

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

REDUÇÃO DA PROTEÍNA EM DIETAS PARA A TILÁPIA-
DO-NILO PELA SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS
COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL

Autor: José Sérgio Righetti

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

MARINGÁ
Estado do Paraná
Junho - 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

REDUÇÃO DA PROTEÍNA EM DIETAS PARA A TILÁPIA-
DO-NILO PELA SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS
COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL

Autor: José Sérgio Righetti

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração Produção Animal".

MARINGÁ
Estado do Paraná
Junho - 2009

“Aqueles que não tentam criar o futuro que desejam, precisam aguentar o futuro que conseguem”.

Kanffmon Junior

AGRADECIMENTOS

Ajudar é algo concomitantemente simples e complexo. Por vezes basta um sorriso, um olhar ou palavras de estímulo e apoio. De outras vezes exige provas de dedicação permanente, contínua e doação total. Em outras ainda, basta que acreditem em nós e nos propósitos que almejamos alcançar nas realizações da vida profissional.

Agradeço a Deus, o Criador e aos meus pais, Waldemar (in memoriam) e Thereza, que me forneceram as primeiras bases da vida.

Ao meu filho Marcus Vinicius e minha esposa Maria Lúcia (in memoriam), pela doação total e incentivos.

Ao meu orientador e amigo professor Dr. Wilson Massamitu Furuya, pelas sugestões, críticas, ensinamentos e confiança em meu trabalho.

A minha equipe de pesquisadores, Themis, Mariana, Leonardo, Marcus Vinicius e Luís, pelo apoio incondicional e horas trabalhadas.

A Creuza do Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, pelo auxílio na realização das análises, ao professor Conegero, que auxiliou desde a coleta e

análise dos músculos e ao doutorando Alexandre Leseur dos Santos, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao engenheiro Agrônomo Romualdo Carlos Faccin, pelo incentivo e gerenciamento de minhas ausências na EMATER e a todos que direta ou indiretamente construíram comigo esta caminhada.

BIOGRAFIA

José Sérgio Righetti, nascido na cidade de Marília-SP, em 27 de setembro de 1964, é filho de Waldemar Righetti e Thereza Martinez Righetti.

Em 1982, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, em 1986, obteve o título de Engenheiro Agrônomo, passando a atuar na EMATER – Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural.

Em 1990, ingressou no curso de Administração de Empresas da Universidade Estadual de Maringá, em 1994, obteve o título de Administrador de Empresas.

Em 1994, ingressou no curso de especialização em Administração Rural da Universidade Federal de Viçosa, em 1995, obteve o título de especialista em Administração Rural.

Em 2000, ingressou no curso de especialização em Sanidade e Qualidade em Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá, em 2001, obteve o título de especialista em Sanidade e Qualidade em Piscicultura.

Em 2001, ingressou no curso de especialização em Gestão da Qualidade Assegurada em Alimentos da Faculdade de Ciências Aplicadas de Cascavel, em 2002, obteve o título de especialista em Qualidade Assegurada em Alimentos.

Em 2007, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia – Área de concentração Produção Animal, do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, realizou os estudos na área de nutrição de peixes.

No dia 03 de julho de 2009, submeteu-se à banca para defesa da dissertação.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
CAPÍTULO I	1
Considerações Iniciais	1
INTRODUÇÃO	2
1. Tilápia-do-Nilo	2
2. Aminoácidos Sintéticos	3
3. Proteína e Poluição	5
Literatura Citada	7
CAPÍTULO II	9
Redução da Proteína em Dietas para Tilápia-do-Nilo pela Suplementação de Aminoácidos com Base no Conceito de Proteína Ideal	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
Introdução	12
Materiais e Métodos	14
Resultados e Discussão	19
Conclusão	28
Literatura Citada	29

APÊNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição das dietas experimentais	15
Tabela 2. Valores médios de desempenho da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas reduzidas em proteína digestível	22
Tabela 3. Valores médios de composição química da carcaça e do filé da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas reduzidas em proteína digestível.....	26
Tabela 4. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da energia e nutrientes das dietas contendo diferentes níveis de proteína digestível	27

APÊNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Conversão Alimentar da tilápia-do-Nilo alimentadas com dietas reduzidas em proteínas	23
Figura 2 – Teor de Proteína no Filé da tilápia-do-Nilo alimentadas com dietas reduzidas em proteínas.....	26

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

INTRODUÇÃO

1. Tilápia-do-Nilo

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie economicamente importante em diversos países, principalmente nos de clima tropical e subtropical. É um peixe valorizado no mercado internacional, cuja produção global foi de 2,06 milhões de toneladas em 2008 (Sea Food, 2009). Possui grande importância na aquicultura por ser precoce e rústica, tolerando grande variação de temperatura, salinidade e baixo oxigênio dissolvido. Além disso, é resistente ao manejo e pode reproduzir-se naturalmente em cativeiro. De baixo nível trófico, aceita dieta durante a fase larval e possui carne com boas características organolépticas e filés sem espinhas em “Y”.

Por ser espécie onívora, utiliza eficientemente os carboidratos, o que possibilita utilização de fontes alternativas de proteína e energia de origem vegetal (Tengjaroenkul et al., 2000) para elaborar dietas práticas de mínimo custo (Pezzato et al., 2002).

A reversão sexual é o método mais utilizado para obtenção de população de machos, já que as fêmeas apresentam menor crescimento, por direcionar os nutrientes ingeridos para a reprodução. Em cativeiro, além de evitar a reprodução, a reversão sexual tem por objetivo evitar a introdução de espécies exóticas em reservatórios.

Por meio de seleção e cruzamentos, diversas linhagens têm sido desenvolvidas para permitir os melhores índices zootécnicos. Em 2002, foi introduzida uma nova linhagem de tilápia nilótica proveniente da GenoMar, a *Supreme* Tilapia, caracterizada por um grande ganho genético, desenvolvida a partir de um programa de dez anos financiados pela Nações Unidas, Banco Asiático de Desenvolvimento e Comunidade Europeia (Cyrino et al., 2004).

2. Aminoácidos Sintéticos

Apesar do hábito onívoro, em relação aos animais terrestres e aves, as dietas para tilápias possuem elevados teores de proteína. Em função disso, a farinha de peixe tem sido utilizada como principal fonte de proteína da ração, pelo elevado teor de proteína com bom balanço de aminoácidos, sendo também alimento palatável com boa fonte de energia, ácidos graxos essenciais, minerais e vitaminas (Furuya et al., 2001).

Nas últimas décadas, a produção de farinha de peixe mantém-se estável em torno de seis milhões de toneladas/ano (FAO, 2009). Como o custo da farinha de peixe depende da sua disponibilidade no mercado, a queda na oferta representa aumento no seu custo. Com o aumento na produção de farelos vegetais, busca-se fontes proteicas de origem vegetal para compor dietas comerciais em substituição à farinha de peixe. O farelo de soja destaca-se como fonte proteica promissora, pela sua disponibilidade no mercado nacional e pelo elevado valor nutritivo (Kaushik et al., 1995; Furuya et al., 2004). Porém, esse alimento possui diversos fatores antinutricionais, deficiência em aminoácidos sulfurados e baixa palatabilidade (Espe et al., 2006).

Os resultados obtidos com aminoácidos sintéticos em dietas para o salmão do Atlântico parecem estar estreitamente relacionados com o nível de proteína, fonte proteica utilizada e balanceamento de aminoácidos, além dos fatores relacionados às diferenças metodológicas. Além de proporcionar melhor balanceamento de aminoácidos e aumento no consumo, os aminoácidos sintéticos são amplamente utilizados, principalmente em dietas com elevadas proporções de farelo de soja ou outro alimento proteico de origem vegetal, assim como quando se deseja reduzir o nível de proteína da dieta.

