EXIGÊNCIA EM LISINA PELO “BLACK BASS”
Micropterus salmoides

JONY KOJI DAIRIKI

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Ciência Animal e Pastagem.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Junho - 2005

EXIGÊNCIA EM LISINA PELO “BLACK BASS”
Micropterus salmoides

JONY KOJI DAIRIKI
Engenheiro Agrônomo

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

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Ciência Animal e Pastagem.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Junho - 2005

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

Dairiki, Jony Koji

Exigência em lisina pelo "Black Bass" / Jony Koji Dairiki. - - Piracicaba, 2005.
54 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.
Bibliografia.

1. Aminoácidos 2. Black Bass 3. Lisina 4. Nutrição animal 5. Peixe de água doce
6. Proteínas I. Título

CDD 639.3758

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

DEDICATÓRIA

“Aos meus queridos pais Yutaka e Margarida;

Aos meus queridos irmãos Ronny e Cristiane;

À minha Cintia Martins Alves”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, Mãe Maria e Jesus pela proteção e pela minha vida maravilhosa.

Agradeço aos meus amados pais Yutaka e Margarida pela educação, apoio, exemplo e por todo o carinho e amor ministrados durante toda a minha vida.

Agradeço aos meus queridos irmãos Ronny e Cristiane por todos os momentos de alegrias, travessuras e confidências.

Agradeço a minha amada Cintia Martins Alves por ser a razão do meu viver, minha eterna paixão e minha cara-metade.

Agradeço ao Professor José Eurico Possebon Cyrino, por toda a orientação e aprendizado ministrados e principalmente por sua amizade.

Agradeço ao amigo Leandro Portz pela ajuda na condução do experimento, análises laboratoriais e por sua amizade.

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo apoio imprescindível na condução da pesquisa.

Agradeço aos amigos da “mansão SS” Fábio Shiguelo Yokohama (Xivas), Ricardo Ucida (Gyodai), Fernando Choiti Oye (Dão), Ugo Jum Tabata (Jumanji), André Higuti (Glutios), Felipe Gunji Hirata (Po-q-mon), Alberto Sunao Stolfi (Jamanta), Augusto Seiji Tokunaga (Tokunada), Sérgio Henrique Takahashi Kimoto (Ki-morto), César Yuzo Kanashiro (Rashi), Eduardo M. Kawakami (K-idakma), Carlos Eduardo Takahashi Kimoto (7-Parmo), Davi Eidi Maeda (μ-çoxiro), Carlos Eduardo Ito (Απτο), Maurício Yamada (Otxá), Oscar Yuji Ichida (Fuçaro), Mauro Nakata (Édi), Ivan Sendo (Ktsumoto) e outros moradores por todos os bons momentos de vida em república.

Agradeço aos amigos Roberto Leach Pimentel (Tempero), Rodrigo Xavier da Silva (Tiradentis); Rafael Merighi Iftoda (Merengue), Luciando Van den Broek (Txau),

Henrique Mumme Harger da Silva (Logan), Jussiara Vendemiatti (Zik) e tantos outros pela ajuda, amizade e companhia.

Agradeço aos funcionários do setor de Piscicultura Ismael Baldessin Júnior e Sérgio Vanderlei Pena pela ajuda na condução do experimento e pela grande amizade.

Agradeço aos amigos da pós graduação do setor de Piscicultura Ana Maria, Andréa Costa, Daniela Bacconi, Geraldo Almeida, Pedro Gerhard, Gustavo Braga, Silvio Romero, Álvaro Bicudo, Ricardo Borghesi, Juliane Gaiotto, Anderson Ferreira e Ricardo Sado (Xoiú) por toda ajuda e grande amizade.

Agradeço aos amigos Giovanni Vitti Moro (Maπ), Daniel Henrique Branco Padrão (Inmetro), Gaspar Miura Yamasaki (Oba-q), Bruno (Patolino), Gustavo (Du) e outros estagiários do setor de Piscicultura pela ajuda prestada e amizade.

Agradeço ao amigo Rodolfo Nardez Sirol e todos os amigos da Duke Energy Internacional que me apoiaram e me incentivaram na continuação dos estudos.

Agradeço aos professores José Fernando M. Menten, Valdomiro S. Miyada, Carlos Tadeu dos Santos Dias, Marília Oetterer, Margarida M. Barros e Elisabete M. M. Viegas pelos ensinamentos prestados, colaboração e amizade.

Agradeço ao amigo Ricardo Franklin de Mello (Koliforme) pela ajuda na obtenção dos ingredientes da ração experimental e amizade.

Agradeço aos amigos Laerte, Clarissa, Rafael, Tércio (Fiat) e Eduardo (Mac) pelo companheirismo nas aulas da pós-graduação.

Agradeço à amiga Eliana pela rapidez e eficiência na correção das referências bibliográficas.

Agradeço por fim a todos os demais amigos que não por falta de lembrança e sim por falta de espaço físico na folha de impressão não puderam ser citados.

Sem a contribuição de todos vocês, com toda a certeza, este humilde trabalho não poderia ser realizado. Obrigado mesmo!

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 O “black bass”	3
2.2 Nutrição de peixes – exigências em proteínas	4
2.3 O conceito de proteína ideal e seu uso	7
2.4 A lisina como aminoácido referência	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Relação energia : proteína	20
4.2 Qualidade de água	20
4.3 Desempenho	21
4.4 Regressão polinomial	23
4.5 Método da regressão segmentada	29
4.6 Relação A/E de aminoácidos	35

4.7 Modelo matemático de Liebert et al. (2000)	39
4.8 Sobrevivência	41
4.9 Relação hepato-somática (RHS)	42
5 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
APÊNDICE	53

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Curva de regressão quadrática ajustada para a variável peso final	24
2 Curva de regressão quadrática ajustada para a variável ganho de peso absoluto (GPa)	24
3 Curva de regressão quadrática ajustada para a variável ganho de peso relativo (GPr)	25
4 Curva de regressão linear ajustada para a variável consumo de ração	26
5 Curva de regressão cúbica ajustada para a variável conversão alimentar (CA)	27
6 Curva de regressão quadrática ajustada para a variável taxa de crescimento específico (TCE)	28
7 Regressões para as médias de peso final (PF) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆)	30
8 Regressões para as médias de ganho de peso absoluto (GPa), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆)	31
9 Regressões para as médias de ganho de peso relativo (GPr), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□), (B) polinomial (◆)	31

10	Regressões para as médias de conversão alimentar (CA), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada ($\square$), (B) polinomial ($\blacklozenge$)	33
11	Regressões para as médias de taxa de crescimento específico (TCE), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada ($\square$), (B) polinomial ($\blacklozenge$)	34

LISTA DE TABELAS

Página

1	Composição químico-bromatológica do músculo de tilápia do Nilo	14
2	Composição da mistura de aminoácidos sintéticos e filé de tilápia do Nilo	15
3	Formulação da ração semipurificada experimental	16
4	Composição químico-bromatológica das rações experimentais	17
5	Composição em aminoácidos das rações experimentais	17
6	Médias dos parâmetros de qualidade da água durante o experimento	21
7	Parâmetros de desempenho dos alevinos de “black bass” alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina	22
8	Relação A/E e exigências nutricionais estimadas dos aminoácidos essenciais	37
9	Comparação entre as exigências nutricionais em aminoácidos determinadas para várias espécies	38

EXIGÊNCIA EM LISINA PELO “BLACK BASS” *Micropterus salmoides*

Autor: JONY KOJI DAIRIKI

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ EURICO POSSEBON CYRINO

RESUMO

Os elevados custos atribuídos à nutrição na piscicultura ligam a eficiência alimentar ao sucesso da atividade e à redução do impacto ao meio ambiente. Estudos sobre a nutrição e determinação de exigências nutricionais em aminoácidos são, portanto, ferramentas importantes para a consolidação da piscicultura comercial racional e com viabilidade econômica. A determinação da exigência em lisina para o “black bass” *Micropterus salmoides* foi feita em ensaio de dose-resposta e os dados coletados foram analisados por meio de três modelos estatísticos: regressão polinomial, regressão segmentada e modelagem matemática específica, para estimar a utilização e exigência dos aminoácidos. Foi utilizada a relação $A/E = [(aminoácido\ essencial \div total\ de\ aminoácidos\ essenciais + cistina + tirosina) \times 1.000]$, para estimar as exigências nutricionais dos demais aminoácidos essenciais em relação à lisina determinada no experimento dose-resposta. As unidades experimentais foram constituídas por lotes de 25 alevinos de black bass ($1,29 \pm 0,03$ g; $4,35 \pm 0,17$ cm) condicionados a aceitar ração seca, alojados em gaiolas de PVC atóxico (abertura de malha 5 mm) com capacidade de 60 L e instaladas em caixas de polipropileno com capacidade de 1.000 L, com troca parcial de água num sistema fechado de recirculação e aeração. Os tratamentos correspondiam aos níveis crescentes de lisina: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5% na dieta

(n=4), num delineamento inteiramente aleatorizado (DIA). O modelo estatístico da regressão segmentada foi o modelo mais apropriado para determinação da exigência dietética de lisina para os alevinos de black bass em experimento dose-resposta. A exigência dietética em lisina para peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico foi de 2,1% da dieta ou 4,9% da proteína dietética. A exigência dietética de 1,69% de lisina na dieta ou 3,9% de lisina na proteína condicionou o melhor índice de conversão alimentar. O uso do perfil de aminoácidos corporais do black bass foi adequado como referência para estimar as exigências nutricionais de aminoácidos.

LYSINE REQUIREMENTS OF LARGEMOUTH BASS

Micropterus salmoides

Author: JONY KOJI DAIRIKI

Adviser: Prof. Dr. JOSÉ EURICO POSSEBON CYRINO

SUMMARY

Adequate nutrition of fish stocks interconnects fish feeding efficiency, profitability and mitigation of environmental impact of fish farming. Knowledge on amino acids requirement of farmed fish boosts rationalization and profitability of fish farming systems. This study compares estimation of amino acids requirements of largemouth bass *Micropterus salmoides* from data of lysine dose-response trials, analyzed through different statistical models: polynomial regression, broken-line analysis and specific mathematical modeling. Amino acids requirements were estimated through the A/E relationship [$A/E = (\text{essential amino acid} \div \text{total essential amino acids} + \text{cystine} + \text{tyrosine}) \times 1.000$]. Groups of 25, feed-conditioned largemouth bass fingerlings (1.29 ± 0.03 g; 4.35 ± 0.17 cm), were stocked in 60-L cages (5 mm mesh) placed in 1,000-L plastic, indoor tanks, closed circulation system, and fed diets containing 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, or 3.5% lysine, in a totally randomized experimental design trial ($n = 4$). The broken-line analysis method yielded more reliable and precise estimations of lysine requirements – 2.1% of diet or 4.9% dietetic protein – for final weight, weight gain and specific growth rate. Best feed conversion ratio was attained with 1.69% lysine in the diet or 4.9% lysine in dietetic protein. Body amino acids profile was an adequate reference for estimation of largemouth bass amino acids requirements.

