

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA DE LISINA E RELAÇÃO TREONINA:LISINA
EM DIETAS PARA TILÁPIAS DO NILO NA TERMINAÇÃO

Autora: Mariana Michelato

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

MARINGÁ
Estado do Paraná
outubro – 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA DE LISINA E RELAÇÃO TREONINA:LISINA
EM DIETAS PARA TILÁPIAS DO NILO NA TERMINAÇÃO

Autora: Mariana Michelato

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

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

MARINGÁ
Estado do Paraná
outubro - 2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

M623e Michelato, Mariana
Exigência de lisina e relação treonina: lisina em dietas para Tilápias do Nilo na terminação / Mariana Michelato. -- Maringá, 2013.
54 f. : il., color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2013.

1. Crescimento - peixe. 2. Retenção de aminoácidos. 3. Rendimento de filé. 4. Fibra muscular. I. Furuya, Wilson Massamitu, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 21.ed. 639.3774

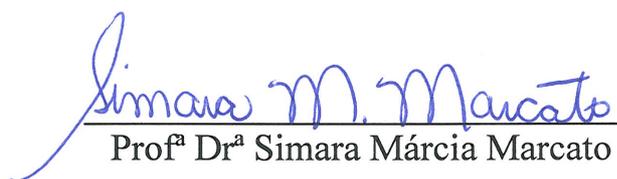


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Autora: Mariana Michelato
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção Animal

APROVADA em 21 de outubro de 2013.


Prof^ª Dr^a Simara Márcia Marcato


Prof^ª Dr^a Fernanda Losi
Alves de Almeida


Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo


Prof^ª Dr^a Ana Lúcia Salaro


Prof. Dr. Wilson Massamitu
Furuya
(Orientador)

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”

Chico Xavier

Ao

meu pai, **Nivaldo Aparecido Michelato**, que com toda sua simplicidade me ensinou a dar valor ao que realmente importa nessa vida.

À

minha mãe, **Juliane Jung Michelato**, minha maior incentivadora, o meu exemplo de amor e paciência.

À

vocês, os maiores presentes que recebi em minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde e por sempre iluminar e guiar minha vida;

Ao Professor Dr. Wilson Massamitu Furuya, minha eterna gratidão pelos dez anos de orientação e amizade. Por sua paciência e dedicação, pelos inúmeros conselhos profissionais e pessoais, pela confiança e incentivos demonstrados ao longo de toda minha vida acadêmica;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, por todas as oportunidades a mim proporcionadas;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos concedida;

Ao professor Msc. Luiz Alexandre Filho e Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro pela recepção e orientação durante fase experimental em Diamante do Norte;

Ao Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo e seus orientados pela amizade e auxílio nos experimentos;

À Prof. Dr^a. Fernanda Losi Alves de Almeida pela amizade, dedicação e orientações que foram fundamentais para a realização desse trabalho;

À minha querida Prof. Dr^a. Claudete Regina Alcalde, pela amizade e companheirismo ao longo de todos esses anos de formação;

Aos professores Dr. Cláudio Scapinello, Dr. Ivan Moreira, Dr. Ricardo Pereira Ribeiro e Dr^a. Simara Márcia Marcato pela participação e valiosa contribuição em minha banca de qualificação;

A toda Família Furuya, em especial a minha amiga Valéria Barriviera Furuya, pela atenção, carinho e incentivos que foram fundamentais para mim;

À toda minha família, em especial aos meus tios e tias Jeanete Jung, James Jung, Maria Edith Friederich Scheibler, Simone Simões e Claire Spelmeier que sempre estiveram na torcida;

À minha irmã de coração Adrieli Bertolini, que mesmo tão longe está sempre perto mim. Ao Vinicius e Julia Bertolini que são minha família nos EUA;

Aos grandes amigos que fiz na pós-graduação Tadeu Orlandi Xavier, Lorena Batista e Tatiana García Diaz, pela amizade, dedicação e pelos muitos momentos de alegria e diversão.