A inclusão de aminoácidos sintéticos para melhorar o perfil de aminoácidos é prática comum em dietas experimentais e comerciais, sendo que a deficiência de um único aminoácido pode limitar a síntese proteica. Em muitas situações, é necessária a suplementação múltipla de aminoácidos para maximizar a utilização da proteína, de forma que se mantenha a taxa contínua de absorção e evite imbalances de aminoácidos (Cowey e Walton 1988).

As perdas metabólicas de nitrogênio podem ser minimizadas pela redução do intervalo de arrazoamento, que mantém a concentração plasmática mais estável.

Ainda, com o menor intervalo de arraçoamento, ocorre menor perda de aminoácidos sintéticos, que são mais solúveis no meio aquático, em relação aos aminoácidos ligados à proteína dos alimentos (Zarate e Lovell, 1997).

Para adequada suplementação de aminoácidos é necessário o conhecimento das exigências, bem como da digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos. Apesar da importância econômica da tilápia-do-Nilo em diversos países, existem poucas informações sobre as exigências proteicas para peixes adultos, sendo que a maioria das pesquisas foram realizadas com peixes jovens, não havendo evidência de que a exigência determinada para peixes jovens pode ser aplicada para adultos. Da mesma forma, poucas pesquisas foram realizadas com o objetivo de determinar a digestibilidade dos aminoácidos com peixes adultos, o que tem dificultado a suplementação de aminoácidos de forma mais precisa.

Alguns pesquisadores têm preconizado a utilização do perfil de aminoácidos da carcaça para balanceamento de rações comerciais. Ainda que exista elevada correlação entre o perfil de aminoácidos da carcaça e as exigências de aminoácidos essenciais determinadas em experimento de dose-resposta, é preciso considerar que as diferenças entre os valores estimados e determinados podem representar grandes variações no desempenho produtivo dos animais e na resposta econômica em condições práticas.

A suplementação de aminoácidos envolve principalmente a inclusão de lisina, metionina e treonina. A lisina é o primeiro aminoácido limitante em dietas para peixes e está presente em elevada proporção no tecido muscular dos mesmos, demonstrando importância na síntese de proteína muscular, além de melhorar consideravelmente a taxa de sobrevivência e crescimento. Sua exigência na dieta varia entre 5,0 e 6,8% da proteína da dieta (NRC, 1993; Furuya et al., 2006).

A metionina é um aminoácido sulfurado utilizado principalmente para balancear dietas com elevadas proporções de farelo de soja. É conhecido como doador de grupamento metil e sua deficiência pode acarretar redução de crescimento (Cyrino et al., 2004; Furuya et al., 2001). A treonina é considerada o terceiro aminoácido limitante para a maioria dos peixes e tem seu metabolismo envolvido na degradação e síntese proteica. A inclusão dietária de treonina influencia o crescimento e o peso dos filés de tilápia-do-Nilo (Silva et al., 2006).

O adequado balanceamento de aminoácidos da dieta objetiva melhor eficiência na utilização da proteína e rendimento de carcaça, obtendo assim melhora no

desempenho, redução no custo com alimentação, e menor excreção de nitrogênio no meio aquático.

O conceito de proteína ideal preconiza o balanço exato de aminoácidos, utilizando a lisina como aminoácido referência de forma a se obter um perfil ideal de aminoácidos que atenda às exigências de manutenção e produção dos peixes. A aplicação desse conceito pode ser adaptada a diversas situações, pois ainda que as exigências absolutas de aminoácidos possam mudar por diversas razões, as proporções permanecem praticamente estáveis.

As pesquisas mais recentes têm evidenciado a importância da utilização de aminoácidos sintéticos em dietas para peixes quando são utilizadas fontes alternativas de proteína em substituição a farinha de peixe, principalmente quando se deseja reduzir o nível de proteína da dieta. Há necessidade de avaliar também os níveis dos aminoácidos não essenciais (Cowey, 1994), considerando as elevadas perdas de nitrogênio endógeno pelos peixes em relação aos animais terrestres (Abboudi et al., 2009).

3. Proteína e Poluição

O avanço da tilapicultura global está levando a intensificação da criação exigindo a busca tanto por linhagens de alta performance, como pela utilização de dietas que permitam o maior crescimento dos peixes e menor impacto ambiental. Durante as últimas décadas, a produção de peixes como atividade agroindustrial cresceu consideravelmente, motivando o crescimento das indústrias especializadas em produção de rações para organismos aquáticos. Entretanto, pouco ainda é conhecido das exigências qualitativas e quantitativas de nutrientes para as diferentes fases de criação.

O conhecimento das exigências nutricionais dos peixes é de grande importância para aumentar a produtividade e permitir o retorno econômico, bem como para o aproveitamento eficiente dos nutrientes das dietas. O ajuste espécie específico das exigências nutricionais e o emprego de técnicas avançadas de processamento na fabricação das rações aumentam a biodisponibilidade de nutrientes, melhorando assim a assimilação pelos peixes (Kiang, 1998).

Existe preocupação dentro do contexto da aquicultura moderna em relação aos sistemas intensivos de produção – a sustentabilidade e o impacto ambiental. Nestes sistemas, a densidade de peixes por volume de água é alta, exigindo o uso de dietas balanceadas, de alta densidade nutricional e com ingredientes de alta digestibilidade e palatabilidade para se produzir o mínimo de resíduos. No aspecto econômico, devido ao alto custo da alimentação, existe pressão considerável para a redução dos excessos nas formulações, principalmente dos nutrientes de preço mais elevados.

O desenvolvimento de dietas de alto valor nutricional e ambientalmente corretas que garantam a economicidade das criações, dependem dos conhecimentos sobre as espécies produzidas, principalmente em relação ao manejo alimentar e exigências nutricionais (Portz et al., 2000).

O desbalanço de qualquer nutriente em uma dieta para peixes pode resultar em distúrbios nutricionais, comuns em peixes criados nos sistemas de criação intensiva (Tacon, 1992). Portanto, quando se determinam exigências nutricionais para peixes objetiva-se, alcançar o máximo potencial biológico da espécie em estudo. Para tal, torna-se necessário o uso de técnicas estatísticas adequadas e modelos matemáticos exatos para determinação dos parâmetros biológicos da espécie.

A formulação de dietas com excesso de proteína para atender a exigência de aminoácidos é economicamente inviável, além de causar impactos negativos ao meio ambiente. A possibilidade de redução da proteína da dieta já foi demonstrada em rações para carpas (Viola e Lahav, 1991), tilápia-do-Nilo (Furuya et al., 2005; Botaro et al., 2007) e truta arco-íris (Cheng et al., 2003; Gaylord e Barrows, 2009).

O produto final do catabolismo proteico dos peixes é a amônia, que compreende cerca de 80% do total de nitrogênio excretados pelos peixes, sendo a taxa de sua excreção influenciada por diversos fatores, como a quantidade e qualidade da dieta, entre outros (Chakraborty, 1998). O nitrogênio é considerado a principal fonte de poluição na piscicultura, podendo resultar em eutrofização excessiva, com produção de compostos tóxicos aos peixes ou de algas que irão prejudicar as características organolépticas da carne dos peixes.

A utilização do conceito de proteína ideal pode ser aplicada para reduzir o conteúdo de proteína em dietas para peixes, os custos de produção e a excreção de nitrogênio pelos peixes. Assim, são importantes as pesquisas realizadas com o

objetivo de obter dietas ambientalmente sustentáveis e que permitam o adequado desempenho produtivo dos peixes.