1 INTRODUÇÃO

Avanços recentes no projeto dos sistemas e definição dos regimes e estratégias de produção de peixes exigem que a piscicultura brasileira seja conduzida de forma mais intensiva, aliando as tecnologias desenvolvidas e recursos humanos e materiais. Estudos ligados à nutrição, manejo, reprodução e comercialização são imprescindíveis para o sucesso da criação e sustentabilidade da atividade.

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

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

Nestas circunstâncias, como ferramenta principal de produção, a nutrição de peixes assume extrema importância. No Brasil ainda são poucos os estudos e escasso o conhecimento sobre a nutrição das espécies de peixes, nativas ou introduzidas, de importância econômica. Este trabalho representa um esforço neste sentido. O objetivo deste estudo é determinar a exigência em aminoácidos na nutrição do “black bass”, *Micropterus salmoides*, espécie carnívora introduzida no país na década de 1920

(Godoy, 1954), utilizando o conceito de proteína ideal e o uso de aminoácidos cristalinos, validados em ensaio dose-reposta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O “black bass”

Apesar das comunidades nativas de peixes apresentarem alta diversidade, a seleção de espécies para aquicultura é um problema, devido à falta de conhecimento e tecnologia adequada para a criação da maioria destas espécies. Por isso, a introdução de peixes exóticos nas bacias hidrográficas foi largamente praticada num passado muito recente. Apenas na bacia do Rio Grande, foram introduzidas e re-introduzidas várias espécies de peixes carnívoros como os exóticos “black bass” *Micropterus salmoides* (Lacépède, 1802) (Godoy, 1954), a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, e o nativo tucunaré *Cichla monoculum* (Santos et al., 1994).

Embora potencialmente danosas à biodiversidade e à conservação dos recursos pesqueiros autóctones, estas espécies carnívoras são muito procuradas pelos praticantes da pesca esportiva (Kubitza et al., 1997; Kubitza & Lovshin, 1997). No Brasil, a consorciação do black bass com a tilápia é muito praticada para fins do controle populacional sendo que os alevinos de tilápia servem como espécie forrageira na alimentação do black bass (Castagnolli, 1992). Entretanto, com o desenvolvimento de técnicas de treino alimentar e seu posterior aprimoramento (Lovshin & Rushing, 1989; Sloane, 1993), abriu-se uma nova dimensão na exploração comercial do “largemouth bass”, o mesmo black bass introduzido no país, principal espécie da indústria de pesca esportiva nos Estados Unidos, onde é produzida a partir de alimento comercial (Lovshin & Rushing, 1989).

De acordo com Portz (2001), as pesquisas sobre alimentação e nutrição de peixes carnívoros são centradas em trabalhos com os Centrarchídeos, espécies consideradas modelos para aplicação e aprimoramento de novas técnicas, avaliação da

qualidade nutricional de ingredientes e avaliação do potencial produtivo de espécies carnívoras. As informações sobre exigências nutricionais de Centrarchídeos são de fundamental importância para maior precisão e eficiência na formulação de rações para peixes.

O black bass é uma espécie de hábito diurno que apresenta melhor desempenho quando produzido em ciclo contínuo de luz (Petit et al., 2003), e que tolera altas amplitudes térmicas (Lever, 1996). Tidwell et al. (1996) determinaram que o desempenho ótimo de adultos de black bass ocorre quando são alimentados com 47 % de proteína bruta (PB) na dieta. Entretanto, juntamente com o melhor desempenho, foram verificadas altas taxas de excreção de amônia e outros compostos nitrogenados. Desta forma, o nível de 44 % PB na dieta resultou num desempenho próximo ao nível de 47 %, porém, com menores descargas de poluentes.

A despeito de o black bass ser reconhecido como excelente modelo para estudos de nutrição de peixes carnívoros, à exceção de trabalhos recentes de Portz & Cyrino (2003; 2004), existem poucas informações referentes à avaliação de fontes e à definição das exigências em aminoácidos para a espécie. Estas informações seriam de fundamental importância para formulação de rações ideais para o crescimento e perfeito funcionamento de todas as reações bioquímicas e fisiológicas da espécie.

2.2 Nutrição de peixes – exigências em proteínas

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

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

As proteínas são os principais constituintes orgânicos do tecido dos peixes, perfazendo 65 a 75% do total da matéria seca corporal. As diferentes fontes protéicas não são idênticas nutricional e biologicamente. O valor biológico de uma proteína varia com a composição dos aminoácidos e suas respectivas disponibilidades. A deficiência ou baixa disponibilidade de aminoácidos essenciais leva a pobre utilização da proteína e, conseqüentemente, menor crescimento e diminuição da eficiência alimentar dos peixes (Anderson et al., 1995; Masumoto et al., 1996).

Os peixes consomem proteínas na forma de alimento para obter aminoácidos. Os aminoácidos são exigidos pelos peixes basicamente para dois propósitos: primeiramente, para os processos que compreendem a manutenção da vida animal e segundo, para o crescimento, que consiste principalmente na deposição de proteína (Cowey, 1994).

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

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

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

A farinha de peixe, principal fonte protéica utilizada na formulação de dietas para aquicultura, contém 51 a 72% de proteína bruta e 1,67 a 4,21% de fósforo. A farinha de peixe é considerada alimento padrão em ensaios experimentais em função de seu elevado valor biológico, consequência de seu equilíbrio em aminoácidos, níveis de Ca e P e níveis de vitaminas lipo e hidrossolúveis (Pezzato, 1995; Masumoto et al., 1996).

As fontes protéicas de origem vegetal, normalmente apresentam menor digestibilidade, são deficientes em metionina e lisina, e podem apresentar alguns fatores antinutricionais. Entretanto, apresentam-se como opção mais econômica para a confecção de dietas. O farelo de soja, subproduto resultante da extração de óleo do grão de soja *Glycine max* (L.), apresenta razoável balanço de aminoácidos e pode substituir até 50% da farinha de peixe em dietas para trutas e 94% para espécies onívoras. O farelo de soja é o ingrediente mais estudado como fonte protéica vegetal para peixes, contém 44,8 a 50% de proteína e somente 0,6 a 0,7% de fósforo (Butolo, 2002; NRC, 1993).

O uso de fontes vegetais na formulação de rações permite a obtenção de dietas menos poluentes e mais econômicas, pois, além da alta concentração de fósforo, a farinha de peixe é um ingrediente caro, tem baixa padronização de produção e está relacionada às capturas, que estão diminuindo com a redução dos estoques pesqueiros. Cheng et al. (2003b) relatam que nos anos em que ocorre o fenômeno “El Niño”, a produção de farinha de peixe decresce 20 %, evidenciando a estreita relação da produção de farinha de peixe com as capturas mundiais.

Furuya (2000) observou que uma ração com fonte protéica exclusivamente vegetal (farelo de soja), formulada com base no conceito de proteína ideal, proporcionou excelente resultado de desempenho em tilápias, quando além dos aminoácidos cristalinos, a quantidade de fósforo exigida pela espécie foi suprida com o uso de fosfato bicálcico. Portz & Cyrino (2004) demonstraram que as proteínas vegetais podem ser usadas em rações para o black bass, consequentemente diminuindo a dependência de farinha de peixe como fonte primária de proteína e com isso reduzindo o custo final da

ração. Porém, pesquisadores alertam pelo fato das proteínas vegetais possuírem menores quantidades de lisina, metionina, treonina e triptofano se comparados às fontes protéicas de origem animal. Além das baixas concentrações destes aminoácidos, farelos de origem vegetal precisam sofrer bom processamento para destruição dos fatores antinutricionais, que podem prejudicar o desempenho dos peixes (Webster et al., 1995).

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

Em contrapartida, Davies & Morris (1997) observaram piora no desempenho de trutas arco-íris alimentadas com dietas em que 66% da farinha de peixe era substituída por farelo de soja, mesmo com suplementação de aminoácidos cristalinos. Também Mambrini et al. (1999) relataram que a substituição total da farinha de peixe por concentrado protéico de soja com suplementação de DL-metionina resultou em menor crescimento de trutas arco-íris.

É evidente a importância da proteína animal e a necessidade de maiores estudos relacionados às fontes protéicas vegetais, sua digestibilidade e disponibilidade de aminoácidos em rações para peixes. Em adição, é recomendável que os aminoácidos sejam descritos como relações expressas em termos de digestibilidade, ao invés de aminoácidos totais, principalmente quando são incluídos ingredientes não convencionais, especialmente de origem vegetal, em uma dieta (Anderson et al., 1995).

2.3 O conceito de proteína ideal e seu uso

Fatores como níveis de energia e de proteína bruta dietética, idade dos peixes, espécie, hábito alimentar, sexo, variabilidade genética, fontes de proteína, presença de aminoácidos cristalinos na dieta, formulação da dieta, práticas de alimentação, condições

de criação e mesmo o delineamento de ensaios resultam em variações nas exigências nutricionais. Pela dificuldade em executar inúmeros experimentos com testes de dose-resposta para quantificação individual de cada aminoácido essencial, nutricionistas desenvolveram a técnica ou conceito de proteína ideal – relações ideais de aminoácidos como base para cálculo dos perfis de aminoácidos dietéticos – para solucionar este problema de determinação de exigências (Wang & Fuller, 1989; Moon & Gatlin III, 1991; Chung & Baker, 1992; NRC, 1993 e Ruchimat et al., 1997).

O conceito de proteína ideal foi inicialmente descrito por Mitchell e colaboradores na década de 60 (Parsons & Baker, 1994). Resumidamente, o conceito define que existe uma combinação de aminoácidos ou proteína que é completa e prontamente disponível na digestão e metabolismo dos alimentos, e que esta combinação pode ser idêntica à composição (perfil) em aminoácidos do corpo e às exigências do animal para crescimento e manutenção das atividades metabólicas.

Para ser considerada ideal, uma proteína ou combinação de proteínas não deve apresentar excesso ou deficiência de aminoácidos (Pezzato et al., 2004). Todos os 20 aminoácidos devem estar presentes na dieta em quantidades precisas e nos níveis exigidos para máxima deposição corporal, além de suprir os gastos com manutenção. Na elaboração deste conceito, preposto básico na nutrição de animais monogástricos, todos os aminoácidos essenciais são expressos como taxas ideais ou porcentagem de um aminoácido referência, normalmente o mais limitante. Uma vez determinado o aminoácido mais limitante, a exigência dietética para todos os aminoácidos pode ser rapidamente estimada (Wilson, 1989).

Várias referências protéicas podem ser utilizadas como padrão de aminoácidos, e.g. a proteína de ovo de galinha, tecido ovariano, ovas, músculo ou carcaça de peixe (Rollin et al., 2003). Para formular dietas testes para alevinos de salmão, Arai (1981) introduziu a relação A/E, definida como a relação entre o conteúdo de cada aminoácido essencial e o total de aminoácidos essenciais na carcaça, incluindo cistina e tirosina, multiplicado por 1.000, e observou que peixes alimentados com as dietas formuladas segundo este conceito apresentavam maior crescimento e melhor eficiência alimentar.