A Solange Tarosso pela acolhida e carinho que sempre teve por mim;

Aos meus antigos colegas do grupo de pesquisa que fazem parte desta história: Luiz Vítor Vidal, Thêmis Sakaguti Graciano, Lilian Dena, Tarcila Souza, Lilian Carolina, Kátia Kalko e José Sérgio Rigueti.

Aos amigos de Diamante do Norte, Geraldo e Cicero e funcionários da CODAPAR, Vitor, José Geraldo e Cleiton, pela ajuda em todas as fases do experimento.

Aos funcionários da Universidade Estadual de Maringá, Denilson, Bete, Francisco, Creuza e Cleusa pela atenção e amizade;

À Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio Ltda, pela doação dos aminoácidos e análises laboratoriais.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho e conclusão desse período tão especial em minha vida.

Obrigada!

BIOGRAFIA

MARIANA MICHELATO, filha de Nivaldo Aparecido Michelato e Juliane Jung Michelato, nasceu em Cornélio Procópio, Estado do Paraná, no dia 08 de abril de 1985.

Em maio de 2003, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, concluindo-o em dezembro de 2007.

No dia 26 de março de 2010 defendeu sua Dissertação, obtendo o título de Mestre em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá. Em 2010, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Peixes.

Em 21 de outubro de 2013, submeteu-se à banca de defesa de Tese recebendo o título de Doutora em Produção Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
I - INTRODUÇÃO	1
II – OBJETIVOS GERAIS.....	14
III – EXIGÊNCIA DE LISINA PARA A TILÁPIA DO NILO NA TERMINAÇÃO ALIMENTADAS COM DIETAS COM BAIXOS NÍVEIS DE PROTEÍNA.....	15
Resumo.....	15
Abstract.....	16
Introdução.....	17
Material e Métodos.....	18
Resultados.....	23
Discussão.....	29
Agradecimentos.....	33
Referências.....	33
IV – RELAÇÃO TREONINA:LISINA EM DIETAS PARA A TILÁPIA DO NILO NA TERMINAÇÃO.....	37

Resumo.....	37
Abstract.....	38
Introdução.....	39
Material e Métodos.....	40
Resultados.....	44
Discussão.....	50
Agradecimentos.....	53
Referências.....	53

LISTA DE TABELAS

	Página
I - INTRODUÇÃO	1
Tabela 1. Exigências de lisina publicadas por diferentes autores para a tilápia do Nilo, “catfish”, salmão do Atlântico e truta arco-íris	6
Tabela 2. Exigências de treonina publicadas por diferentes autores para a tilápia do Nilo, truta arco-íris e salmão do Atlântico.....	9
III – EXIGÊNCIA DE LISINA PARA A TILÁPIA DO NILO NA TERMINAÇÃO ALIMENTADAS COM DIETAS COM BAIXOS NÍVEIS DE PROTEÍNA.....	15
Tabela 1. Formulação das dietas experimentais (g kg ⁻¹).....	20
Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g kg ⁻¹), com base em matéria seca.....	21
Tabela 3. Valores médios de desempenho de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina ¹	24
Tabela 4. Composição proximal corporal e dos filés (g 100 g ⁻¹) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina ¹	25
Tabela 5. Composição corporal de aminoácidos essenciais e não essenciais de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina ¹	26
Tabela 6. Retenção corporal de proteína e aminoácidos essenciais e não essenciais (%) das tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina ¹	28

Tabela 7. Frequência de ocorrência de fibras musculares brancas em classes de diâmetro, de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina.....	29
III – RELAÇÃO TREONINA:LISINA EM DIETAS PARA A TILÁPIA DO NILO NA TERMINAÇÃO.....	37
Tabela 1. Formulação das dietas experimentais (g kg ⁻¹).....	41
Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g kg ⁻¹), com base em matéria seca.....	42
Tabela 3. Valores médios de desempenho de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina ¹	45
Tabela 4. Composição proximal corporal e dos filés (g 100 g ⁻¹) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina ¹	46
Tabela 5. Composição corporal de aminoácidos essenciais e não essenciais de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina ¹	47
Tabela 6. Retenção corporal de proteína e aminoácidos essenciais e não essenciais (%) das tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina ¹	49