4. Literatura Citada

- ABBOUDI, T.; MAMBRINI, M.; LARONDELLE, Y. et al. The effect of dispensabel amino acids on nitrogen and amino acid losses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry fed a protein-free diet. **Aquaculture**, v. 289, p. 327-333, 2009.
- BOTARO, D.; FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R. et al. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 517-525, 2007.
- CHAKRABORTY, S.C.; CHAKRABORTY, S. Effect of dietary protein level on excretion of ammonia in Indian major carp (*Labeo rohita*), fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v. 4, p. 47-51, 1998.
- 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, 2003.
- COWEY, C.B.; WALTON, M.J. Studies on the uptake of (¹⁴C) amino acids derived from both dietary (¹⁴C) protein and dietary (¹⁴C) amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. **Journal of Fish Biology**, v. 33, p. 293-305, 1988.
- COWEY, C.B. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. **Aquaculture**, v. 123, p. 1-11, 1994.
- CYRINO, J.E. P; URBINATTI, E. C; FRACALOSSO, D.M. et al **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. 533p.
- ESPE, M.; LEMME, A.; PETRI, A. et al. Can Atlantic salmon grow on diets devoid of fish meal? **Aquaculture**, v. 255, p. 255-262, 2006.
- FAO Food and Agriculture Organization - **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. Rome: FAO. 2009. 196p.
- FURUYA, W. M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V. R. B. et al. Exigências de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 885-889, 2001.
- FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; NEVES, P.R. Exigência de lisina pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1933-1937, 2004.
- FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; SANTOS, V.G. et al. Aplicação do Conceito de Proteína Ideal para Redução dos Níveis de Proteína em Dietas para Tilápia-do-

- Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34: 1433-1441, 2005.
- FURUYA, W. M.; SANTOS, V. G.; SILVA, L. C. R. et al. Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 937-942, 2006 (supl.).
- GAYLORD, T.G.; BARROWS, F.T. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds. **Aquaculture**, 287: 180–184, 2009.
- KAUSHIK, S.J., CRAVEDI, J.P.; LALLES, J.P. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 133: 257-274, 1995.
- KIANG, M. Principles of aquaculture feed production by cooking extrusion. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL AND AQUACULTURE FEEDSTUFFS BY EXTRUSION TECHNOLOGY, 1., Águas de Lindoia, 1998. **Proceedings**. Campinas: UNICAMP, 1998. p.16.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1993. 102p.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; PEZZATO A.C. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1595-1604, 2002.
- PORTZ, L.; DIAS, C. T. S.; CYRINO, J. E. P.; Regressão Segmentada como Modelo na Determinação de Exigências Nutricionais de Peixes. **Scientia Agrícola**, v.57, p 601-607, 2000.
- SEA FOOD. Tilapia production to rebound in 2009. <http://www.seafoodsource.com/MarketLandingDetail.aspx?id=390>. Acesso dia 22/04/2009.
- SILVA, L. C. R; FURUYA, W. M.; SANTOS, L. D. et al. Níveis de treonina em rações para tilápias-do-Nilo, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1258-1264, 2006.
- TACON, A.G.J. **Nutritional fish pathology**. Rome: FAO, 1992. p.1-75.
- TENGJAROENKUL, B.; SMITH, B.J.; CACECI, T. et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v. 182, p. 317-327, 2000.
- VIOLA, S., LAHAV, E. Effects of lysine supplementation in practical carp feeds on total protein sparing and reduction of pollution. **The Israeli Journal of Aquaculture.-Bamidgheh** v.43, p. 112–118, 1991.
- ZARATE, D.D.; LOVELL, R.T. Free lysine (L-lysine.HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 159, p. 87-100, 1997.

CAPÍTULO II

REDUÇÃO DA PROTEÍNA EM DIETAS PARA A TILÁPIA-DO-NILO PELA SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL

Redução da proteína em dietas para a tilápia-do-Nilo, pela suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal

RESUMO - Este trabalho foi realizado para avaliar dietas reduzidas em proteína e suplementadas com aminoácidos sintéticos sobre o desempenho produtivo, digestibilidade e diâmetro da fibra muscular da tilápia-do-Nilo. Os aminoácidos (lisina, metionina, treonina e arginina) foram suplementados de forma a manter o perfil de aminoácidos da dieta referência. Foram utilizados 160 peixes com peso vivo médio inicial de $105,7 \pm 2,5$ g, distribuídos em 16 tanques (1 m³ cada) e alimentados com dietas contendo 26,74; 25,82; 23,09 ou 22,16% de proteína digestível, durante 110 dias. Não foi observado efeito dos níveis de proteína nas dietas sobre as variáveis de ganho de peso diário, índice hepatossomático, gordura visceral, rendimento de filé, umidade, proteína bruta e cinzas na carcaça, cinzas no filé, sobrevivência, diâmetro das fibras do músculo dorsal e disponibilidade do cálcio nas dietas. Com a redução dos níveis de proteína na dieta foi observada redução linear sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da energia bruta, proteína bruta, extrato etéreo e fósforo das dietas. Foi observado efeito quadrático dos níveis de proteína sobre a conversão alimentar, taxa de eficiência proteica, retenção de nitrogênio, nitrogênio excretado, umidade no filé, gordura na carcaça e no filé e proteína no filé, em que os melhores valores foram estimados com 24,53; 24,25; 24,04; 25,15; 24,67; 24,14; 24,34; 25,11% de proteína digestível, respectivamente. Concluiu-se que é possível reduzir a proteína digestível em dietas para a tilápia-do-Nilo na fase de 100 a 500 g de 26,74 para 24,53%, para melhores resultados sobre a conversão alimentar, utilização de nitrogênio e composição química da carcaça e do filé, sem efeitos negativos sobre os demais parâmetros de desempenho produtivo.

Palavras-chave: aminoácido, desempenho, digestibilidade, fibra muscular, peixe

Protein reduction of Nile tilapia diets by amino acids supplementation based on the ideal protein concept

ABSTRACT - This work was carried out to evaluate the effects of protein reduction in Nile tilapia diets by amino acid supplementation based on the ideal protein concept on performance, digestibility and diameter of muscle fiber. One-hundred and sixty fish (105.7 ± 2.5 g) were distributed in 16 tanks and fed with diets containing 26,74; 25,82; 23,09 or 22,16% of digestible protein, during 110 days. Crystalline amino acids (L-lysine, DL-methionine, L-threonine and L-arginine) were added to keep amino acid levels according to the ideal protein profile to simulate amino acid levels of the reference diet. No effects of the dietary crude protein levels on daily weight gain, hepatosomatic index, visceral fat, fillet yield, carcass humidity, protein and ash, fillet ash, survival, white muscle fiber diameter and calcium availability were observed. A linear decrease on apparent digestibility coefficients on gross energy, crude protein, ether extract and phosphorus was observed according to protein levels reduction. A quadratic effect was observed on feed conversion ratio, protein efficiency ratio, nitrogen retention, nitrogen excretion, fillet humidity, carcass and fillet fat and fillet protein, in which the best-fit responses were obtained with 24.53, 24.25, 24.04, 25.15, 24.67, 24.14, 24.34, 25.11% of digestible protein, respectively. It was concluded that is possible to reduce the dietary protein level from 26.74 to 24.53% for Nile tilapia phase of 100 to 500g, to obtain the best results on feed conversion ratio, nitrogen utilization and body and fillet chemical composition, without negative effects on all parameters of performance.

Key words: amino acid, digestibility, fish, muscular fiber, performance

Introdução

A tilápia-do-Nilo é considerada uma das espécies mais importantes para a piscicultura em razão da rápida taxa de crescimento, adaptação a diversas condições de criação, possuir carne com boas características organolépticas e filés sem espinhas intramusculares em “Y”. No Brasil, as farinhas de carne, farinha de vísceras de aves, farinhas de penas e farinhas de sangue têm sido amplamente utilizadas em dietas para organismos aquáticos. No entanto, a farinha de peixes tem sido utilizada como referência pelo elevado teor de proteína com bom balanço de aminoácidos, boa aceitação pelos peixes, sendo também boa fonte de energia, ácidos graxos essenciais, minerais e vitaminas.