Para Small & Soares Jr (1998), o perfil de aminoácidos do tecido muscular de “striped bass” *Morone saxatilis*, expressos como relação A/E, têm alta similaridade com as exigências nutricionais desta espécie. Sendo assim, os autores consideraram que usando esta metodologia, rações nutricionalmente adequadas, que não subestimam as exigências em aminoácidos ou incorporam proteína em excesso, podem ser rapidamente formuladas, reduzindo custos e tempo para o desenvolvimento e produção de rações para novas espécies. Em contrapartida, Alam et al. (2002a) relataram que o uso do perfil de aminoácidos da carcaça de larvas e juvenis de linguado japonês e perfil de aminoácidos das ovas de “red sea bream” *Pagrus major* condicionaram menor desempenho de juvenis de linguado japonês *Paralichthys olivaceus*, se comparado a dietas com o perfil de aminoácidos da farinha de peixe comum.

De acordo com Gunasekera et al. (1997), o perfil de aminoácidos encontrado nos oócitos de fêmeas de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* mantém-se constante, mesmo que o nível de proteína na ração das fêmeas esteja abaixo da exigência nutricional da espécie. Em compensação, tecidos musculares de peixes alimentados com dietas pobres em proteína apresentam baixos níveis de aminoácidos. Desta forma, não basta determinar o perfil de aminoácidos de qualquer animal para definir o perfil de aminoácidos dietéticos; é necessário verificar e garantir que os animais utilizados para análise de aminoácidos e definição do perfil dos aminoácidos dietéticos, peixes em particular, estejam em bom estado de nutrição. De qualquer forma, a caseína, a gelatina, farinha de peixe, farelo de glúten de milho, farelo de glúten de trigo, farelo de soja, farelo de milho e tecido muscular de peixes são as principais fontes de proteína intacta utilizadas como padrões de perfis de aminoácidos (Griffin et al., 1992; Borlongan & Coloso, 1993; Ruchimat et al., 1997; Tibaldi & Tulli, 1999; Small & Soares Jr, 2000).

Aminoácidos livres são rapidamente digeridos e absorvidos, muitas vezes em grande quantidade, sendo o excesso eliminado via catabolismo e produção de amônia. Desta forma, aminoácidos livres podem ser utilizados pelos peixes menos eficientemente que os aminoácidos ligados à fonte de proteína, e para evitar a perda de aminoácidos livres, o fornecimento restrito de ração e o aumento no número de refeições diárias (e.g. intervalos de 3 horas), podem reduzir a perda de aminoácidos livres (Rodehutscord et

al., 2000b). De fato, Tibaldi et al. (1994) relataram que oito refeições diárias melhoraram a utilização dos aminoácidos cristalinos e crescimento dos alevinos de “sea bass” *Dicentrarchus labrax*. A conclusão dos autores foi ratificada pelos resultados da análise de aminoácidos livres no sangue, que revelou que os aminoácidos permaneceram em níveis estáveis com a alta frequência de arraçoamento. Os resultados de Li & Robinson (1998), que alimentando juvenis de bagre do canal *Ictalurus punctatus* apenas uma única vez ao dia não observaram melhor desempenho dos peixes arraçados com suplementação de aminoácidos cristalinos, corroboram as observações de Tibaldi et al. (1994). Resultados de Zarate & Lovell (1997), que relataram que a eficiência de utilização da lisina ligada à fonte protéica em relação ao desempenho de juvenis de bagre do canal *Ictalurus punctatus*, é cerca de 197% e superior àquela de juvenis alimentados com aminoácidos livres, confirmam as observações de Li & Robinson (1998).

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

Zarate & Lovell (1997) verificaram que depois de 15 segundos em contato com a água, 13% da lisina presente em dietas formuladas para bagre do canal *Ictalurus punctatus* na forma de lisina livre é perdida, enquanto que em dietas contendo lisina ligada à fonte de proteína, a perda é de apenas 2%. Para evitar a lixiviação de aminoácidos cristalinos, Tibaldi et al. (1994), Berge et al. (1997) e Rollin et al. (2003) recomendam o uso de caseína ou ágar como revestimento. Outra vantagem do uso destes produtos é o efeito de retardamento na absorção dos aminoácidos cristalinos no sistema digestório dos peixes. Alam et al. (2002a) recomendam o revestimento das rações com carboximetilcelulose para evitar a lixiviação.

A forma química dos aminoácidos pode também influenciar a determinação das exigências nutricionais. Os aminoácidos cristalinos, com exceção de triptofano e

metionina, geralmente estão disponíveis antes na forma levorotatória (L) que na forma dextrorotatória (D). Arentson & Zimmerman (1985) destacam que o triptofano na forma D-triptofano é um isômero não natural, com valor nutritivo de apenas 70%, se comparada à forma L-triptofano (100%) no desempenho de leitões desmamados.

2.4 A lisina como aminoácido referência

Griffin et al. (1992) e Schuhmacher et al. (1997) consideram que a lisina é o aminoácido mais limitante em alimentos para peixes tropicais. Segundo o NRC (1993), a exigência em lisina para peixes varia entre 5,0 a 6,8% da proteína dietética, sendo os valores mais altos normalmente relacionados a peixes carnívoros. De fato, Coyle et al. (2000) relataram que a exigência em lisina do black bass é de 2,8% da dieta ou 6,0% da proteína dietética.

Níveis deficientes de lisina em dietas para truta arco-íris causam, principalmente, depressão na taxa de formação do colágeno (Steffens, 1989). As fontes de proteína utilizadas nas rações de peixes devem conter níveis adequados de lisina para cada espécie, caso contrário, esta deverá ser suplementada na dieta. Níveis adequados de lisina melhoram consideravelmente a taxa de sobrevivência e crescimento do peixe além de prevenir mortes por erosões na nadadeira caudal e deformações nas nadadeiras dorsal, peitoral e ventral (Halver, 1989; Keembiyehetty & Gatlin III, 1992).

A lisina é o aminoácido mais importante entre os aminoácidos essenciais e pode ser utilizado como aminoácido referência porque (a) é um aminoácido estritamente essencial, não apresentando nenhuma via de síntese endógena; (b) ao contrário dos aminoácidos sulfurosos, possui metabolismo básico e único orientado para deposição de proteína corporal; (c) as análises laboratoriais para determinação dos seus níveis nos ingredientes, rações e tecidos são bastante precisas (Miyada, 2001). De fato, Rodehutscord et al. (2000b) observaram que a lisina na forma de aminoácido cristalino L-lisina-HCl é 100% disponível para trutas arco-íris e a suplementação de lisina pode aumentar a concentração de proteína e diminuir a concentração de lipídios corporal, fenômeno interessante no ponto de vista de produção de alimento mais saudável. Em outra pesquisa, comparando formas de lisina, Rodehutscord et al. (2000a) verificaram

que trutas arco-íris alimentadas com dietas contendo L-lisina sulfato também apresentam desempenho otimizado, ou seja, ambas as formas de lisina cristalinas, obtidas por fermentação bacteriana são, aparentemente, prontamente disponíveis para peixes.

A lisina cristalina pode ser obtida por fermentação (80% do total produzido) e por síntese química (20% restantes). Coello et al. (2003) demonstraram que a silagem de peixe – obtida a partir de resíduos de cabeça, nadadeiras, fragmentos de esqueleto e carcaças – adicionada de carboidratos pode ser eficiente substrato para produção de L-lisina por fermentação da bactéria *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21543. Assim, ao invés de usar extrato comum – fontes de carbono, nitrogênio e nutrientes inorgânicos – pode-se obter L-lisina por meio do uso de subprodutos do processamento de peixes, extremamente baratos e de fácil produção.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes do Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, *campus* “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°42’30”S 47°38’00”W; altitude 546 m). As unidades experimentais foram constituídas por lotes de 25 alevinos de black bass ($1,29 \pm 0,03$ g; $4,35 \pm 0,17$ cm) condicionados a aceitar ração seca e adaptados às condições experimentais por uma semana. Os peixes foram alojados em gaiolas de PVC atóxico, abertura de malha 5 mm, com capacidade de 60 L, instaladas em seis caixas de polipropileno com capacidade de 1.000 L, com troca parcial de água num sistema fechado de recirculação e aeração forçada por soprador e pedras difusoras. Os parâmetros de qualidade de água foram monitorados eletronicamente duas vezes por semana (oxímetro YSI Mod. 55; potenciômetro TEXTO Mod. 230).

As rações experimentais foram formuladas com base no conceito de proteína ideal. A fonte de proteína intacta escolhida para compor as rações experimentais foi o filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), moído e liofilizado (Tabela 1). O perfil de aminoácidos do filé e ovas de black bass (Portz, 2001) foi utilizado como perfil de referência e o teor de proteína na dieta foi mantido em 43,6%, segundo recomendações de Portz et al. (2001) e Ruchimat et al. (1997). A partir do resultado da análise do filé de tilápia, aminoácidos sintéticos foram utilizados com a finalidade de igualar o perfil de aminoácidos às proporções encontradas no filé ou ovas de black bass, seguindo método alternativo citado por De Silva & Anderson (1995), com base no conceito de proteína ideal (Tabela 2).

Tabela 1. Composição químico-bromatológica do músculo de tilápia do Nilo.

Nutriente	Unidade	Valor
Umidade e voláteis	%	1,10
Energia bruta	cal g ⁻¹	5.472,00
Proteína bruta	%	78,01
Extrato etéreo	%	11,00
Matéria mineral	%	4,96
Cálcio	%	0,21
Fósforo total	%	1,12
<i>Aminoácidos</i>		
Arginina	%	4,36
Histidina	%	1,55
Isoleucina	%	3,22
Leucina	%	5,89
Lisina	%	6,34
Metionina	%	2,18
Cistina	%	0,60
Fenilalanina	%	3,32
Tirosina	%	2,65
Treonina	%	3,25
Triptofano	%	0,44
Valina	%	3,50
Alanina	%	4,42
Glicina	%	3,70
Prolina	%	7,02
Serina	%	2,78
Ácido aspártico	%	7,51
Acido glutâmico	%	11,02

Tabela 2. Composição da mistura de aminoácidos sintéticos e filé de tilápia do Nilo.