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estrutura da lisina.....	4
Figura 2. Catabolismo dos aminoácidos essenciais e não essenciais.....	5
Figura 3. Exigência de lisina com base na porcentagem de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), “catfish” (<i>Ictalurus punctatus</i>), salmão do Atlântico (<i>Salmo salar</i>) e truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	7
Figura 4. Estrutura da treonina.....	8
Figura 5. Relação treonina:lisina em dietas para a tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), salmão do Atlântico (<i>Salmo salar</i>) e truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	10

RESUMO

Dois experimentos foram realizados para determinar a exigência dietética de lisina (Experimento I) e avaliar dietas com diferentes relações de treonina:lisina (Experimento II) para tilápias do Nilo na fase de terminação. Em ambos os experimentos, os peixes foram alimentados com dietas extrusadas, até saciedade aparente. No Experimento I, 800 peixes ($274,5 \text{ g} \pm 3,59 \text{ g}$) foram distribuídos em 20 gaiolas de $1,2 \text{ m}^3$ cada, para avaliar dietas contendo níveis crescentes de lisina, durante 40 dias. Foram elaboradas cinco dietas extrusadas contendo $3114 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energia digestível e $250,8 \text{ g kg}^{-1}$ de proteína bruta com níveis crescentes de L-lisina, contendo 11,17; 12,49; 13,76; 15,12 e $16,31 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina. Não foram observados efeitos significativos sobre o ganho diário de peso, conversão alimentar, rendimento de carcaça, composição corporal e dos filés e frequência de ocorrência do diâmetro das fibras musculares brancas entre os tratamentos. Foi observado aumento linear sobre o peso do filé e efeito quadrático sobre o rendimento de filé, composição corporal em arginina, fenilalanina e triptofano, retenção de proteína, arginina e lisina, que os valores máximos foram estimados com 14,08; 13,94; 14,34; 14,31; 13,09; 13,91 e $12,30 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina, respectivamente. Foi observada maior frequência de ocorrência de fibras com diâmetro de 20 a $50 \mu\text{m}$. Concluiu-se que 11,17 a $16,31 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina (4,45 a 6,50% da proteína da dieta), atendem as exigências para desempenho produtivo, contudo, $14,08 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina (5,61% da proteína da dieta), resulta em maior rendimento de filé de tilápias do Nilo na fase de terminação. No Experimento II, 600 peixes ($563,30 \text{ g} \pm 15,09 \text{ g}$) foram distribuídos em 20 gaiolas de $1,2 \text{ m}^3$ cada. Os peixes foram alimentados com cinco dietas contendo $264,55 \text{ g kg}^{-1}$ de proteína bruta, $3043 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energia digestível e relações treonina:lisina de 59,34; 69,13; 81,44; 90,45 e 102,66%, durante quatro

semanas. Não foram observadas diferenças significativas sobre o ganho de peso diário, conversão alimentar, gordura visceral, índice hepatossomático, rendimento de carcaça, composição corporal e composição do filé. Observou-se efeito quadrático da utilização de dietas com diferentes relações treonina:lisina sobre o peso de filé, rendimento de filé, e arginina, treonina, serina e tirosina corporal, em que os valores máximos foram estimados em 80,71; 79,13; 85,01; 86,63; 83,85 e 86,07%, respectivamente. Concluiu-se que a utilização de dietas com relação treonina:lisina de 79,13% (11,59 g kg⁻¹ de treonina) proporciona melhor eficiência na utilização da proteína e aminoácidos dietéticos resultando em maior rendimento de filé da tilápia do Nilo de 550 a 800 g.