Nas últimas décadas, a produção de farinha de peixe mantém-se estável em torno de seis milhões de toneladas/ano, o que tem elevado o seu custo (FAO, 2009). Com o aumento na produção de farelo de soja, com perspectivas de contínuo crescimento na sua produção, esse alimento destaca-se como a fonte proteica mais promissora, pela sua disponibilidade no mercado nacional e pelo elevado valor nutritivo (Kaushik et al., 1995; Furuya et al., 2004a). Porém, esse alimento possui diversos fatores antinutricionais, desbalanço em aminoácidos sulfurados, baixa palatabilidade (Espe et al., 2006), menor valor energético e baixos teores de cálcio e fósforo em relação à farinha de peixe (Furuya et al., 2001), havendo necessidade de suplementação de aminoácidos para melhorar o balanceamento de aminoácidos em dietas com elevadas proporções de farelo de soja (Furuya et al., 2004b).

Os resultados obtidos com aminoácidos sintéticos em dietas para organismos aquáticos estão estreitamente relacionados com o nível de proteína, fonte proteica

utilizada e balanceamento de aminoácidos, além dos fatores relacionados às diferenças metodológicas. Além de melhorar o perfil qualitativo e quantitativo de aminoácidos e estimular o consumo, os aminoácidos sintéticos são amplamente utilizados quando se deseja reduzir o nível de proteína da ração (Furuya et al., 2004a).

A formulação de dietas com excesso de proteína para atender a exigência de aminoácidos é economicamente inviável, além de causar impactos negativos ao ambiente, uma vez que o nitrogênio é considerado a principal fonte de poluição na piscicultura, podendo resultar em eutrofização excessiva, com produção de compostos tóxicos ou de algas que irão prejudicar as características organolépticas da carne dos peixes. A possibilidade de redução da proteína da ração já foi demonstrada em dietas para carpas (Viola & Lahav, 1991), tilápia-do-Nilo (Furuya et al., 2005; Botaro et al., 2007) e truta arco-íris (Cheng et al., 2003; Gaylord & Barrows, 2009).

Para adequada suplementação de aminoácidos é necessário o conhecimento das exigências nutricionais, bem como da digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos utilizados. Em muitas situações, é necessária a suplementação múltipla de aminoácidos para maximizar a utilização da proteína, de forma a manter contínua taxa de absorção para evitar imbalances de aminoácidos (Cowey & Walton 1988).

O músculo estriado nos peixes constitui aproximadamente 70% do seu peso corporal. O crescimento desse tecido ocorre pelo aumento do diâmetro da fibra (hipertrofia) e/ou aumento do número de fibras existentes (hiperplasia), pela atividade dos mioblastos indiferenciados, que também estão envolvidos nos processos de reparação muscular em casos de lesão (Camargo, 2004). O estudo do desenvolvimento muscular da tilápia possui grande importância quando se procura

otimizar a produção de carne, pois o tecido muscular esquelético é o principal tecido envolvido, com a deposição proteica e conseqüentemente na produção de carne.

Apesar da importância econômica da tilápia-do-Nilo em diversos países, poucas pesquisas foram realizadas com objetivo de reduzir o conteúdo de proteína por meio da suplementação de aminoácidos em dietas para peixes de tamanho comercial. Assim, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a redução da proteína da dieta por meio da suplementação de aminoácidos sintéticos L-lisina, DL- metionina, L-treonina e L-arginina, sobre o desempenho produtivo, digestibilidade aparente e diâmetro da fibra do músculo branco da tilápia-do-Nilo.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Aquicultura-DBI/UEM de dezembro a março de 2008, durante 110 dias. Foram utilizados 160 peixes, com peso inicial de $105,7 \pm 2,5$ g, distribuídos em 16 tanques (1m^3 cada) de recirculação, em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, quatro repetições e dez peixes/unidade experimental. Os peixes foram alimentados com dietas contendo 26,74; 25,82; 23,09 ou 22,16% de proteína digestível, mantendo-se relação energia digestível (kcal):proteína bruta próxima de 120:1 (Tabela 1).

Cada tanque continha um sistema de aeração composto por pedra porosa acoplada a um soprador, além da aeração proporcionada pelo sistema de recirculação de água (12 L/min), realizada por meio de moto bomba, de forma a manter o teor de oxigênio dissolvido entre 4 a 6mg/L. A temperatura da água foi mantida entre 25 e 27°C. Esses parâmetros foram aferidos diariamente, às 8h e 17h com um oxímetro digital portátil.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais

	Proteína digestível (%)			
	26,74	25,82	23,09	22,16
Milho moído	23,08	27,51	32,07	36,50
Quirera de arroz	10,00	10,00	10,00	10,00
Trigo moído	8,00	8,00	8,00	8,00
Farelo de soja - 45%	34,00	27,07	19,93	13,00
Farinha de peixe - 55%	8,00	10,64	13,36	16,00
Glúten de milho - 60%	4,00	4,00	4,00	4,00
Levedura	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	6,00	5,67	5,33	5,00
Fosfato bicálcico	2,50	2,50	2,50	2,50
L-Lisina HCl	0,00	0,09	0,19	0,28
L-Arginina	0,00	0,07	0,13	0,20
DL-metionina	0,20	0,20	0,20	0,20
L-Treonina	0,00	0,03	0,07	0,10
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50
Supl. mineral e vitamínico ¹	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamina C ²	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante ³	0,02	0,02	0,02	0,02
Antifúngico ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Matéria Seca (%) ⁵	90,19	90,05	89,90	89,76
Energia digestível (kcal/kg) ⁵	3.687,04	3590,92	3491,89	3395,77
Proteína bruta (%) ⁵	30,46	29,22	27,93	26,69
Proteína digestível (%) ⁵	26,74	25,82	23,09	22,16
Fibra bruta (%) ⁶	3,14	3,16	3,18	3,20
Extrato etéreo (%) ⁶	7,73	7,85	7,97	8,09
Cálcio (%) ⁶	1,08	1,08	1,08	1,08
Fósforo disponível (%) ⁶	0,75	0,75	0,75	0,75
Lisina total (%) ⁶	1,47	1,47	1,47	1,47
Metionina + cistina total (%) ⁶	1,05	1,05	1,05	1,05
Treonina total (%) ⁶	1,06	1,06	1,06	1,06
R\$/kg dieta	0,720	0,695	0,669	0,644

¹ Suplemento mineral e vitamínico (Supre Mais): composição por kg: Vit. A = 1200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ác. fólico = 1.200 mg; pantotenato de Ca = 12.000 mg; vitamina C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mg = 4.000 mg; Zn = 6.000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg e Se = 20 mg;

² Vitamina C: (42% de ácido ascórbico).

³ Butil Hidroxi Tolueno.

⁴ Iodato de Potássio

^{5,6} Valores estimados de acordo com Furuya et al. (2001) e Guimarães et al. (2008a,b)

Os aminoácidos foram suplementados de forma a manter a relação aminoácido essencial/lisina para atender as exigências recomendadas para tilápias pelo NRC (1993). Cada dieta foi granulada em moedor de carne, adicionando-se água (52°C) na proporção de 30% do peso seco da dieta. Em seguida, os grânulos foram desidratados em estufa de ventilação forçada a 55°C e estocadas em refrigerador a 5°C. As dietas foram desintegradas e peneiradas de forma a obter grânulos com aproximadamente 4 mm de diâmetro.

