclusão de nível ótimo de lisina (1,5% da dieta) para maximizar o desempenho do pacu. Embora o nível de lisina influencie as variáveis hematológicas da espécie, a deficiência ou excesso de lisina não prejudicaram a saúde dos peixes. O uso do perfil de AAE corporais para estimar a exigência de AAE em peixes só deve ser feita na ausência de dados experimentais.

Referências

- ABBOUDI, T.; MANBRINI, 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.
- ABIMORAD, E.G. **Digestibilidade e exigência de aminoácidos para juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus***. 2008. 83 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal, 2008.
- ABIMORAD, E.G.; SQUASSONI, G.H.; CARNEIRO, D.J. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 374-380, 2008.
- AHMED, I.; KHAN, M.A. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 235, p. 499-511, 2004.
- AKIYAMA, T.; OOHARA, I.; YAMAMOTO, T. Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 63, p. 963-970, 1997.
- ALAM, Md.S.; TESHIMA, S.-I.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance and biochemical parameters of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 68, p. 509-516, 2002a.
- ALAM, Md.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, n. 1/4, p. 359-369, 2002b.
- AMBARDEKAR, A.A.; REIGH, R.C. Sources and utilization of amino acids in channel catfish diets: a review. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 69, p. 174-179, 2007.
- ARAI, S. A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 47, p. 547-550, 1981.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. Methods of Analysis, 14th ed. Washington, 2000. p. 152-160.
- BERGE, G.E.; LIED, E.; SVEIER, H. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolism of arginine. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, 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 Part A**, New York, v. 120, p. 447-485, 1998.

BICUDO, A.J.A.; CYRINO, J.E.P. Estimating amino acid requirement of brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, 2008. In press.

BLAXHALL, P.C.; DAISLEY, K.W. Routine hematological methods for use with fish blood. **Journal of Fish Biology**, London, v. 5, p. 771-781, 1973.

BUREAU, D.P.; ENCARNANÇA, P.M. Adequately defining the amino acid requirements of fish: the case example of lysine. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, 8., 2006, Monterrey. **Anais eletrônicos...** Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León, 2006. Disponível em: <
<http://w3.dsi.uanl.mx/publicaciones/maricultura/viii/pdf/3Bureau.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2008.

CENTENO, L.; SILVA-ACUÑA, R.; BARRIOS, R.; LUGO, R.S.; MATUTE, C.; PÉREZ, J.L. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) em três etapas de crescimento cultivadas em el estado Delta Amacuro, Venezuela. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 25, n. 4, p. 237-243, 2007.

COLES, E.H. Função hepática. In: **Patologia Clínica Veterinária**. São Paulo: Editora Manole, 1984. cap. 11, p. 185-219.

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

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

DE SILVA, S.S.; GUNASEKERA, R.M.; GOOLEY, G. Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii* (Mitchell) and the Australian short-fin eel *Anguilla australis* Richardson. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 31, p. 195-205, 2000.

ENCARNANÇA, P.; DE 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.

ENCARNANÇA, P.; DE LANGE, C.; RODEHUTSCORD, M.; HOEHLER, D.; BUREAU, W.; BUREAU, D.P. Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 235, p. 569-586, 2004.

ESPE, M.; LEMME, A.; PETRI, A.; EL-MOWAFI, A. Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 263, p. 168-178, 2007.

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

FORSTER, 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.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; NEVES, P.R.; SILVA, L.C.R.; HAYASHI, C. Exigência em 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.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B.; BOTARO, D.; SILVA, L.C.; NEVES, P.R. Exigência de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 885-889, 2001.

FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R.; NEVES, P.R.; BOTARO, D.; HAYASHI, C.; SAKAGUTI, E.S.; FURUYA, V.R.B. Exigência de metionina + cistina para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1933-1937, 2004b.

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIOWS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 56, p. 35-39, 1971.

GÓMEZ-REQUENI, P.; MINGARRO, M.; CALDUCH-GINER, J. A.; MÉDALE, F.; MARTIN, S. A. M.; HOULIHAN, D. F.; KAUSHIK, S.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J. Protein growth performance, amino acid utilization and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 232, p. 493-510, 2004.

GRIFFIN, M.E.; WILSON, K.A.; BROWN, P.B. Dietary arginine requirement of juvenile hybrid striped bass. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 124, p. 888-893, 1994.

HRUBEC, T.C.; CARDINALE, J.L.; SMITH, S.A. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis Hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 29, p. 7-12, 2000.

KAUSHIK, S.J. Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. **Aquatic Living Resources**, Nantes, v. 11, p. 355-358, 1998.

KAUSHIK, S.J.; FAUCONNEAU, B. Effects of lysine administration on plasma arginine and on some nitrogenous catabolites in rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 79, p. 459-462, 1984.

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

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

LUO, Z.; LIU, Y-J.; MAI, K-S.; TIAN, L-X.; 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.

MACHADO, M.G.S.; SGARBIERI, V.C. Partial characterization and nutritive value of proteins from pacu (*Colossoma mitrei*, Berg 1895). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 39, p. 1715-1718, 1991.