Palavras-chave: crescimento, peixe, retenção de aminoácidos, rendimento de filé, fibra muscular

ABSTRACT

Two experiments were conducted out to determine the dietary lysine requirements (Experiment I) and evaluate diets containing increasing threonine to lysine ratios (Experiment II) for finishing Nile tilapia fed low protein diets. In both experiments, fish were fed to extruded diets until apparent satiety. In the Experiment I, 800 Nile tilapia ($274.5 \text{ g} \pm 3.59 \text{ g}$) were distributed into 20-1.2 m³ cages to evaluate diets containing increasing levels of lysine, during 40 days. Five extruded diets containing 3114 kcal kg⁻¹ digestible energy and 250.8 g kg⁻¹ crude protein were elaborated with graded levels of L-lysine, containing 11.17, 12.49, 13.76, 15.12 e 16.31 g kg⁻¹ of lysine. No significant effects on daily weight gain, feed conversion ratio, carcass yield, body and fillet compositions and frequency of occurrence of white muscle fiber diameter among treatments were observed. A linear increases on fillet weight and quadratic effect on fillet yield, body composition of arginine, phenylalanine and tryptophan, protein, arginine and lysine retention, which the maximum values were estimated at 14.08, 13.94, 14.34, 14.31, 13.09, 13.91 e 12.30 g kg⁻¹ of lysine, respectively. Higher frequency of occurrence of fibers with 20 to 50 μm was observed. It was concluded that 11.17 to 16.31 g kg⁻¹ of lysine (4.45 to 6.50% of dietary protein) meet the requirements for fish performance, however 14.08 g kg⁻¹ of lysine (5.61% of dietary protein) results in higher fillet yield of Nile tilapia, fed low protein diets. In the Experiment II, 600 fish ($563.30 \pm 15.09 \text{ g}$) were distributed into 20-1,2 m³ cages. Fish were fed to diets containing 264.55 g kg⁻¹ of crude protein, 3,043 kcal kg⁻¹ of digestible energy and threonine to lysine ratios of 59.34, 69.13, 81.44, 90.45 and 102.66% , during a 4-weeks growth experiment. No significant differences on daily weight gain, feed conversion ratio, visceral fat, hepatosomatic index, carcass yield, body composition and fillet

composition were observed. A quadratic effect of the dietary lysine ratios on fillet weight, fillet yield, body arginine, threonine, serine and tyrosine was observed, which the maximum values were estimated at 80.71, 79.13, 85.01, 86.63, 83.85 and 86.07%, respectively. It was concluded that diets containing threonine to lysine ratios of 59.73 to 102.93% do not affect fish growth performance, but the dietary threonine to lysine ratio of 79.13% (11.59 g kg⁻¹ of threonine), is necessary for higher fillet yield of Nile tilapia from 550 to 800 g.

Keywords: amino acids retention, fish, fillet yield, growth performance, skeletal muscle fiber

I - INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma atividade econômica consolidada e desenvolvida em diversos países. Apesar dos impactos da crise econômica, a aquicultura tem apresentado crescimento médio anual de 3,2%, com produção de peixes que há cinco décadas supera a taxa de crescimento populacional global (FAO 2012). No ano de 2010, a piscicultura foi responsável pelo fornecimento de 148 milhões de toneladas de peixes, sendo 89% desta produção provenientes exclusivamente do continente asiático. O Brasil, neste mesmo ano, contribuiu com 18,8% da produção mundial, ocupando o terceiro lugar no ranking dos maiores produtores das Américas, com o Chile e os EUA nas primeiras posições, respectivamente (FAO 2012).

A expressiva contribuição do Brasil na produção aquícola mundial se deve, principalmente, aos incentivos do governo para desenvolvimento e pesquisa, tendo em vista o grande potencial que este país apresenta para tal atividade. A região sul é a que detém a maior produção de pescado do país, com índice de 33,8% seguido pelas regiões nordeste (19,9%), sudeste (17,9%), centro-oeste (17,7%) e norte (10,5%), perfazendo, no ano de 2010, a produção superior a 450 mil toneladas de peixes. Apesar da grande variedade de espécies de peixes exploradas economicamente, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie mais empregada na piscicultura brasileira, com produção de 253.824 toneladas em 2011 (MPA 2013). O Brasil é o maior produtor de tilápias da América do Sul, seguido pela Colômbia e Equador (FAO 2012).