Os peixes foram alimentados manualmente, à vontade, às 8:00; 11:00; 14:00 e 17:30 h. Todos os peixes foram pesados individualmente em balança de precisão (0,01g) no início e final do experimento, sendo anestesiados com óleo de cravo (70 mg/L). No início do experimento, foram selecionados os peixes cujo peso estivesse dentro do valor de 20% desvio padrão em relação à média do peso dos peixes de cada unidade experimental. Neste momento, 25 peixes foram armazenados em freezer (-20°C) para determinação da composição química da carcaça. No final do experimento, cinco peixes de cada unidade experimental foram filetados para determinação do rendimento e composição química do filé. Os demais peixes foram eviscerados e moídos para determinação da composição da carcaça inteira.

As variáveis de taxa de eficiência proteica, retenção de nitrogênio na carcaça inteira dos peixes foram calculadas de acordo com as expressões descritas por Jauncey & Ross (1982).

Foram coletadas amostras da porção mediana superficial do músculo dorsal direito de três peixes de cada tanque para mensuração do diâmetro das fibras. Após coleta, as amostras foram aparadas e reduzidas a fragmentos de 1,0 x 0,5cm e cobertas com talco para preservação do tecido (Moline & Glenner, 1964). Em

seguida, foram congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas em *freezer* a -80°C até o processamento. As amostras do músculo branco foram transferidas para câmara de micrótomo criostato Keichert Jung CM 1800 com temperatura interna de -20°C , onde permaneceram por 1 hora. Posteriormente, cada amostra foi fixada em suporte metálico, com adesivo especial (*Tissue Tek OCT - Optimal CristalTemperature*), efetuando-se várias séries de cortes histológicos, com $10\mu\text{m}$ de espessura (Pullen, 1977).

Os cortes foram submetidos à técnica Hematoxilina e Eosina (HE) (Lillie, 1954), para avaliação do tecido e mensuração do diâmetro das fibras musculares. A determinação do diâmetro foi obtida pela mensuração do menor diâmetro das fibras (Dubowitz & Brooke, 1973). Foram capturadas imagens de dez campos microscópicos de cada amostra, com ampliação final de 200X, utilizando-se o programa Analisador de Imagem Computadorizado (Mexia et al., 2006).

Para determinação dos coeficientes de digestibilidade foram utilizados 21 peixes com peso médio de $258,7 \pm 27,3\text{g}$. As tilápias foram mantidas em dois aquários de fibra de vidro, com volume útil de 180L para a coleta de fezes, mantido com aeração constante por meio de pedra porosa acoplada a soprador central, de forma a manter o teor de oxigênio dissolvido entre 4 a 6mg/L. A temperatura da água foi mantida entre 25 e 27°C por meio de aquecedor com termostato. Esses parâmetros foram aferidos diariamente às 8:00h e 17:00h, em oxímetro digital (YSI 55, Yellow Springs, Ohio, USA) portátil para leitura do oxigênio dissolvido e da temperatura. A renovação de água dos aquários de coleta de fezes foi feita diariamente (8:30h e 17:30h) utilizando-se a água proveniente de um reservatório de 1.000L com água mantida nas mesmas condições dos aquários de digestibilidade. Os

peixes foram alimentados diariamente das 7:00h às 9:00h e das 13:00h às 17:00h, manualmente, até saciedade aparente.

Para determinação dos CDA, as dietas utilizadas no experimento de desempenho foram moídas e adicionadas de 0,1% de óxido de cromo III (Cr_2O_3) como indicador (Pezzato et al. 2002), sendo peletizadas em moinho manual e desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C, conforme recomendado por Bremer Neto et al. (2005).

Os coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes das dietas foram determinados de acordo com a expressão proposta por Nose (1960):

$$CDA = 100 - \left[100 \cdot \left(\frac{\%I_d}{\%I_f} \right) \cdot \left(\frac{\%N_f}{\%N_d} \right) \right]$$

em que: CDA = coeficiente de digestibilidade aparente (%); $\%I_d$ e $\%I_f$ = % Indicador na dieta e nas fezes, respectivamente $\%N_f$ e $\%N_d$ = % de nutriente nas fezes e na dieta, respectivamente.

A retenção de nitrogênio foi calculada de acordo com a expressão:

$$Rn(\%) = \frac{Pf \cdot Nf - Pi \cdot Ni}{Nc} \cdot 100$$

sendo: Rn = retenção de nitrogênio (%); Nf = nitrogênio corporal final (%); Pf = peso final (g); Ni = nitrogênio corporal inicial (%); Pi = peso inicial (g); Nc = nitrogênio consumido (g).

A excreção de nitrogênio fecal foi determinada segundo a expressão:

$$Ne(kg / tGP) = \frac{Nc - (Nc \cdot CDAn)}{GP} \cdot 1000$$

sendo: Ne = nutriente excretado (g/t GP); Nc = nitrogênio consumido (g); CDAn = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente (%); GP = ganho de peso (g).

As análises químico-bromatológicas das dietas e da carcaça foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá segundo Silva & Queiroz (2002).

Os peixes foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial, utilizando-se o programa SAEG da Universidade Federal de Viçosa (1982).

Resultados e Discussão

Não foi observado efeito ($P>0,05$) dos níveis de proteína digestível (PD) nas dietas sobre as variáveis de ganho de peso diário, índice hepatossômático, gordura visceral, rendimento de filé, umidade, proteína bruta e cinzas na carcaça, cinzas no filé, sobrevivência, diâmetro das fibras brancas do músculo dorsal e disponibilidade de cálcio das dietas. A taxa de sobrevivência foi considerada como sendo de 100% em todos os tratamentos, a ocorrência de mortalidade foi observada em um dos tanques, pela fuga de um peixe.

Foram obtidos valores médios de $71,21 \pm 5,71$; $69,05 \pm 3,74$; $66,15 \pm 3,15$ e $66,40 \pm 3,93$ μm de diâmetro das fibras musculares para os peixes alimentados com dietas contendo 26,74; 25,82; 23,09 e 22,16% de proteína digestível, respectivamente.

O crescimento do tecido muscular ocorre por dois processos: aumento do diâmetro da fibra (hipertrofia) e aumento do número de fibras existentes (hiperplasia), por meio da atividade dos mioblastos indiferenciados (células satélites), que também estão envolvidos nos processos de reparação muscular em casos de lesão (Camargo, 2004).

A diferenciação muscular origina a maior massa de tecido do organismo, correspondendo a aproximadamente 50% do peso corporal na maioria das espécies animais. Considerando que os maiores componentes do músculo são as fibras musculares, deduz-se que a taxa de crescimento pós-natal de um determinado músculo é determinada pelo número de fibras musculares e pela taxa de crescimento individual das fibras (Scheuermann, 2004).

A mensuração da área/diâmetro das fibras constitui um parâmetro importante na avaliação do crescimento muscular e também para verificar qual tipo de fibra é mais susceptível ao crescimento. Smith & Fletcher (1988) verificaram em aves que as fibras brancas têm taxas de crescimento superiores as das fibras vermelhas. Mais recentemente, Aguiar et al. (2005) determinaram que o diâmetro das fibras brancas da tilápia-do-Nilo é superior ao diâmetro das fibras vermelhas e intermediárias.

Segundo Johnston et al. (1975), o crescimento muscular está associado ao aumento do diâmetro das fibras e influenciado pelo nível nutricional da dieta. Em peixes adultos, é esperado que a hipertrofia das fibras promova aumento da massa muscular, aumento do peso do filé e produção de carne.

Aguiar et al. (2005) destacaram a importância do adequado nível de lisina na dieta sobre o crescimento das fibras brancas de larvas de tilápia-do-Nilo. A lisina, juntamente com a metionina e treonina são aminoácidos importantes para o crescimento dos peixes, particularmente no desenvolvimento das fibras musculares, principalmente durante o período de crescimento hipertrófico, objetivando o aumento na produção de filés.