Aminoácidos sintéticos	Referência para 43% PB na dieta	Perfil de aminoácidos *	15,77% de filé de tilápia do Nilo	Mistura de aminoácidos	Total
				%	%
Arginina	3,86 ^{2/}	4,36	0,6876	3,17	3,86
Glicina	1,96 ^{1/}	3,70	0,5835	1,38	1,96
Histidina	1,01 ^{1/}	1,55	0,2444	0,77	1,01
Isoleucina	1,70 ^{1/}	3,22	0,5078	1,19	1,70
Leucina	3,78 ^{2/}	5,89	0,9289	2,85	3,78
Lisina	4,02 ^{1/}	6,34	1,0000	0,00	1,00
Metionina	1,35 ^{1/}	2,18	0,3438	1,01	1,35
Cistina	0,48 ^{2/}	0,60	0,0946	0,39	0,48
Fenilalanina	1,81 ^{1/}	3,32	0,5236	1,29	1,81
Tirosina	1,59 ^{2/}	2,65	0,4179	1,17	1,59
Serina	2,60 ^{2/}	2,78	0,4384	2,19	2,60
Treonina	2,14 ^{2/}	3,25	0,5125	1,63	2,14
Triptofano	0,44 ^{2/}	0,44	0,0694	0,37	0,44
Valina	2,63 ^{2/}	3,50	0,5520	2,08	2,63
Prolina	2,14 ^{2/}	7,02	1,1071	1,03	2,14
Alanina	3,09 ^{2/}	4,42	0,6970	2,39	3,09
Mistura				22,91	
Asp/Glu				4,92	
Filé				15,77	
Total PB				43,60	

* Tabela 1

^{1/} Filé de black bass.^{2/} Ovas de black bass.

Dietas experimentais semipurificadas (NRC, 1993), isoprotéicas e isoenergéticas, foram preparadas por meio de granulação por pelletização, de modo a conter níveis crescentes de lisina – 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5% da dieta – considerados os tratamentos de um delineamento experimental inteiramente aleatorizado (DIA; n = 4). Antes da granulação a mistura de aminoácidos sintéticos foi homogeneizada separadamente em misturador tipo “Y”. Posteriormente todos os ingredientes da ração experimental foram homogeneizados em batedeira planetária, adicionados de 20% de água e granulados em moedor industrial. Os grânulos foram secos em estufa de circulação forçada (22 horas; 45°C) e armazenados em supercongelador vertical (-20°C).

Os grânulos secos foram moídos e separados em lotes de tamanho uniforme 1 a 2 mm por meio de conjunto de peneiras. Embalagens com dietas para uso imediato foram pesadas e mantidas em refrigerador ($\pm 5^{\circ}\text{C}$). O controle do consumo de ração foi feito por meio da pesagem das sobras de alimento nos recipientes relativos a cada unidade experimental.

Tabela 3. Formulação da ração experimental semipurificada.

Ingredientes	Quantidade
	%
Músculo de tilápia	15,77
Mistura de aminoácidos	22,91
Dextrina	30,66
Óleo de peixe	7,50
Mistura mineral ^{1/}	4,00
Mistura vitamínica ^{2/}	3,00
Carboximetilcelulose	2,00
Fosfato bicálcico	1,00
Celulose	8,24
Asp/Glu ^{3/}	4,92
L-lysine HCl	0,00
Total	100,00

^{1/} Níveis de garantia da mistura mineral (Supre Mais[®]) por kg de produto: Ca 11,42 %; P 9,57 %; K 10,78 %; Mg 1,30 %; S 1,83 %; Na 3,30 %; Cl 14,62 %; Fe 3.000 ppm; Cu 424,89 ppm; Zn 3.750,04 ppm; I 22,49 ppm; Mn 746,52 ppm; Se 15 ppm; Co 5,01 ppm e Cr 1,98 ppm.

^{2/} Níveis de garantia da mistura vitamínica (Supre Mais[®]) por kg de produto: vit. A 290.000 UI; vit. D₃ 143.500 UI; vit. E 5.700 mg; vit. K₃ 143,82 mg; tiamina (B₁) 334,42 mg; riboflavina (B₂) 667,20 mg; riacina 1.333,53 mg; piridoxina 666,63 mg; ácido pantotênico 1.334 mg; biotina 34 mg; ácido fólico 67 mg; cianocobalamina 1.000 µg e ácido ascórbico (vit. C) 999,85 mg.

^{3/} Mistura de ácido aspártico e ácido glutâmico, utilizada para ajuste da quantidade de nitrogênio (proteína) em todas as dietas.

Amostras das rações experimentais confeccionadas foram enviadas ao Institute of Animal Physiology and Animal Nutrition, College of Agriculture, George-August University, Göttingen, Germany, para determinação dos teores de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, lipídio bruto, fibra bruta, energia, e do perfil de aminoácidos (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Composição químico-bromatológica das rações experimentais.

Tratamento	Matéria seca	Matéria mineral	Proteína bruta ^{1/}	Lipídio bruto ^{1/}	Fibra bruta	Energia ^{2/}
% lisina	%	%	%	%	%	MJ kg ⁻¹
1,0	95,4806	6,42	43,22	9,18	4,21	18,88
1,5	95,7867	6,41	43,16	9,34	4,16	19,07
2,0	95,8889	6,39	43,29	9,37	4,36	18,91
2,5	95,6107	6,40	43,06	9,14	4,11	19,02
3,0	95,6665	6,39	43,04	9,27	4,16	19,08
3,5	95,5331	6,41	43,46	9,12	4,15	19,02

^{1/} Matéria seca.^{2/} Matéria original.

Tabela 5. Composição em aminoácidos das rações experimentais.

	Dietas					
	1	2	3	4	5	6
MS	95,4806	95,7867	95,8889	95,6107	95,6665	95,5331
Aminoácidos ^{1/}						
Arg	3,48	3,46	3,47	3,48	3,51	3,50
His	1,00	0,98	0,99	0,98	0,99	1,02
Iso	1,74	1,69	1,70	1,71	1,71	1,73
Leu	3,76	3,79	3,80	3,81	3,81	3,78
Lis	1,16	1,65	1,99	2,46	3,05	3,49
Met	1,40	1,40	1,43	1,39	1,41	1,38
Fen	1,70	1,68	1,67	1,68	1,70	1,69
Tre	2,16	2,15	2,18	2,17	2,15	2,15
Trp	0,45	0,48	0,43	0,45	0,45	0,46
Val	2,56	2,61	2,58	2,57	2,58	2,58
Asp	2,46	2,45	2,41	2,45	2,44	2,44
Glu	2,58	2,56	2,57	2,58	2,57	2,59
Ala	3,11	3,15	3,13	3,11	3,13	3,13
Cis	0,51	0,54	0,52	0,52	0,53	0,54
Gli	1,90	1,92	1,91	1,90	1,94	1,91
Ser	2,72	2,74	2,75	2,74	2,76	2,74
Pro	2,16	2,18	2,18	2,20	2,17	2,15
Tir	1,58	1,56	1,59	1,60	1,58	1,59
Total	36,43	36,99	37,30	37,80	38,48	38,87

^{1/} % da matéria original.

Por meio de ferramenta eletrônica EDGAR (2003), foi feita a aleatorização das unidades experimentais. Na biometria inicial os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (50mg 10 L⁻¹ água), pesados em lotes homogêneos de 25 peixes e

alojados nas unidades experimentais, a exemplo de procedimentos adotados por Moon & Gatlin III (1991) para estudos semelhantes. Os peixes foram alimentados *ad libitum* por 62 dias em duas refeições (07h00m e 16h00m), segundo recomendações de Keembiyehetty & Gatlin III (1992). O fotoperíodo utilizado foi de 14 horas luz: 10 horas escuro, mantido por 8 lâmpadas de halogênio de 370W, controladas por temporizador, segundo recomendações de Cyrino et al. (2000) e Portz et al. (2001). Práticas de limpeza das caixas por sifonagem foram constantes durante o período experimental. Durante todo período experimental foram realizadas observações visuais dos animais para caracterização de possíveis sinais de deficiência nutricional. Foram analisados oito índices de desempenho zootécnicos:

- Peso inicial (PI);
- Peso final (PF);
- Ganho de peso

$$GP = [(peso\ final) - (peso\ inicial)];$$
- Consumo de ração;
- Conversão alimentar

$$CA = [(consumo\ de\ ração) \div (ganho\ de\ peso)];$$
- Taxa de crescimento específico

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

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

$$RHS = [(peso\ do\ fígado \div peso\ da\ carcaça) \times 100].$$

Ao final do período experimental, os fígados dos peixes foram retirados por meio de laparotomia abdominal esquerda, pesados e armazenados imediatamente em nitrogênio líquido. Os dados foram submetidos à análise de variância usando o PROC GLM do sistema computacional SAS (SAS, 2000). O desdobramento da análise de variância foi feito por meio da análise de regressão (PROC GLM), determinando-se os efeitos lineares e quadráticos dos tratamentos, regressão segmentada (PROC NLIN) (Portz et al., 2000) e o modelo matemático de Liebert et al. (2000).

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

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Relação energia : proteína

A relação energia:proteína (ED:PB) das rações experimentais foi 10,4 kcal g⁻¹, considerada elástica se comparada às recomendações de Portz (1999), que determinou uma ED:PB ideal para nutrição de juvenis de black bass ($14,46 \pm 0,81$ g) entre 7,78 a 8,83 kcal g⁻¹. Entretanto, não foram observados problemas relacionados com a alta relação energia:proteína, pois, tanto para ganho de peso como para taxa de crescimento específico, os valores obtidos foram considerados satisfatórios e compatíveis com dados da literatura.

Peixes alimentados com dietas deficientes em energia em relação à proteína usualmente apresentam redução da taxa de crescimento, uma vez que parte da proteína ingerida como alimento vai ser utilizada para manutenção das necessidades energéticas. Por outro lado, uma ingestão desproporcionalmente alta de energia pode levar à inibição da ingestão voluntária antes que haja o consumo da quantidade suficiente de proteína, prejudicando a utilização de outros nutrientes e levar a um maior acúmulo de gordura corporal (NRC, 1993; Cho & Kaushik, 1990; De Silva & Anderson, 1995).

4.2 Qualidade de água

Os parâmetros de qualidade de água durante o experimento mantiveram-se adequados ao conforto da espécie e semelhantes a valores relatados na literatura científica para realização de ensaios semelhantes com espécies de Centrarchídeos (Boyd, 1984; Keembiyehetty & Gatlin III, 1992; Portz et al., 2001; Portz & Cyrino, 2004; Small & Soares Jr., 1998; 2000). As médias das variáveis monitoradas estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Médias dos parâmetros de qualidade da água durante o experimento.

Parâmetro	Observações	Mínimo	Máximo	Média	C.V. ^{1/} %
Temperatura (8h) (°C)	36	22,30	26,00	24,7	5,54
pH (8h)	36	7,98	8,03	8,01	0,25
O ₂ D ^{2/} (8h) (mg L ⁻¹)	36	6,87	7,22	7,02	1,67
Temperatura (17h) (°C)	60	21,63	27,10	24,50	6,78
pH (17h)	60	7,92	8,14	8,04	0,69
O ₂ D ² (17h) (mg L ⁻¹)	60	6,67	7,53	7,04	4,40

^{1/} Coeficiente de variação.^{2/} Oxigênio dissolvido.

4.3 Desempenho

Foi realizada uma análise exploratória dos dados obtidos de desempenho. Os testes utilizados foram: “outlier”, homogeneidade da variância, tamanho da amostra, escala da variável resposta e potência ótima de Box-Cox (SAS, 2000). Somente para a variável conversão alimentar (CA), foi detectado um problema relacionado com uma das repetições do tratamento 6 (3,5% de lisina), que foi considerada “outlier” e conseqüentemente eliminada da análise.