No Brasil, diferentes tipos de alimentos de origem animal e vegetal são empregados com sucesso na elaboração de dietas comerciais para peixes. O perfil e a biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais e não essenciais variam de acordo com o

alimento e espécie, sendo importante determinar os aminoácidos mais limitantes em dietas para peixes (Furuya *et al.* 2010).

A inclusão de aminoácidos industriais em dietas experimentais e comerciais para melhorar o perfil de aminoácidos é uma prática amplamente utilizada, principalmente em dietas que utilizam elevadas proporções de ingredientes proteicos de origem vegetal, ou quando se deseja reduzir o nível de proteína da dieta. O adequado balanceamento de aminoácidos da dieta objetiva a melhor eficiência na utilização da proteína que, conseqüentemente, promove a melhora no desempenho, aumento na produtividade, redução no custo com alimentação e menor excreção de nitrogênio pelos peixes.

Um dos métodos atuais de balanceamento de dietas para monogástricos é a aplicação do conceito de proteína ideal. A proteína ideal é definida como o balanço de aminoácidos que atende as exigências dos animais sem deficiência ou excesso, de forma a atender as exigências de manutenção e produção (Mitchell 1964). A aplicação desse conceito pode ser adaptada a uma variedade de situações, pois, ainda que as exigências absolutas de aminoácidos possam mudar por diversas razões, as proporções permanecem praticamente estáveis, favorecendo a utilização dos aminoácidos e reduzindo a excreção de nitrogênio, fator que contribui para a menor poluição ambiental (Parsons & Baker 1994).

Recentemente, diversas pesquisas têm sido realizadas para avaliar a utilização de aminoácidos industriais em dietas para peixes, quando são utilizadas fontes alternativas de proteína vegetal em substituição aos ingredientes de origem animal. Para adequada suplementação de aminoácidos é necessário o conhecimento das exigências nutricionais, 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 de aminoácidos para peixes adultos, uma vez que a maioria das pesquisas foram realizadas com alevinos ou peixes com peso inferior a 300 g, não havendo evidências de que as exigências determinadas para essas fases podem ser aplicadas para peixes adultos, principalmente quando se objetiva determinar o melhor nível e/ou relação de aminoácidos para maximizar a produção de filés.

1. Tilápia do Nilo

Amplamente difundidas em países de clima tropical e subtropical, acredita-se que as tilápias são cultivadas a mais de 4000 anos. Na China, foram introduzidas um milênio antes das carpas (Balarin & Hatton 1979). O primeiro experimento realizado com tilápias que se tem registro ocorreu no Quênia em 1920, e teve como o objetivo estabelecer a criação da espécie no continente e difundir seu cultivo por todo o mundo.

As tilápias pertencem à família *Cichlidae* e apesar do grande número de espécies que recebem a denominação de tilápia, a *Tilapia rendalli*, *Tilapia zilli*, *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus* e *Oreochromis urolepis hornorum* são as mais conhecidas e exploradas economicamente na aquicultura (Stickney 1997).

No Brasil, o primeiro registro da tilápia do Nilo (variedade Bouaké), foi no ano de 1971 em que 60 exemplares provenientes da Costa do Marfim foram introduzidos no estado do Ceará (Castagnolli 1992). A tilápia do Nilo da variedade Chitralada foi introduzida posteriormente no ano de 1996 repassadas para produtores do estado do Paraná. O desenvolvimento da tilápia do Nilo variedade GIFT – Genetic Improvement of Farmed Tilapia, através de um programa de reprodução seletiva, é o primeiro na história do melhoramento genético de peixes tropicais (Gupta & Acosta 2004). Este projeto de pesquisa teve início em 1988 e é liderado pelo órgão internacional “WorldFish Center”. No Brasil, o melhoramento genético de tilápias teve início em março de 2005, na cidade de Maringá – PR, por meio de um convênio realizado entre a Universidade Estadual de Maringá e o “WorldFish Center” com o apoio da SEAP – Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca, atual Ministério de Pesca e Aquicultura (MPA).