A suplementação de arginina é necessária para atender sua exigência para manutenção e produção, bem como para evitar antagonismos com a lisina, sendo

importante uma relação arginina:lisina próxima de 1 em dietas para tilápia-do-Nilo (Furuya et al.,2004b).

A hiperplasia é mais acentuada nas fases larval e de alevino; posteriormente predomina o crescimento hipertrófico das fibras sendo encontrado por Aguiar et al. (2005), Furuya et al. (2005), diâmetros próximos de 22 e 30 μ m, para tilápias peixes de 0,48 e 125g, respectivamente.

Quanto aos diâmetros das fibras do músculo dorsal dos peixes, foi observado acentuado grau de hipertrofia em relação a peixes mais jovens, observando-se que as de menor diâmetro foram mais arredondadas, enquanto as de maior diâmetro apresentaram aspecto mais hipertrófico e tiveram contorno poligonal. O tecido conjuntivo que envolve cada uma das fibras apresentou-se pouco desenvolvido, conferindo aspecto compacto as mesmas.

No presente trabalho, foi demonstrada a possibilidade de redução da proteína digestível de 26,74 para 24,53% para a tilápia-do-Nilo, em que a suplementação de aminoácidos em dietas com menores teores de proteína atendeu as exigências para o crescimento muscular, o que pode ser observado pela manutenção do crescimento em peso, da composição de proteína corporal e pelo diâmetro das fibras da tilápia-do-Nilo. Possivelmente, é necessária a suplementação de aminoácidos essenciais e não essenciais para maior redução do nível de proteína, o que pode ser inviável do ponto de vista econômico, em função do elevado custo dos mesmos.

Foi observado efeito quadrático ($P < 0,05$) dos níveis de proteína sobre a conversão alimentar (Figura 1), taxa de eficiência proteica, retenção de nitrogênio e excreção de nitrogênio, em que os melhores valores foram estimados com 24,53; 24,25; 24,04 e 25,15% de PD, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de desempenho da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas reduzidas em proteína digestível

	Proteína digestível (%)				CV ¹
	26,74	25,82	23,09	22,16	
Peso inicial (g)	107,13	104,93	103,95	104,73	2,45
Peso final (g)	456,98	453,82	493,05	482,57	6,76
Ganho de peso (g)	351,13	348,89	389,12	377,84	7,96
Conversão alimentar ²	1,90	1,63	1,74	1,90	4,79
Taxa de eficiência proteica ²	1,92	2,41	2,31	2,21	4,33
Retenção de nitrogênio (%) ²	36,65	38,98	38,17	37,65	3,27
Nitrogênio excretado (g/t GP) ²	9,90	6,12	11,47	12,33	25,43
Rendimento de filé (%)	31,15	29,65	29,65	29,71	2,15
Índice hepatossomático (%)	2,12	2,36	3,21	2,32	12,08
Gordura visceral (%)	1,27	1,54	1,57	1,49	14,79

¹CV = Coeficiente de variação

²Efeito quadrático: (P<0,05); conversão alimentar ($Y = 39,1623 - 3,0655X + 0,06252X^2$; $R^2 = 0,65$); taxa eficiência proteica ($Y = -49,8154 + 4,3179X - 0,0890X^2$; $R^2 = 0,68$); retenção de nitrogênio ($Y = -174,4000 + 17,8400X - 0,3710X^2$; $R^2 = 0,69$); nitrogênio excretado ($Y = -437,200 - 34,2400X + 0,6810X^2$; $R^2 = 0,83$)

A formulação de dietas com excesso de proteína para atender a exigência de aminoácidos é economicamente inviável, além de causar impactos negativos ao ambiente. A possibilidade de redução da proteína bruta dieta de 30 para 25% já foi demonstrada para carpas por Viola & Lahav (1991) com a suplementação de lisina. Para a tilápia-do-Nilo de 4 a 120g, Furuya et al. (2005), descreveram a possibilidade de redução da PD da dieta de 33,7 para 30,89%, com a suplementação de metionina, lisina e treonina, enquanto Botaro et al. (2007) relataram que a PD em dietas para a tilápia-do-Nilo de 35 a 270g pode ser reduzida de 29,12 para 26,2%, com a suplementação de metionina, lisina e treonina, sobre o desempenho produtivo.

Para a truta arco-íris, Cheng et al. (2003) obtiveram possibilidade de redução do teor de proteína em dietas para a truta arco-íris de 42 para 37%, com a suplementação de lisina, metionina, treonina e triptofano. Com a mesma espécie, Gaylord & Barrows (2009) demonstraram ser possível reduzir a proteína bruta da

dieta de 45 para 35% por meio da suplementação de lisina, metionina, treonina, glicina e taurina, sem prejuízos sobre o ganho de peso, conversão alimentar e utilização da proteína da dieta, e rendimento de filé. Estes autores também observaram menor valor de índice hepatossômico dos peixes alimentados com dietas contendo 35% de proteína bruta, fato não encontrado no presente trabalho, em que o peso do fígado foi relacionado com o peso corporal dos peixes ao final do experimento e não com os níveis de proteína das dietas.

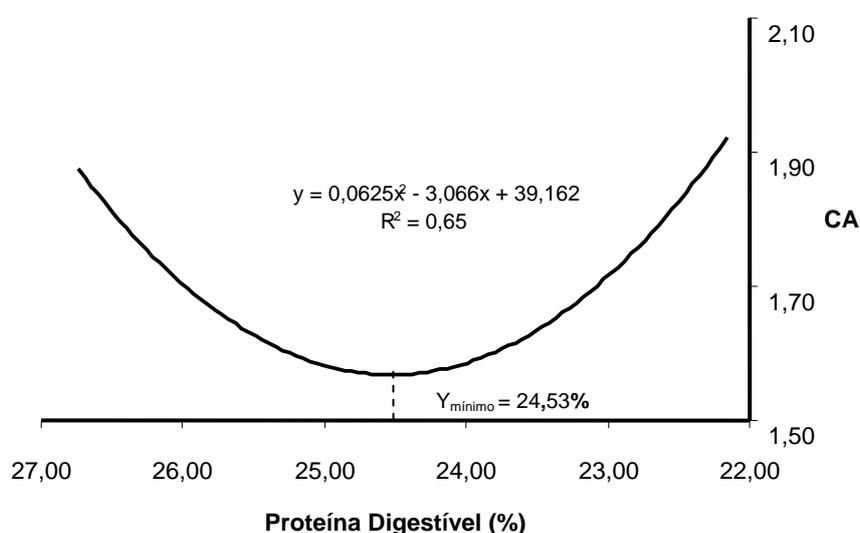


Figura 1 - Conversão alimentar da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas reduzidas em proteína

A eficiência de utilização dos aminoácidos sintéticos é controversa em peixes, principalmente em dietas para o bagre-do-canal, como demonstrado por Li & Robinson (1998) que não observaram efeitos positivos da suplementação de lisina e metionina sobre o desempenho da espécie em estudo objetivando reduzir o teor de proteína da dieta. Destaca-se que as diferenças relacionadas com a espécie de peixe, níveis de energia, proteína e aminoácidos, bem como no manejo alimentar dos peixes e análise estatística dos resultados, podem influenciar os resultados obtidos.

Em relação a excreção de nitrogênio, estimou-se que a menor excreção de nitrogênio foi obtida com 25,25% de proteína digestível, demonstrando o melhor balanceamento de aminoácidos da dieta, em que os melhores valores da taxa de eficiência proteica e retenção de nitrogênio. Por outro lado, a redução do nível de proteína abaixo do valor acima citado não permitiu adequada utilização da fração nitrogenada, o que pode ter ocorrido pela elevada inclusão de aminoácidos sintéticos, que são absorvidos em taxa mais elevada em relação aos aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, rapidamente absorvidos (Yamada et al., 1981; Cowey & Walton, 1988) com elevação súbita dos aminoácidos sintéticos nos níveis plasmáticos (Schumacher et al., 1997) e pelas perdas por catabolismo (Plakas & Katayama, 1981; Murai et al., 1985).