As médias dos tratamentos diferiram ($p < 0,05$) para os seguintes parâmetros: peso final (PF), ganho de peso absoluto (GPa), ganho de peso relativo (GPr), consumo de ração, conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE). Ao contrário do relatado por Foster & Ogata (1998), que observaram coloração diferente nos juvenis de linguado japonês *Paralichthys olivaceus* alimentados com dieta deficiente em lisina e Ketola (1983), que observou que trutas arco-íris *Onchorhynchus mykiss* (1,1g), alimentadas com dietas deficientes em lisina, apresentavam erosões nas nadadeiras caudais. Não foram registrados sinais de deficiência ou anormalidades no desenvolvimento dos alevinos de black bass.

Tabela 7. Parâmetros de desempenho dos alevinos de “black bass” alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina*.

Tratamentos	Variáveis de desempenho								
	PI	PF	GPa	GPr	Consumo	CA	TCE	S §	RHS §
	g	g	g	%	g	g	%	%	%
1	1,27 ± 0,05	3,38 ± 0,17	2,10 ± 0,24	166,16 ± 17,18	3,75 ± 0,25	1,79 ± 0,05	1,57 ± 0,14	71,00 ± 16,12 ^a	3,74 ± 0,35 ^a
2	1,30	4,05 ± 0,06	2,75 ± 0,09	210,61 ± 12,67	4,04 ± 0,06	1,47 ± 0,06	1,83 ± 0,06	70,00 ± 13,27 ^a	3,57 ± 0,36 ^a
3	1,30	4,43 ± 0,15	3,12 ± 0,09	237,30 ± 7,18	4,22 ± 0,09	1,35 ± 0,05	1,97 ± 0,05	80,00 ± 5,66 ^a	3,30 ± 0,40 ^a
4	1,27 ± 0,05	4,55 ± 0,10	3,26 ± 0,06	251,41 ± 7,78	4,40 ± 0,15	1,35 ± 0,06	2,05 ± 0,05	69,00 ± 20,75 ^a	3,42 ± 1,02 ^a
5	1,27 ± 0,05	4,55 ± 0,17	3,30 ± 0,22	261,02 ± 17,34	4,36 ± 0,13	1,32 ± 0,05	2,05 ± 0,13	61,00 ± 19,97 ^a	3,25 ± 0,80 ^a
6	1,30	4,73 ± 0,30	3,45 ± 0,31	264,68 ± 22,62	4,73 ± 0,12	1,38 ± 0,17	2,08 ± 0,12	54,00 ± 4,00 ^a	3,51 ± 0,32 ^a

PI: Peso inicial; PF: Peso final; GPa: Ganho de peso absoluto; GPr: Ganho de peso relativo; Consumo: Consumo de ração; CA: Conversão alimentar;

TCE: Taxa de crescimento específico; S: Sobrevivência e RHS: Relação hepato-somática.

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

§ Teste de Tukey ($\alpha=0,01$).

4.4 Regressão polinomial

Quando existem fatores quantitativos com mais de dois níveis, é usual buscar uma ligação funcional entre os níveis desses fatores e a variável de estudo (Gomes & Garcia, 2002), a exemplo da análise de regressão polinomial utilizada neste estudo. A resolução das equações da regressão polinomial permite “estimar” o nível de exigência do nutriente estudado (Tibaldi & Tulli, 1999), e representá-lo graficamente.

Antes da confecção dos gráficos de regressão, foi realizada uma análise exploratória de regressão no qual foram utilizados os seguintes testes: “outlier”, curvilinearidade, homogeneidade da variância, observações influentes e escala da variável resposta (SAS, 2000). Mesmo com um coeficiente de determinação da regressão polinomial de segundo grau para a variável peso final (PF) consideravelmente alto ($r^2 = 0,87$), a determinação gráfica do melhor nível ficou impossibilitada. Houve fraca tendência de o nível de lisina que propicia o melhor PF estar entre 2,5% e 3,5% na dieta (Figura 1). Por meio da derivação da equação de regressão quadrática da variável peso final (PF), determinou-se que 3,1% de lisina dietética propicia melhor peso final.

Por meio das curvas de regressão referentes ao ganho de peso absoluto (GPa) e relativo (GPr) determinou-se que os melhores índices de desempenhos correspondem a níveis de lisina dietética entre 3,0 e 3,5% da dieta (Figuras 2 e 3). Novamente, derivando as equações de regressão destas variáveis, foi determinado que 3,19% e 3,21% de lisina dietética corresponderam aos melhores GPa e GPr, respectivamente.

Figura 1 – Curva de regressão quadrática ajustada para a variável peso final.

Figura 2 – Curva de regressão quadrática ajustada para a variável ganho de peso absoluto (GPa).

Figura 3 – Curva de regressão quadrática ajustada para a variável ganho de peso relativo (GPr).

Para a variável consumo de ração, houve tendência linear de aumento do consumo com os maiores níveis de lisina na dieta (Figura 4). O coeficiente de determinação ($r^2 = 0,79$) nesta variável foi o mais baixo em relação aos outros parâmetros estudados. Este valor corresponde a um percentual de ajustamento de 79%, considerado por Vanni (1998) um bom ajustamento, ou seja, 79 % das variações do consumo de ração são devidas à variação do teor de lisina dietética.

Figura 4 – Curva de regressão linear ajustada para a variável consumo de ração.

O manejo alimentar cuidadoso garantiu perda de ração muito baixa, mesmo com prática de alimentação *ad libitum*. A melhor conversão alimentar (CA) está compreendida entre os níveis de 2,0% a 3,0% de lisina na dieta (Figura 5). Mais uma vez, em função da fraca tendência do melhor nível de lisina estar entre os valores 2,5% e 3,5% na dieta, foi impossível a determinação gráfica do melhor nível. Pela derivação da equação de regressão cúbica foram estimados os valores de 2,27% (mínimo) e 2,99% (máximo) de lisina dietética que propiciaram as melhores conversões alimentares dos alevinos de black bass.

Figura 5 – Curva de regressão cúbica ajustada para a variável conversão alimentar (CA).

Os melhores valores de TCE foram observados para os níveis 2,5% a 3,5% de lisina na dieta (Figura 6); pela derivação da equação de regressão foi determinado que 3,0% de lisina dietética está relacionado à melhor TCE. Foram registradas taxas de crescimento específico entre 1,57% dia⁻¹ (T1) e 2,08% dia⁻¹ (T6), valores considerados altos. Trabalhando em condições semelhantes, Almeida (2003) registrou para juvenis de pacus *Piaractus mesopotamicus* TCE = 2,72% dia⁻¹.

Figura 6 – Curva de regressão quadrática ajustada para a variável taxa de crescimento específico (TCE).

Estudando a exigência dietética em lisina de alevinos de “Indian major carp” *Cirrhinus mrigala* ($4,30 \pm 0,25\text{cm}$; $0,63 \pm 0,02\text{g}$), Ahmed & Khan (2004) estimaram por meio de equações polinomiais, níveis de exigência em lisina de 2,30% na dieta ou 5,75% da proteína dietética. Este valor foi muito mais próximo ao valor obtido pela análise de regressão segmentada que pela análise gráfica e algébrica das regressões polinomiais deste experimento.

Pela análise gráfica das curvas de regressão observa-se que os níveis mais baixos de lisina das dietas – 1,0% e 1,5% – condicionaram pior desempenho, ou seja, baixos valores de peso final, ganho de peso, consumo e taxa de crescimento específico e piores conversões alimentares. O uso da regressão polinomial para avaliar resultados de ensaios dose-resposta de níveis de nutrientes foi eficaz, uma vez que por meio da observação da linha de tendência, puderam ser extraídas algumas conclusões. Entretanto, este método de análise não permite a determinação gráfica precisa do melhor nível. Somente com o uso da solução algébrica, foram estimados os melhores níveis de lisina e, a partir daí, determinados as melhores respostas das variáveis analisadas.

4.5 Método da regressão segmentada

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

Segundo Robbins (1986), a curva de regressão segmentada consiste de uma linha inclinada ascendente ou descendente, seguida de uma linha horizontal, onde seus pontos de interseção vão determinar o ponto de quebra. Este modelo de inclinação é mais adequado para estimar parâmetros de crescimento. O modelo de regressão utilizado é do tipo:

$$Y_i = L + U(R - X_{LRi}) + e_i, i = 1, 2 \dots n_1, n_1 + 1, \dots, n$$

onde $(R - X_{LRi}) = 0$ para $i \geq n_1 + 1$, e n_1 é o número de observações até o ponto de quebra, e n é o número de pares de observações; L = coordenada no eixo das ordenadas; R = coordenada no eixo das abcissas de um ponto de quebra; e U = coeficiente de inclinação de uma linha quando $X < R$.

Segundo a análise de regressão segmentada (Figura 7), o nível ótimo estimado (ponto de quebra) para a variável PF (4,6 g) foi de 2,12% de lisina na dieta, ou 4,9% da proteína dietética. Este valor está abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial de segundo grau – 2,5% a 3,5% de lisina na dieta (Figura 1) – e da resolução algébrica da equação quadrática ajustada (3,1% de lisina na dieta), ou seja, utilizando somente os dados fornecidos pela regressão polinomial, poder-se-ia estar superestimando o nível de lisina na dieta.

Figura 7 – Regressões para as médias de peso final (PF) em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada ($\square$); (B) polinomial ($\blacklozenge$).

Os níveis ótimos estimados para as variáveis GP_a e GP_r foram de 2,17% de lisina na dieta ou 5,0% da proteína dietética, e 2,26% de lisina na dieta ou 5,2% da proteína dietética, respectivamente. Estes valores não diferem entre si ($p > 0,05$) e corresponderam a ganhos de 3,34 g e 259% (Figuras 8 e 9), e encontram-se novamente abaixo do intervalo determinado pela observação gráfica da regressão polinomial (3,0% e 3,5% da dieta – Figuras 2 e 3) e da análise algébrica com resolução da equação quadrática (3,19% e 3,21% de lisina na dieta, respectivamente). Neste caso, seguindo o conceito da regressão segmentada, um nível de lisina de 2,2% na dieta permitirá ganho de peso semelhante ou igual ao nível de 3,0% ou 3,5% de lisina na dieta determinado pela curva de regressão polinomial.

Figura 8 – Regressões para as médias de ganho de peso absoluto (GPa), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆).

Figura 9 – Regressões para as médias de ganho de peso relativo (GPr), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆).

Keembiyehetty & Gatlin III (1992) determinaram a exigência em lisina para o “sunshine bass”, híbrido do “striped bass” *Morone chrysops* com o “white bass” *Morone saxatilis*, como sendo 1,41% da dieta ou 4,03% da proteína dietética. Griffin et al.