Em virtude de seu rápido crescimento, pela facilidade na obtenção de larvas, rusticidade e por possuir carne com boas características organolépticas com possibilidade de comercialização de filés sem espinhas intramusculares, as tilápias são, atualmente, uma das espécies mais cultivadas na aquicultura mundial (Degani & Revach 1991). Criadas em diferentes condições climáticas, sistemas de criação e de manejo, a tilápia do Nilo é a espécie mais utilizada na piscicultura brasileira (39,4%), seguido pela criação de carpa (*Cyprinus carpio*) (23,9%), tambaqui (*Colossoma macropomum*) (13,8%) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (5,4%) (MPA 2012).

De hábito alimentar onívoro, possui adaptações morfológicas e fisiológicas que permitem utilizar eficientemente os carboidratos como fonte de energia (Tengjaroenkul *et al.* 2000), promovendo a redução nos custos com a alimentação pela possibilidade de inclusão de ingredientes de origem vegetal (Pezzato *et al.* 2002).

2. Lisina

A lisina, assim como os demais aminoácidos, apresenta em sua estrutura química um grupo amino, um grupo carboxil e um grupo R ligados ao carbono α (Figura 1). Os grupos R nos aminoácidos variam em estrutura, tamanho e carga elétrica, que no caso da lisina lhe confere características hidrofílicas e carga positiva (Nelson & Cox 2011).

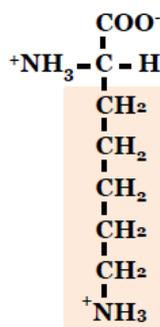


Figura 1. Estrutura da lisina (Nelson & Cox 2011).

A transaminação é o primeiro passo no catabolismo da lisina, assim como ocorre com a maioria dos aminoácidos, em que o grupo α -amino é transferido para o carbono α -cetoglutarato formando ácido glutâmico. A leucina e a lisina são aminoácidos exclusivamente cetogênicos, ou seja, produzem intermediários como acetoacetyl-CoA ou acetyl-CoA, os quais podem produzir corpos cetônicos e não glicose, diferentemente da isoleucina, fenilalanina, treonina, triptofano e tirosina que são aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Figura 2) (Nelson & Cox 2011). Em peixes, o catabolismo proveniente da oxidação de aminoácidos contribui com elevada quantidade de energia (Kaushik&Seiliez 2010) e a utilização de dietas desbalanceadas em um ou mais aminoácidos limita a deposição proteica, bem como a retenção dos demais aminoácidos, sendo a utilização da lisina influenciada pela sua concentração dietética (Encarnação *et al.* 2006)

Presente em elevada concentração no tecido muscular dos peixes (Wilson & Poe 1985), participa de importantes processos metabólicos como na síntese de carnitina,

ideal” (Mitchell 1964), que preconiza atender às exigências de todos os aminoácidos, permitindo otimizar a utilização da proteína e reduzir a excreção de amônia pelos peixes. Com base na proposta de que cada aminoácido essencial seja expresso em relação a um aminoácido referência - a lisina, a vantagem da aplicação do conceito é que por mais que as exigências quantitativas dos aminoácidos possam variar entre as espécies ou fase fisiológica, as proporções entre os aminoácidos em relação à lisina permanecem praticamente constantes (Mack 1998). A lisina é utilizada como aminoácido referência por ser estritamente essencial, sua análise nos alimentos ser relativamente simples (diferentemente da análise dos aminoácidos sulfurados e do triptofano), ser geralmente o primeiro aminoácido limitante em dietas que utilizam ingredientes de origem vegetal e utilizada quase que exclusivamente para a síntese proteica (Emmert & Baker 1997).

De acordo com o NRC (2011), a exigência dietética de lisina varia de 12 a 28 g kg⁻¹ (Tabela 1), e sua suplementação em dietas para peixes resulta em aumento no ganho em peso (Khan & Abidi 2011; Yang *et al.* 2011), aumento na retenção de nitrogênio (Cao *et al.* 2002) e redução no conteúdo de gordura corporal (Berge 1998; Furuya *et al.* 2006; Nguyen *et al.* 2013).