Outro fator que pode influenciar a utilização dos aminoácidos sintéticos pelos peixes está relacionado à alta taxa de lixiviação dos aminoácidos sintéticos em dietas para peixes (Zarate & Lovell, 1997). No presente trabalho, adotou-se maior frequência de arrazoamento, de quatro vezes por dia, para evitar sobras e perdas de aminoácidos para o meio aquático.

Os pesquisadores têm evidenciado a importância da utilização de aminoácidos sintéticos em dietas para peixes quando são utilizadas fontes alternativas de proteína em substituição a farinha de peixe, principalmente quando se deseja reduzir o nível de proteína da dieta. Para a redução do nível de proteína, além da metionina e lisina, há necessidade de avaliar a presença dos demais aminoácidos de forma quantitativa e qualitativa, principalmente para evitar a presença de aminoácidos limitantes e antagonismos entre os mesmos. É necessário considerar também os níveis dos aminoácidos não essenciais (Cowey, 1994), considerando as

elevadas perdas de nitrogênio endógeno em relação aos animais terrestres (Abboudi et al., 2009).

O produto final do catabolismo proteico dos peixes é a amônia, que compreende cerca de 80% do total da excreção de nitrogênio pelos peixes, sendo a taxa de sua excreção influenciada por diversos fatores como a quantidade e qualidade da ração, entre outros (Chakraborty, 1998). O nitrogênio é considerado a principal fonte de poluição na piscicultura, podendo resultar em eutrofização excessiva, com produção de compostos tóxicos aos peixes ou de algas que irão prejudicar as características organolépticas da carne dos peixes.

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos níveis de proteína na dieta sobre a umidade, proteína, e cinzas na carcaça e cinza no filé. Com a redução nos níveis de proteína da dieta foi observado efeito quadrático (Tabela 3) sobre os teores de gordura na carcaça, e umidade, proteína (Figura 2) e gordura nos filés.

Apesar da importância da composição química da carcaça, destaca-se a dificuldade de preparo da amostra para análises laboratoriais, pela presença de ossos, escamas e nadadeira, que dificultam a moagem da carcaça e obtenção de amostra homogênea, o que não ocorre com as amostras de filés. Assim, presumindo a relação positiva entre a composição química da carcaça e do filé, parece ser mais adequada as inferências dos efeitos dos tratamentos sobre a composição química dos filés.

Tabela 3. Valores médios de composição química da carcaça e do filé da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas reduzidas em proteína digestível

	Proteína digestível (%)				CV ¹
	26,74	25,82	23,09	22,16	
	Composição química da carcaça (%)				
Umidade	68,75	66,20	65,59	67,39	2,25
Proteína bruta	17,12	16,36	16,16	16,37	2,71
Extrato etéreo ²	6,88	9,48	9,73	8,78	7,05
Cinzas	5,25	5,49	5,33	5,05	15,68
	Composição química do filé (%)				
Umidade ²	74,56	73,37	74,00	75,11	0,62
Proteína bruta ²	21,40	21,85	21,18	20,52	1,49
Extrato Etéreo ²	1,88	2,32	2,39	2,01	9,62
Cinzas	1,38	1,45	1,38	1,37	3,30

¹CV = Coeficiente de variação

²Efeito quadrático: (P<0,05): gordura na carcaça ($Y = -295,0538 + 25,297X - 0,5247X^2$; $R^2 = 0,78$); umidade do filé ($Y = 279,1850 - 16,7108X + 0,3387X^2$; $R^2 = 0,73$); proteína no filé ($Y = -80,8457 + 8,1898X - 0,1632X^2$; $R^2 = 0,77$); gordura no filé ($Y = -69,5513 + 5,9283X - 0,1218X^2$; $R^2 = 0,61$).

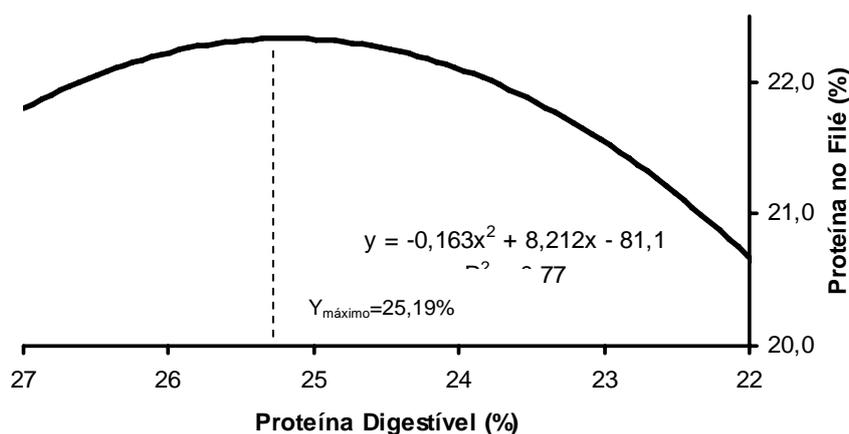


Figura 2 – Valores médios de proteína no filé da tilápia-do-Nilo alimentada com dietas reduzidas em proteína digestível

A composição em umidade dos filés dos peixes foi inversamente relacionada com os teores de proteína e gordura nos filés, em que o menor teor de umidade foi

associado aos maiores teores de proteína e gordura nos filés. No presente trabalho, é possível observar que o adequado nível de proteína e o balanceamento de aminoácidos influenciaram a deposição de proteína nos filés, mas não acarretou em redução nos níveis de gordura, principalmente pela suplementação de lisina, como observado por Zhou et al. (2007), em experimento com juvenis de cobia (*Rachycentron canadum*).

Com a redução dos níveis de proteína na dieta foi observada redução linear sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da energia bruta, proteína bruta, extrato etéreo e fósforo das dietas (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da energia e nutrientes das dietas contendo diferentes níveis de proteína digestível

CDA (%)	Proteína digestível (%)				CV ¹
	26,74	25,82	23,09	22,16	
Energia bruta ²	79,22	78,79	76,65	74,14	3,01
Proteína bruta ²	88,15	90,76	83,44	83,04	4,34
Extrato etéreo ²	91,78	92,11	89,96	88,66	1,78
Cálcio	48,44	28,89	43,96	25,26	30,81
Fósforo ²	61,79	60,04	58,33	40,73	17,68

¹ CV = Coeficiente de variação

² Efeito linear: (P<0,05): energia bruta (Y = 52,1587 + 1,0241X; R² = 0,66); proteína bruta (Y = 49,0439 + 1,5255X; R² = 0,77); extrato etéreo (Y = 73,3019 + 0,7086X; R² = 0,84); fósforo (Y = -31,8174 + 3,5598X; R² = 0,58).

A redução nos coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes das dietas com a redução do teor de proteína provavelmente está relacionada com a inclusão de farinha de peixe, cujo coeficiente de digestibilidade da matéria seca e proteína bruta para a tilápia-do-Nilo são menores do que o do farelo de soja (Furuya et al., 2001; Pezzato et al., 2002; Guimarães et al., 2008), provavelmente em função dos teores de minerais, peles e escamas da farinha de peixe.

As tilápias se destacam pela elevada digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos convencionais e alternativos de origem vegetal (Fagbenro, 1998;

Pezzato et al., 2002), principalmente pela utilização dos carboidratos como fonte de energia (Degani e Revach, 1991), o que não ocorre em peixes carnívoros (NRC, 1993). De acordo com (Kubarik, 1997), as tilápias possuem adaptações morfológicas e fisiológicas que permitem a utilização mais eficiente dos alimentos de origem vegetal (Hanley, 1987; Guimarães et al., 2008a,b).