(1992), também trabalhando com o “sunshine bass” em dois experimentos, determinaram valores de exigência entre 1,2 a 1,4% de lisina na dieta analisando pelo método da regressão segmentada os parâmetros ganho de peso, lisina no plasma e eficiência alimentar, entre outros. Estes valores foram menores do que os encontrados para o black bass. Small & Soares Jr. (1998) determinaram exigência de 2,2% em lisina na dieta do “striped bass”, valor igual ao determinado para o black bass. Aparentemente, os peixes híbridos têm exigências diferenciadas das espécies puras.

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

A exigência em lisina na dieta que propicia ótimo desempenho do “yellowtail” *Seriola quinqueradiata*, espécie importante na piscicultura japonesa, é menor que aquela determinada para o black bass – 1,78% da dieta ou 4,13% da proteína dietética. A exigência em lisina determinada para o “milkfish” *Chanos chanos*, importante espécie das Filipinas, Indonésia e Taiwan, é de 1,8% a 2,0% da dieta ou 4% da proteína dietética (Borlongan & Coloso, 1993; Borlongan & Benitez, 1990).

Para a variável conversão alimentar – CA (Figura 10), o ponto de quebra foi obtido no nível de 1,69% de lisina na dieta ou 3,9% da proteína dietética (CA = 1,35:1). Comparando este valor com a análise gráfica da curva de regressão polinomial, verifica-se que o ponto de quebra foi abaixo do intervalo de 2,0% a 3,0% de lisina na dieta determinada pela análise de regressão polinomial (Figura 5) e pela resolução da equação cúbica (2,27% e 2,99%). Os valores de CA registrados para o black bass foram considerados apenas razoáveis e podem ser explicados pelo registro de ocorrências de rejeição tardia do alimento: ingestão, armazenamento e devolução à água.

Trabalhando com grupos de “striped bass” de tamanhos diferentes – 111 ± 3 g ou 790 ± 122 g –, Small & Soares Jr. (1998) registraram conversões alimentares de 1,90:1 e 1,74:1, respectivamente. Estes valores foram mais elevados que aqueles registrados para o black bass de peso inicial $1,29 \pm 0,03$ g utilizados neste trabalho – 1,35:1. Ahmed & Khan (2004), trabalhando com alevinos de *Cirrhinus mrigala* de tamanhos e pesos iniciais semelhantes aos alevinos de black bass utilizados, registraram $CA = 1,5:1$, ou seja, valor próximo à conversão alimentar de alevinos de black bass. Fica evidente que a eficiência alimentar dos peixes foi afetada pela idade e tamanho.

Figura 10 – Regressões para as médias de conversão alimentar (CA), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆).

O nível ótimo estimado de lisina de 2,17% na dieta ou 5,0% da proteína dietética propiciou taxa de crescimento específico (TCE) de $2,06\% \text{ dia}^{-1}$ (Figura 11). Este valor foi igual ao obtido para GP. Novamente, este valor esteve abaixo do intervalo obtido pela análise gráfica da curva de regressão (2,5% a 3,5% de lisina na dieta; Figura 6), e pela resolução da equação quadrática (3,0%). Trabalhando com alevinos de “striped bass” (1,5 g), Small & Soares Jr (2000) registraram $TCE = 1,55\%$

dia⁻¹ para exigência em lisina de 2,01% da dieta. Em comparação com a mesma dose de lisina, os alevinos de black bass apresentaram maior TCE – 2,06 % dia⁻¹.

Figura 11 – Regressões para as médias de taxa de crescimento específico (TCE), em função do nível de lisina na dieta: (A) segmentada (□); (B) polinomial (◆).

Rodehutscord et al. (2000b) determinaram que 2,77% de lisina na dieta de truta arco-íris condicionam o máximo acréscimo de proteína na composição corporal. Rodehutscord et al. (2000a) verificaram também tendência de aumento da concentração de proteína e diminuição da concentração de lipídios em trutas alimentadas com dietas contendo 2,56% de lisina. Uma dose de 1,85% de lisina na dieta induziu aumento da retenção de proteína e diminuição do teor de gordura na carcaça do “yellowtail” (Ruchimat et al., 1997).

Usando alevinos de “sea bass” *Dicentrarchus labrax* ($0,85 \pm 0,03$ g), Tibaldi & Lanari (1991) determinaram por meio do método da regressão segmentada, uma exigência em lisina de 2,17% da dieta ou 4,82% da proteína dietética. Rollin et al. (2003), trabalhando com alevinos de salmão do Atlântico *Salmo salar* ($1,39 \pm 0,02$ g), registraram uma exigência em lisina de 2,39% da dieta ou 5,3% da proteína dietética.

Foster & Ogata (1998) determinaram que a exigência em lisina para o linguado japonês (3g) e “red sea bream” *Pagrus major* (1,7g) é, respectivamente, de 2,16% e 2,15% da dieta ou 4,6% e 4,4% da proteína dietética.

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

Por meio da análise gráfica da curva de regressão polinomial dos níveis de 1,0% e 1,5% de lisina na dieta e em comparação com os resultados obtidos na análise de regressão segmentada, alevinos de black bass alimentados com dietas contendo estes níveis de lisina (1,0% e 1,5% da dieta) teriam pesos finais, ganhos de peso, taxas de crescimento específico significativamente menores e índices de conversão alimentar significativamente piores.

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

4.6 Relação A/E de aminoácidos

Uma das razões da escassez de informações sobre a exigência em aminoácidos da maioria das espécies de peixes é a necessidade de conduzir no mínimo 10 ensaios, um para cada aminoácido essencial, o que consome tempo e dinheiro. Outro fator limitante no interesse do estudo de aminoácidos é que, geralmente, quando são incorporadas às dietas fontes de proteína de alta qualidade, a probabilidade de ocorrer deficiência nutricional em aminoácidos essenciais é muito remota (Ngamsnae et al., 1999). Entretanto, quando se determina a exigência para um aminoácido essencial, a lisina, por exemplo, e se conhece o padrão de aminoácidos essenciais da carcaça, a exigência

dietética dos outros 9 aminoácidos essenciais pode ser expressa em relação à exigência em lisina, utilizando-se a relação ou taxa A/E (Fagbenro, 2000).

Como forma mais prática da determinação das exigências em aminoácidos essenciais, Ngamsnae et al. (1999) utilizaram o conceito de proteína ideal, a partir do perfil de aminoácidos do tecido muscular da perca prateada *Bidyanus bidyanus*, para determinar a exigência em arginina, em experimento dose-resposta com alevinos da espécie. Posteriormente, utilizando a taxa A/E, foram estimados os valores de exigência para os outros aminoácidos essenciais, inclusive fenilalanina. Estes pesquisadores comprovaram a eficácia do uso da relação A/E por meio de um ensaio dose-resposta para determinação da exigência em fenilalanina. A exigência em fenilalanina determinada experimentalmente foi similar à exigência estimada pela relação A/E, ficando demonstrada assim a eficácia desta ferramenta na formulação de dietas. Nas Tabelas 8 e 9 são apresentados, respectivamente, os dados relativos à estimativa de exigência em aminoácidos do black bass calculados por meio da taxa A/E e comparação entre as exigências em aminoácidos determinadas para várias espécies.

Tabela 8. Relação A/E e exigências nutricionais estimadas dos aminoácidos essenciais.

Aminoácido	Referência para 43% proteína g 100g ⁻¹	Aminoácidos essenciais dos tecidos corporais	Taxa de aminoácidos essenciais (referência lisina)	Exigência nutricional estimada g 100g ⁻¹
Arginina	3,86 ²	156	96	2,0
Histidina	1,01 ¹	41	25	0,5
Isoleucina	1,70 ¹	69	42	0,9
Leucina	3,78 ²	152	94	2,0
Lisina	4,02¹	162	100	2,1*
Metionina	1,35 ¹	54	34	0,7
Cistina [†]	0,48 ²	19	12	0,3
Fenilalanina	1,81 ¹	73	45	0,9
Tirosina [†]	1,59 ²	64	40	0,8
Treonina	2,14 ²	86	53	1,1
Triptofano	0,44 ²	18	11	0,2
Valina	2,63 ²	106	65	1,4
Total	24,81	1.000		

¹ Filé de black bass.² Ovas de black bass.

* Valor determinado pelo experimento dose-resposta.

[†] Aminoácido não essencial.

Tabela 9. Comparação entre exigências nutricionais em aminoácidos determinadas para várias espécies.

Aminoácido	Salmão Chum ¹	Striped bass ²	Red sea bream ³	Salmão do Atlântico ⁴	Black bass ⁵
Arginina	2,60	1,25	1,71	1,82	2,00
Histidina	0,70	0,51	0,68	0,67	0,50
Isoleucina	1,00	0,80	1,07	ND	0,90
Leucina	1,50	1,71	2,05	ND	2,00
Lisina	1,90	2,02	2,15	2,39	2,10
Metionina + cistina	1,20	0,92	1,07	1,54	1,00
Fenilal. + tirosina	2,50	1,60	2,00	2,51	1,70
Treonina	1,20	0,98	0,88	1,21	1,10
Triptofano	0,30	0,19	0,29	0,33	0,20
Valina	1,20	0,91	1,22	1,41	1,40

ND = Não determinado.

¹ NRC (1993).

² Small & Soares Jr (1998).

³ Foster & Ogata (1999).

⁴ Rollin et al. (2003).

⁵ dados originais da pesquisa.

As exigências nutricionais em aminoácidos essenciais determinadas para diversas espécies, inclusive o black bass, são semelhantes (Tabela 9). Exceção ao NRC (1993), todos os dados de exigências nutricionais foram determinados com o uso da relação A/E e com base no perfil de aminoácidos dos tecidos das diferentes espécies estudadas.

Segundo Kim & Lall (2000), por meio do uso da taxa A/E é possível determinar semelhanças nas exigências dos aminoácidos essenciais para espécies diferentes com idades de vida diferentes. Comparando a composição em aminoácidos dos tecidos corporais do “halibut” do Atlântico *Hippoglossus hippoglossus*, “yellowtail”, linguado *Paralichthys ferruginea* e linguado japonês, Kim & Lall (2000) verificaram alto grau de similaridade entre os aminoácidos essenciais expressos na taxa A/E. De fato, Borlongan & Coloso (1993) demonstraram que exigências em aminoácidos como a arginina, leucina, lisina, triptofano e valina determinadas experimentalmente, foram menores em

comparação aos valores encontrados nos tecidos protéicos do “milkfish”, mas para os outros aminoácidos essenciais, os níveis foram similares aos níveis do tecido protéico.

Em experimento dose-resposta, Berge et al. (1997) determinaram que a exigência em arginina do salmão do Atlântico (383 ± 62 g) é de 2,02% da dieta ou 4,8% da proteína dietética. Alam et al. (2002b) determinaram que a exigência em arginina de juvenis de linguado japonês ($1,85 \pm 0,05$ g) é 2,05% da dieta ou 4,14% da proteína dietética. Estes valores são semelhantes à exigência em arginina estimada para os alevinos de black bass neste experimento.