Tabela 1. Exigências de lisina publicadas por diferentes autores para a tilápia do Nilo “catfish”, salmão do Atlântico e truta arco-íris

Espécie	Nome científico	Lys (g kg ⁻¹ dieta)	PB dieta (%)	Pi – Pf (g)
Tilápia do Nilo ¹	<i>Oreochromis niloticus</i>	14,30	28,00	0,04 – 1,2
Tilápia do Nilo ²	<i>Oreochromis niloticus</i>	14,40	30,00	5,7 – 35,1
“Catfish” ³	<i>Ictalurus punctatus</i>	12,30	24,00	202,0 – 467,6
“Catfish” ⁴	<i>Ictalurus punctatus</i>	15,00	30,00	199,5 – 293,1
Truta arco-íris ⁵	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	19,00	40,00	5,0 – 45,7
Truta arco-íris ⁶	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	20,50	40,00	24,0 – 157,6
Salmão do Atlântico ⁷	<i>Salmo salar</i>	22,00	43,80	645,1 – 1007,6
Salmão do Atlântico ⁸	<i>Salmo salar</i>	26,20	51,00	100,0 – 210,0

Lys = lisina; PB = proteína bruta; Pi = peso inicial; Pf = peso final.

¹Santiago & Lovell (1988), ²Furuya *et al.* (2006), ³Wilson *et al.* (1977), ⁴Robinson *et al.* (1980a), ⁵Walton *et al.* (1984), ⁶Encarnação *et al.* (2004), ⁷Espe *et al.* (2007), ⁸Helland *et al.* (2011).

Apesar da grande variação dos valores descritos pelo NRC (2011), a exigência de lisina, quando apresentada como porcentagem da proteína da dieta, corresponde em média a 5,0% da proteína, independentemente do hábito alimentar do peixe. Para tilápias, os valores de lisina apresentados pelo NRC (2011) variam de 5,1 a 5,7% da proteína da dieta (Figura 3).

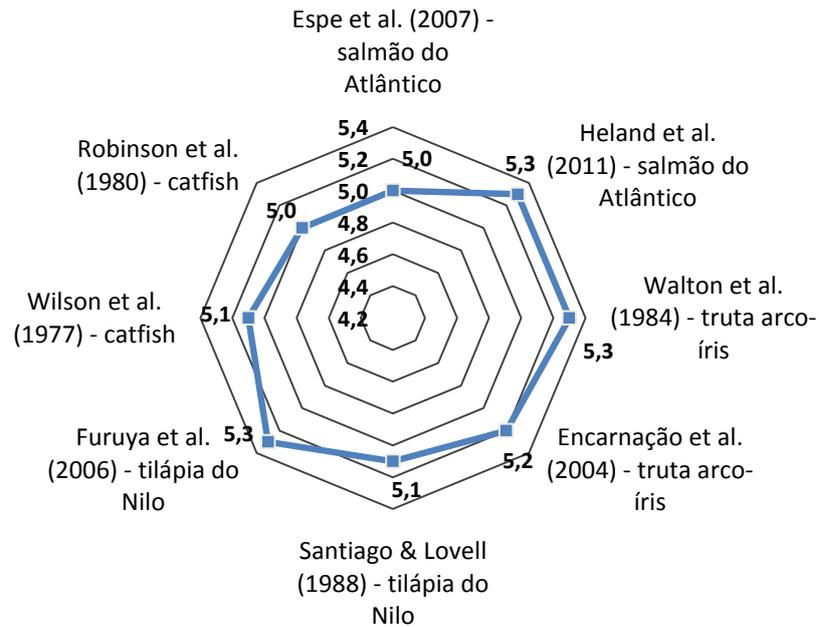


Figura 3. Exigência de lisina com base na porcentagem de proteína bruta em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), “catfish” (*Ictalurus punctatus*), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Como a lisina influencia o crescimento e a composição corporal, é importante a determinação de sua exigência para peixes destinados à industrialização para a produção de filés. No entanto, destaca-se que maioria dos experimentos foram realizados com peixes abaixo do peso comercial de abate estabelecido no Brasil e em condições laboratoriais.