Para adequada suplementação de aminoácidos, é necessário o conhecimento das exigências, bem como da digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos utilizados. Nos últimos anos, com a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente da energia e proteína dos alimentos convencionais e alternativos (Furuya et al., 2001; Pezzato et al., 2002) e valores de proteína e aminoácidos digestíveis dos alimentos (Furuya et al., 2001; Pezzato et al., 2002; Guimarães et al., 2008a,b) para a tilápia-do-Nilo, há possibilidade de elaboração de dietas mais precisas, que atendam as exigências dos peixes e que resultem em menor impacto ambiental.

A redução do nível de proteína em dietas para peixes é importante não somente pelo aspecto produtivo, mas para permitir a criação de peixes de forma ambientalmente sustentável.

Conclusão

Concluiu-se que é possível reduzir a proteína digestível em dietas para a tilápia-do-Nilo na fase de 100 a 500 g de 26,74 para 24,53%, para melhores resultados sobre a conversão alimentar, utilização de nitrogênio, composição química da carcaça e do filé, sem efeitos negativos sobre os demais parâmetros de desempenho produtivo.

Literatura citada

- ABBOUDI, T.; MAMBRINI, M.; LARONDELLE, Y. et al. The effect of dispensabel amino acids on nitrogen and amino acid losses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry fed a protein-free diet. **Aquaculture**, v. 289, p. 327-333, 2009.
- AGUIAR, D.H.; BARROS, M.M.; PADOVANI, C.R. et al. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. **Journal of Fish Biology**, v. 67, p. 1287–1298, 2005.
- BOTARO, D.; FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R. et al. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.517-525, 2007.
- BREMER-NETO, H.; GRANER, C.A.F.; PEZZATO, L.E.; PADOVANI, C.R. The spectrophotometric method on the routine of 1,5-dipenylcarbazide was adjusted on chromium determination in feces, aftes its utilization as a biological marker as chromium (III) oxide. **Ciência Rural**, v. 35, p. 691-697, 2005.
- CAMARGO, A.A.C.; DAL PAI SILVA, M.; PELLIZZON, C.H.; CARVALHO, R.F. Aspectos morfológicos da regeneração muscular na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Int. J. Morphol.** v.22, n.1, 2004.
- CHAKRABORTY, S.C.; CHAKRABORTY, S. Effect of dietary protein level on excretion of ammonia in Indian major carp (*Labeo rohita*), fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v.4, p.47-51, 1998.
- 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, 2003.
- COWEY, C.B. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. **Aquaculture**, v. 123, p. 1-11, 1994.
- COWEY, C.B.; WALTON, M.J. Studies on the uptake of (¹⁴C) amino acids derived from both dietary (¹⁴C) protein and dietary (¹⁴C) amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. **Journal of Fish Biology**, v. 33, p. 293-305, 1988.
- DEGANI, G.; REVACH, A. Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio* L., tilapia, *Oreochromis aureus* x *O. niloticus*, and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1882). **Aquac. Fish. Manag.**, v. 22, p.397-403, 1991.
- DUBOWITZ, V.; BROOKE, M.H. **Muscle biopsy: a modern approach**. London: Sunders, 1973. 220p.
- ESPE, M.; LEMME, A.; PETRI, A. et al. Can Atlantic salmon grow on diets devoid of fish meal? **Aquaculture**, v. 255, p. 255-262, 2006.
- FAGBENRO, O.A.; BALOGUN, A.M.; FASAKIN, E.A. et al. Dietary lysine requirement of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal of Applied Aquaculture**, v.8, p.71-77, 1998.

- FAO Food and Agriculture Organization - **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. Rome: FAO. 2009. 196p.
- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C. et al. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1125-1131, 2001a.
- FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. Exigência de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 885-889, 2001b.
- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; et al. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v. 3, p. 1110-1116, 2004a.
- FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; NEVES, P.R. Exigência de lisina pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1933-1937, 2004b.
- FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G. et al. Aplicação do Conceito de Proteína Ideal para Redução dos Níveis de Proteína em Dietas para Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1433-1441, 2005.
- GAYLOR, T.G.; BARROWS, F.T. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds. **Aquaculture**, v. 287, p. 180–184, 2009.
- GUIMARÃES, T.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 39, n. 6, p. 781-789, 2008a.
- GUIMARÃES, T.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, p. 396-404, 2008.b
- HANLEY, F. The digestibility of foodstuffs in the effects of feeding selectivity on digestibility determination in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v. 6, p.163-179, 1987.
- JAUNCEY, K.; ROSS, B. **A guide to tilapia feed and feeding**. Scotland: University of Stirling, 1982. 111p.
- JOHNSTON, M.D.; STWART, D.F.; MOODY, W.G. et al. Effect and time of feed on size and distribution of bred muscle fiber types. **Journal of Animal Science**, v.40, p 613-620, 1975.
- KAUSHIK, S.J., CRAVEDI, J.P.; LALLES, J.P. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 133, p. 257-274, 1995.
- KUBARIK, J. Tilapia on highly flexible diets. **Feed International**, v. 6, p.16-18, 1997.

- LI, M.H.; ROBINSON, E.H. Effects of supplemental Lysine and Methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 163, p. 297-307, 1998.
- LILLIE, R.D. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 2 ed. New York: Blakiston, 1954. 501p.
- MEXIA, A. A.; MACEDO, F.A. F. de.; MACEDO, R.M.G. de. et al. Desempenho e características das fibras musculares esqueléticas de cordeiros nascidos de ovelhas que receberam suplementação alimentar em diferentes períodos da gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1780-1787, 2006.
- MOLINE, S.W.; GLENNER, G.G. Ultrarapid tissue freezing in liquid nitrogen. **Journal Histochemistry and Cytochemistry**, v.12, n.10, p.777-783, 1964.
- MURAI, T.; AKIYAMA, T.; WATANABE, T. et al. Effects of dietary protein and lipids levels on performance and carcass composition of fingerlings carp (*Cyprinus carpo*). **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.54, p.605-608, 1985.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC **Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1993. 102p.
- NOSE, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). **Bulletin Freshwater Fish Research Laboratory**, v.10, p.11-22, 1960.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- PLAKAS, S.M.; KATAYAMA, T. Apparent digestibilities of amino acids from three regions of the gastrointestinal tract of carp (*Cyprinus carpo*) after ingestion of a protein and corresponding free amino acid diet. **Aquaculture**, v.24, p.309-314, 1981.
- PULLEN, A.H. The distribution and relative sized of fibre types in the extensor digitorum longus and soleus muscles of the adult rat. **Journal of Anatomy**, v.123, n.1, p.467-86, 1977.
- SAEG - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Viçosa: UFV, 1982. 52p.
- SCHEUERMANN, G.N. Alteração na quantidade e qualidade da carne de aves através da manipulação das fibras musculares. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIAAVICOLAS, 2004, Santos, SP. *Anais...* Campinas: FACTA, 2004, v.2. p.165-178.
- 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.
- SILVA, D.J; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

- SMITH, D.P.; D.L., FLETCHER. Chicken breast muscle fiber type and diameter as influenced by age and intramuscular location. **Poult. Sci.**, v. 67, p. 908-013, 1988.
- VIOLA, S., LAHAV, E. Effects of lysine supplementation in practical carp feeds on total protein sparing and reduction of pollution. **The Israeli Journal of Aquaculture**.v. 43, p. 112–118, 1991.
- YAMADA, S.; SIMPSOM, K.; TANAKA, Y. et al. Plasma amino acid changes in rainbow trout force-fed casein and corresponding amino acid mixture. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.47, p.1035-1040, 1981.
- 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.
- ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; CHI, S.Y. et al. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron Canadum*). **Aquaculture**, v. 273, p. 634-640, 2007.