Tibaldi et al. (1994), determinaram a exigência por arginina em alevinos de “sea bass” *Dicentrarchus labrax*, (peso médio de $2,1 \pm 0,05$ g) de 1,81% da dieta ou 3,9% da proteína e Tibaldi & Tulli (1999) determinaram, usando a metodologia da regressão segmentada, que a exigência em treonina para juvenis de “sea bass” ($7,5 \pm 0,15$ g) é de 1,26% da dieta. Estes resultados são semelhantes aos registrados para o black bass neste estudo. Entretanto, Thebault et al. (1985) determinaram que a exigência em metionina de juvenis de “sea bass” (35 ± 5 g) é de 1,0% da dieta, algo superior aos registrados neste estudo para o black bass.

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

4.7 Modelo matemático de Liebert et al. (2000)

O modelo matemático criado em 1966 por Gebhardt¹ e redefinido por Liebert et al. (2000), é usado para mensurar a eficiência de utilização e exigência dos aminoácidos a partir do conceito de proteína ideal, que preconiza a presença de todos os aminoácidos na alimentação em quantidades semelhantes às exigências nutricionais. Liebert et al.

¹ Gebhardt, G. in A. Hock: Vergleichende Ernährungslehre des Menschen und seiner Haustiere. Fischer Publ. Jena, p.323-348, 1966 (apud Liebert et al., 2000).

(2000) consideram que a partir deste princípio, o excesso de aminoácidos é eliminado e a deposição de proteína ocorre com máxima eficiência.

Segundo Mohamed (2002), cada animal, inclusive peixes, tem capacidade genética específica para máxima deposição de nitrogênio (N). Desta forma, a soma desta capacidade, mais o nitrogênio exigido para manutenção, pode ser definida como a máxima capacidade para retenção de nitrogênio. Sendo assim, o modelo é baseado numa descrição matemática do padrão de balanço de nitrogênio – ou capacidade máxima de retenção de nitrogênio – em animais em crescimento, dependendo do nitrogênio ingerido e qualidade da proteína alimentar, de acordo com a equação:

$$Y = A (1 - e^{-bx})$$

onde:

A: $PD_{max} T$ (deposição protéica máxima teórica)

(N-balanço + N-manutenção) diário máximo / $PV^{0,67}$ (mg)

b: ponto de inclinação da curva de N-retenção e parâmetro de qualidade de proteína dentro de um período de idade

e: número básico natural logarítmico

x: N-ingerido diário / $PV^{0,67}$ (mg)

Y: (N-balanço + N-manutenção) diário / $PV^{0,67}$ (mg)

PV: peso vivo (kg)

O valor de **b** é calculado por meio da seguinte equação:

$$b = [\ln a - \ln (a-y)] / x$$

onde:

a: 500 (tabelado; Mohamed, 2002)

y: N-balanço + NMR (N-manutenção)

x: N-ingerido diário / $PV^{0,67}$ (mg)

O ponto de inclinação deste modelo é diretamente relacionado à qualidade de proteína. A qualidade da proteína depende da concentração e disponibilidade dos aminoácidos essenciais na proteína dietética. Desta forma, a inclinação depende somente do grau de utilização dos aminoácidos essenciais, devido à digestão, absorção e metabolismo da proteína alimentar. Como resultado do ensaio de balanço de nitrogênio (N) em animais em crescimento, valores máximos para utilização dos aminoácidos essenciais são identificados.

A retenção de N ($\% \text{ dia}^{-1}$) em todos os tratamentos e suas respectivas repetições foram muito semelhantes neste experimento. Desta forma, foi impossível detectar diferenças e estimar o nível de lisina na dieta que propiciaria maior eficiência na retenção de N. Por ser um modelo desenvolvido a princípio para suínos e aves – que possuem exigências nutricionais totalmente diferenciadas em relação aos peixes – pode ter ocorrido falta de ajuste do uso deste modelo, sendo necessários maiores estudos na adequação do mesmo para análise de ensaios com peixes em geral.

4.8 Sobrevivência

Não houve diferenças ($p > 0,01$) entre as médias dos tratamentos para a variável sobrevivência (Tabela 7). Keembiyehetty & Gatlin III (1992), em trabalho semelhante, mas conduzido com animais maiores (8,0 g), registraram sobrevivência de 100% em todas as doses de lisina testadas, inclusive nas dietas deficientes. Em contrapartida, Moon & Gatlin III (1991), trabalhando com “red drum” *Sciaenops ocellatus* de peso inicial de 0,9 g, observaram menor sobrevivência nos tratamentos alimentados com dietas deficientes em metionina.

Mortandade de mais de 50% foram registradas por Rodehutsord et al. (1997) para trutas alimentadas com dietas deficientes em lisina (0,45%, 0,55% e 0,7% na dieta). Entretanto, estas doses são consideradas baixas. Peixes alimentados com dietas contendo 0,85 e 1% de lisina apresentaram alta taxa de sobrevivência e quando a quantidade de lisina na dieta foi maior que 1%, a sobrevivência foi de 100%.

A menor porcentagem de sobrevivência (54%) foi registrada no tratamento com maior teor de lisina (3,5% da dieta). Este problema pode estar relacionado com o

antagonismo entre os aminoácidos lisina e arginina. De fato, Tibaldi et al (1994) citam que a desproporcionalidade de lisina e arginina na dieta pode provocar redução no consumo de alimento e competição de cada aminoácido pela via de absorção no intestino. Ainda segundo Berge et al. (1998), altas concentrações de lisina podem inibir a atividade da enzima arginase no fígado dos peixes. A arginase é uma enzima importante na decomposição de arginina em ornitina e uréia. Ornitina está relacionada com a formação das poliaminas espermidina e espermina. As poliaminas são essenciais para a síntese de RNA e DNA associada com a regulação do processo de crescimento e síntese de proteína (Berge et al., 2002). Uma vez inibida, a arginase não consegue converter arginina em ornitina e, conseqüentemente, todo o processo que culmina na síntese de proteínas é prejudicado.

Aparentemente a mortalidade de alevinos de black bass neste experimento não foi causada pelo problema relacionado ao desbalanço e antagonismo de lisina e arginina. Berge et al. (2002) citam que o principal sintoma de desbalanço de lisina e arginina – antagonismo e competição pela via de absorção – é o menor crescimento. Como os alevinos de black bass alimentados com níveis mais elevados de lisina tiveram crescimento normal ou superior se comparado ao nível de exigência, a hipótese de antagonismo deve ser descartada.

4.9 Relação hepato-somática (RHS)

Não houve diferenças ($p>0,01$) na relação hepato-somática entre os tratamentos (Tabela 7). Os valores de RHS registrados neste experimento foram próximos aos obtidos por Tibaldi et al. (1994) para o “sea bass” (2,39 a 3,28%) e por Cyrino et al. (2000) para o black bass (3,62 a 4,39%). Aparentemente, tanto as dietas com excesso quanto aquelas deficientes em lisina não induziram distúrbios fisiológicos severos nos animais, possivelmente em função do curto período experimental.

5 CONCLUSÕES

O modelo estatístico da regressão segmentada foi o mais apropriado para determinação da exigência dietética de lisina para os alevinos de black bass *Micropterus salmoides* em experimento dose-resposta, em comparação à regressão polinomial e ao modelo matemático específico para determinação de exigência em aminoácido estudado. A relação A/E foi ferramenta confiável para estimar níveis de exigência em aminoácidos essenciais com base no perfil de aminoácidos corporais de black bass segundo o conceito de proteína ideal. A exigência dietética em lisina do black bass ($1,29 \pm 0,03$ g), é de 1,69% de lisina na dieta ou 3,9% de lisina na proteína dietética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, I.; KHAN, M.A. Dietary lisin requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture**, v.235, p.499-511, 2004.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; YANIHARTO, D.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Influence of different dietary amino acid patterns on growth and body composition of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v.210, p.359-369, 2002a.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Arginine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters. **Aquaculture**, v.205, p.127-140, 2002b.
- ALMEIDA, G.S.C. Suplementação dietética de vitamina C, desenvolvimento e sanidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). Piracicaba. 2003. 47p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- ANDERSON, J.S.; LALL, S.P.; ANDERSON, D.M.; McNIVEN, M.A. Availability of amino acids from various fish meals fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.138, p.291-301, 1995.
- ARAI, S. A purified test diet for Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. **The Journal of the Nippon Suisan Gakkaishi**, v.47, p.547-550, 1981.
- ARENTSON, B.E.; ZIMMERMAN, D.R. Nutritive value of D-tryptophan for the growing pig. **Journal of Animal Science**, v.60, p.474-479, 1985.

- BERGE, G.E.; LIED, E.; SVEIER, H. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*), the requirement and metabolism of arginine, **Comparative Biochemistry and Physiology**, 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**, v.120, p.477-485, 1998.
- BERGE, G.E.; SVEIER, H.; LIED, E. Effects of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) imbalanced levels of lysine and arginine. **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.239-248, 2002.
- BORLONGAN, I.G.; BENITEZ, L.V. Quantitative lysine requirement of milkfish (*Chanos chanos*) juveniles. **Aquaculture**, v.87, p.341-347, 1990.
- BORLONGAN, I.G.; COLOSO, R.M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids. **Journal of Nutrition**, p.125-132, 1993.
- BOYD, C.E. **Water quality in warmwater fish ponds**. Auburn: Auburn University, 1984. 359p.
- BROUGHER, D.S.; DOUSGLASS, L.W.; SOARES JR, J.H. A comparative study of the dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis* and sunshine bass *M.chrysops* x *M. saxatilis*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.35, p.143-158, 2004.
- BUTOLO, J.E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. 430p.
- CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189p.
- CHENG, Z.J.; HARDY, R.W.; USRY, J.L. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. **Aquaculture**, v.218, p.255-265, 2003a.

- CHENG, Z.J.; HARDY, R.W.; USRY, J.L. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. **Aquaculture**, v.218, p.553-565, 2003b.
- CHO, C.Y., KAUSHIK, S.J. Nutrition energetics in fish: Energy and protein utilization in rainbow trout - *Salmo gairdneri*. **World Review of Nutritional and Dietetics**, v.61, p.132-172, 1990.
- CHUNG, T.K.; BAKER, D.H. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. **Journal of Animal Science**, v. 70, p.3102-3111, 1992.
- COELLO, N.; BRITO, L.; NONUS, M. Biosynthesis of L-Lysine by *Corynebacterium glutamicum* grown fish silage. **Bioresource Technology**, v.73, p.221-225, 2003.
- COWEY, C.B. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. **Aquaculture**, v.124, p.1-11, 1994.
- COYLE, S.D.; TIDWELL, J.H.; WEBSTER, C. Response of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) to dietary supplementation of lysine, methionine, and highly unsaturated fatty acids. **Journal of World Aquaculture Society**, p.89-95, 2000.
- CYRINO, J.E.P.; POTZ, L.; MARTINO, R.C. Retenção de proteína e energia em juvenis de “black bass” *Micropterus salmoides*. **Scientia Agricola**, v.57, n.4, p.609-616, out./dez. 2000.
- DAVIES, S.J.; MORRIS, P.C. Influence of multiple amino acid supplementation on the performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed soya based diets. **Aquaculture Research**, v.28, p.65-74, 1997.
- DE SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. **Fish nutrition in aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319p.
- EDGAR. <http://www.edgar.com>. (17 out. 2003.).