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

MAMBRINI, M.; KAUSHIK, S.J. Indispensable amino acid requirements of fish – correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 11, p. 240-247, 1995.

MARCOULI, P.A.; ALEXIS, M.N.; ANDRIOPOULOU, A.; ILIOPOULOU-GEORGUDAKI, J. Dietary lysine requirement of juvenile seabream *Sparus aurata* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, p. 25-33, 2006.

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

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

MUÑOZ-RAMÍREZ, A.P.; CARNEIRO, D.J. Suplementação de lisina e metionina em dietas com baixo nível protéico para o crescimento inicial do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 909-916, 2002.

MURILO-GURREA, D.P.; COLOSO, R.M.; BORLÓNGAN, G.; SERRANO JR., A.E. Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass (*Lates calcarifer*). **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 17, p. 49-53, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 115p.

NATT, M.P.; HERRICK, C.A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, Champaign, v. 31, p. 735-738, 1952.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Lipids. In: _____. **Lehninger principles of biochemistry**. New York: W.H. Freeman and Company, 2005. chap. 10, p. 343-368.

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.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. 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.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 257, p. 283-290, 2008.

REDDY, P.K.; LEATHERLAND, J.F. Stress physiology. In: LEATHERLAND, J.F.; WOO< P.T.K. (Ed.). **Fish diseases and disorders**. Wallingford: CAB International, 1998. chap. 11, v.2 - Non-infectious disorders. p. 279-301.

REFSTIE, S.; FØRDE-SKJÆRVIK, O.; ROSENLUND, G.; RØRVIK, 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.

ROBBINS, K.R.; NORTON, H.W.; BAKER, D.H. Estimation of nutrient requirement from growth data. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 109, p. 1710-1714, 1979.

ROBINSON, E.H.; WILSON, R.P.; POE, W.E. Re-evaluation of the lysine requirement and lysine utilization by fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, p. 2313-2316, 1980.

ROBINSON, E.H.; WILSON, R.P.; POE, W.E. Arginine requirement and apparent absence of a lysine-arginine antagonism in fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 111, p. 46-52, 1981.

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. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 1166-1175, 1997.

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, 2000.

ROLLIN, X.; MAMBRINI, M.; ABOUDI, T.; LARONDELLE, Y.; KAUSHIK, S.J. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 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.

SANTIAGO, C.B.; LOVELL, R.T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, p. 1540-1546, 1988.

SCHUMACHER, 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.

SEAL, C.J.; PARKER, D.S. Inter-organ amino acid flux. In: D'MELLO, J.P.F. (Ed.). **Farm animal metabolism and nutrition**. Edinburgh: CAB International, 2000. chap. 3, p. 49-63.

SHEARER, K.D. Experimental design, statistical analysis and modeling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, p. 91-102, 2000.

SIMMONS, L.; MOCCIA, R.D.; BUREAU, D.P.; SIVAK, J.G.; HERBERT, K. Dietary methionine requirement of juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 5, p. 93-100, 1999.

SMALL, B.C.; SOARES JÚNIOR, J.H. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, p. 207-212, 2000.

TACON, A.G.J. **The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp: a training manual**. 1. The essential nutrients. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB470E/AB470E02.htm#ch2.6>>. Acesso em: 21 jul. 2008.

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

- TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M.I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, p. 157-162, 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. **Journal of Fish Biology**, London, v. 71, p. 383-388, 2007.
- TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.H.C.; MARTINS, M.L.; SILVA, E.D.; MORAES, F.R.; PERECIN, D. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária. I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, p. 337-342, 1999.
- TESSER, M.B.; TERJESSEN, 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, 443-453, 2005.
- TIBALDI, E.; TULLI, F.; LANARI, D. Arginine requirement and effect of different dietary arginine and lysine levels for fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 127, p. 2017-218, 1994.
- TWIBELL, R.G.; BROWN, P.B. Dietary arginine requirement of juvenile yellow perch. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 127, 1838-1841, 1997.
- URBINATTI, E.C.; GONÇALVES, F.D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. cap. 10, p. 225-246.
- VIEIRA, V.P.; INOUE, L.A.K.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 140, p. 337-342, 2005.
- WALTON, M.J.; COWEY, C.B.; ADRON, J.W. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 52, p. 115-122, 1984.
- WANG, S.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; XIE, M.-Q.; YANG, H.-J.; WANG, Y.; LIANG, G.-Y. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, p. 419-429, 2005.
- WHITE, J.A.; HART, R.J.; FRY, J.C. An evaluation of the waters pico-tag system for the amino-acid-analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, London, v. 8, n. 4, p. 170-177, 1986.
- WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Ed). **Fish Nutrition**. 3rd ed. New York: Academic Press, 2002. chap. 3, p. 144-179.

WILSON, R.P.; COWEY, C.B. Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 48, p. 373-376, 1985.

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

WINTROBE, M.M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig, v. 51, p. 32-49, 1934.

ZEITOUN, I.H.; ULLEREY, D.E.; MAGEE, W.T. Quantifying nutrient requirement of fish. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**, Vancouver, v. 33, p. 167-172, 1976.

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, 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.