- FAGBENRO, O.A. Validation of the essential amino acid requirements of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linne 1758), assessed by the ideal protein concept. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., Rio de Janeiro, 2000. **Proceedings**. Rio de Janeiro: Panorama da Aquicultura, 2000. v.1, p.154-156.
- FOSTER, I.; OGATA, H.Y. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. **Aquaculture**, v.161, p.131-142, 1998.
- FURUYA, W.M. Digestibilidade aparente de aminoácidos e substituição da proteína da farinha de peixe pela do farelo de soja com base em proteína ideal em rações para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Botucatu, 2000. 70p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”.
- GODOY, M.P. Observações sobre a adaptação do “black bass” (*Micropterus salmoides*) em Pirassununga, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**, v.14, n.2, p.32-38, 1954.
- GOMES, F.P.; GARCIA, C.H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**: exposição com exemplos e orientação para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309p.
- GRIFFIN, M.E.; BROWN, P.B.; GRANT, A.L. The dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass. **Journal of Nutrition**, v.122, p.1332-1337, 1992.
- GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.152, p.205-221, 1997.
- HALVER, J.E. **Fish nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. 256p.
- JOBLING, M.; GOMES, E.; DIAS, J. Feed types, manufacture and ingredients. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (Ed.). **Food intake in fish**. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 25-48.

- KEEMBIYEHETTY, C.N.; GATLIN III, D.M. Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v.104, p.271-277, 1992.
- KETOLA, H.G. Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout. **Journal of Animal Science**, v.56, p.101-107, 1983.
- KIM, J.D.; LALL, S.P. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, v.187, p.367-373, 2000.
- KUBITZA, F.; LOVSHIN, L. L. Pond production of pellet-fed advanced juvenile and food-size largemouth bass. **Aquaculture**, v.149, p.253-262, 1997.
- KUBITZA, F.; LOVSHIN, L.L.; LOVELL, R.T. Identification of feed enhancers for juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v.148, p.191-200, 1997.
- LEVER, C. **Naturalized fishes of the world**. San Diego: Academic Press, 1996. 408p.
- LI, M.H.; ROBINSON, E.H. Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v.163, p.297-307, 1998.
- LIEBERT, F.; RIMBACH, M.; PEISKER, M. Model for estimation of amino acid utilization and its requirements in growing animals. **Australian Poultry Science Symposium**, v.12, p.81-89, 2000.
- LOVSHIN, L.L.; RUSHING, J.H. Acceptance by largemouth bass fingerlings of pelleted feed with a gustatory additive. **The Progressive of Fish Culturist**, v.51, p.73-78, 1989.
- MAMBRINI, M.; ROEM, A.J.; CRAVEDI, J.P.; LALLES, J.P.; KAUSHIK, S.J. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2990-2999, 1999.

- MASUMOTO, T.; RUCHIMAT, T.; ITO, Y.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). **Aquaculture**, v.146, p.109-119, 1996.
- MIYADA, V.S. Uso do conceito de proteína ideal na alimentação e nutrição de suínos. In: MATTOS, W.R.S. et al. (Ed.). **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p.195-201.
- MOHAMED, K.A.E.S.A. Study to determine maximum growth capacity and amino acid requirements of tilapia genotypes. Gottingen, 2002. 106p. Thesis (Doctoral) – Georg - August University.
- MOON, H.Y.; GATLIN III, D.M. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, v.95, p.97-106, 1991.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academic Press, 1993. 114p.
- 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**, v.5, p.173-180, 1999.
- PARSONS, C.M.; BAKER, D.H. The concept and use of ideal proteins in the feeding of nonruminantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 31., Maringá, 1994. **Anais**. Maringá: SBZ, 1994. p.119-128.
- PETIT, G.; BEAUCHAUD, M.; ATTIA, J.; BUISSON, B. Food intake and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/ dark circle (12L: 12D) or exposed to continuous light. **Aquaculture**, v.228, p.397-401, 2003.
- PEZZATO, L.E. **Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para a indústria da nutrição de peixes e crustáceos**. Campinas: CBNA, 1995. 166p.
- PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALLOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATTI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.5, p.75-169.

- PORTZ, L. Relação energia : proteína na nutrição do “black bass” (*Micropterus salmoides*). Piracicaba, 1999. 88p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- PORTZ, L. Utilização de diferentes fontes protéicas em dietas formuladas pelo conceito de proteína ideal para o “black bass” (*Micropterus salmoides*). Piracicaba, 2001. 111p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- PORTZ, L.; CYRINO, J.E.P. Comparison of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802). **Aquaculture Research**, v.34, p.585-592, 2003.
- PORTZ, L.; CYRINO, J.E.P. Digestibility of nutrients and amino acids of different protein sources in practical diets by largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802). **Aquaculture Research**, v.35, p.312-320, 2004.
- 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**, v.7, 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 Agricola**, v.57, n.4, p.601-607, out./dez. 2000.
- ROBBINS, K.L. **A method, SAS program, and example for fitting the broken line to growth data**. Tennessee: University of Tennessee, Agricultural Experiment Station, 1986, 8p.
- 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**, v.126, p.1166-1175, 1997.
- RODEHUTSCORD, M.; BORCHERT, F.; GREGUS, Z.; PFEFFER, E. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2 Comparison of L-lysine.HCl and L-lysine sulphate. **Aquaculture**, v.187, p.177-183, 2000a.

- RODEHUTSCORD, M.; BORCHERT, F.; GREGUS, Z.; PACK, M.; PFEFFER, E.
Availability and utilization of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1
Effect of dietary crude protein level. **Aquaculture**, v.187, p.163-176, 2000b.
- ROLLIN, X.; MAMBRINI, M.; ABBOUDI, T.; LARONDELLE, Y.; KAUSHIK, S.J.
The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon
(*Salmo salar*) fry. **British Journal of Nutrition**, v.90, p.865-876, 2003.
- RUCHIMAT, T.; MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; ITOH, Y.; SHIMENO, S.
Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*),
Aquaculture, v.158, p.331-339, 1997.
- SANTOS, G.B.; MAIA-BARBOSA P.M.; VIEIRA, F.; LOPEZ, C.M. Fish and
zooplankton community structure in reservoirs of Southeastern Brazil: effects of the
introduction of exotic predatory fish. In: PINTO-COELHO, A.R.M. **Giani and
reservoirs in Minas Gerais with special references to future development and
management strategies**. Belo Horizonte: Segrac Pub., 1994. p155-132.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: under's guide, statistics version 8. Cary, 2000. 3884p.
- SCHUHMACHER, A.; WAX, C.; GROPP, J.M. Plasma amino acids in rainbow trout
(*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet,
Aquaculture, v.151, p.15-28, 1997.
- SMALL, B.C.; SOARES JR., J.H. Estimating the quantitative essential amino acid
requirements of striped bass *Morone saxatilis*, using fillet A/E ratios. **Aquaculture
Nutrition**, p.225-232, 1998.
- SMALL, B.C.; SOARES JR., J.H. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile
striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, v.6, p.207-212, 2000.
- SOLOANE, M. B. Performance of training and grow-out diets for largemouth bass.
Auburn, 1993. 66p. Thesis (M.S.) – Auburn University.
- STEFFENS, W. **Principles of fish nutrition**. Chichester: Ellis Harwood, 1989. 384p.
- THEBAULT, H.; ALLIOT, E.; PASTOUREUD, A. Quantitative methionine
requirement of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.50, p.75-
87, 1985.

- TIBALDI, E.; LANARI, D. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed semipurified diets. **Aquaculture**, v.95, p.297-304, 1991.
- TIBALDI, E.; TULLI, F. Dietary threonine requirement of juvenile european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.175, p.155-166, 1999.
- TIBALI, E.; TULLI, F.; LANARI, D. Arginine requirement and effect of different dietary arginine and lysine levels for fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, v.127, p.207-218, 1994.
- TIDWELL, J.H.; WEBSTER, C.D.; COYLE, S.D. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) raised in ponds. **Aquaculture**, v.145, p.213-223, 1996.
- VANNI, S.M. **Modelos de regressão linear e não linear simples: estatística aplicada, inclui solução pela HP 12C e Excel**. São Paulo: Legnar Informática, 1998. 177p.
- WANG, T.C.; FULLER, M.F. The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 1. Experiments by amino acid deletion. **British Journal of Nutrition**, v.62, p.77-89, 1989.
- WEBSTER, C.D.; GOODGAME-TIU, L.S.; TIDWELL, J.H. Total replacement of fish meal by soy bean meal, with various percentages of supplemental L-methionine, in diets for blue catfish, *Ictalurus furcatus* (Lesueur). **Aquaculture Research**, p.299-306, 1995.
- WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.H. (Ed.). **Fish nutrition**. San Diego: Academic Press. 1989. p.112-153.
- ZARATE, D.D.; LOVELL, R.T. Free lysine (L-lysine - HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.159, p.87-100, 1997.

APÊNDICE

Tabela 1. Biometria do período experimental

Tratamento	Biometria inicial			Biometria final		
	nº peixes	Peso lote	Peso unitário	nº peixes	Peso lote	Peso unitário
		g	g		g	g
T1R4	25	31,68	1,27	20	63,25	3,16
T4R3	25	33,71	1,35	21	96,20	4,58
T3R2	25	33,60	1,34	20	90,30	4,52
T2R3	25	33,70	1,35	20	80,10	4,01
T1R1	25	31,70	1,27	18	59,90	3,33
T3R1	25	32,55	1,30	22	99,60	4,53
T5R1	25	32,01	1,28	12	51,60	4,30
T3R3	25	33,83	1,35	19	85,23	4,49
T1R2	25	31,15	1,25	12	43,40	3,62
T2R2	25	32,43	1,30	20	83,00	4,15
T5R2	25	31,56	1,26	16	75,83	4,74
T3R4	25	31,63	1,27	19	80,30	4,23
T6R1	25	32,65	1,31	13	63,04	4,85
T2R4	25	32,90	1,32	17	67,70	3,98
T4R2	25	32,49	1,30	15	69,25	4,62
T4R4	25	31,19	1,25	11	48,78	4,43
T6R3	25	32,32	1,29	13	63,05	4,85
T6R4	25	32,55	1,30	15	64,70	4,31
T6R2	25	32,70	1,31	13	64,78	4,98
T5R4	25	31,40	1,26	11	50,72	4,61
T2R1	25	31,64	1,27	13	53,11	4,09
T4R1	25	32,23	1,29	22	100,75	4,58
T5R3	25	31,36	1,25	22	100,93	4,59
T1R3	25	32,17	1,29	21	70,90	3,38
Total	600			405		