3. Treonina

A treonina é um aminoácido essencial, indispensável para o crescimento normal dos peixes, pois participa da síntese de proteínas e outras funções metabólicas (Lovell 1989). Sua estrutura química apresenta dois átomos de carbono assimétricos e uma cadeia lateral polar neutra (sem carga líquida), que confere características hidrofílicas que permite o radical polar formar ligações de hidrogênio com a água (Figura 4).

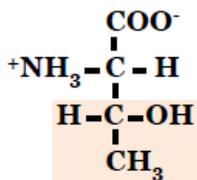


Figura 4. Estrutura da treonina (Nelson & Cox2011).

Em função disso, a treonina geralmente é encontrada na superfície da molécula proteica (Marzzoco & Torres 1999). Sua estrutura química (ácido α -amino β -hidroxibutírico) foi a última dos 20 aminoácidos normalmente encontrados nas proteínas a ser descoberta. A treonina só foi identificada no ano de 1938 e recebe este nome por causa de sua estrutura química ser semelhante à treose (Nelson & Cox 2011). Apesar de possuir isômeros químicos D e L-treonina, os animais podem apenas utilizar a L-treonina por conta de sua inabilidade em realizar a transaminação entre os isômeros (Kidd *et al.* 2005).

O metabolismo da treonina envolve produção de amônia em peixes, conversão dos esqueletos de carbono em glicose, gordura, energia, CO_2 e H_2O e ainda, a formação de derivados não proteicos (Kidd *et al.* 1996). Além de ser considerada um aminoácido glicogênico e cetogênico que permite a biossíntese de importantes intermediários metabólicos, a treonina é também precursora de aminoácidos não essenciais como a glicina e a serina (Nelson & Cox 2011).

Ao contrário da maioria dos aminoácidos, com a treonina não ocorre o processo de transaminação em que o grupo α -amino é transferido para o carbono α -cetoglutarato formando o α -cetoácido correspondente. No fígado, a treonina é deaminada e o grupo α -amino é separado do esqueleto carbonado, e assumem vias metabólicas distintas, porém interconectadas. A amônia produzida por este processo pode ser utilizada para a biossíntese de aminoácidos ou nucleotídeos, ou ter seu excesso excretado diretamente pelas brânquias dos peixes, sem a necessidade de conversão em outro metabólito como, por exemplo, a ureia. Os esqueletos de carbono resultantes do catabolismo da treonina podem ser direcionados para a gliconeogênese ou para a cetogênese, ou ainda serem completamente oxidados a CO_2 e H_2O . Para a via cetogênica, o acetil-CoA é produzido com a degradação da treonina e posteriormente convertido em β -hidroxibutirato (Davis & Austic 1982).

Outro intermediário metabólico formado com a degradação da treonina é o piruvato, que pode ser convertido em acetil-CoA e ser oxidado via ciclo do ácido cítrico, ou ser convertido em oxalacetato e direcionado para a gliconeogênese (Figura 2). A degradação da treonina à piruvato apresenta uma sequência de reações em que aminoácidos não essenciais como a glicina e serina são formados (Nelson & Cox 2011).

Além dos aminoácidos sulfurados e lisina, a treonina é um dos aminoácidos mais limitantes em dietas para tilápias, cuja exigência dietética varia de 11,1 a 13,5 g kg⁻¹, correspondendo de 3,96% a 5,51% da proteína bruta, respectivamente (Furuya 2010; NRC 2011). É considerado o primeiro aminoácido limitante para a produção de imunoglobulinas e mucina, sintetizada em grande quantidade pelos peixes no intestino e para o recobrimento da pele (Tibaldi & Tulli 1999).

A maioria dos experimentos realizados para determinar as exigências de treonina foram realizados com peixes abaixo do peso comercial de abate. Além disso, observa-se que as exigências quantitativas de treonina entre tilápias e peixes carnívoros, como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e salmão do Atlântico (*Salmo salar*), são mais próximas do que quando apresentadas como proporção da proteína bruta da dieta (Tabela 2).

Tabela 2. Exigências de treonina publicadas por diferentes autores para a tilápia do Nilo, truta arco-íris e salmão do Atlântico

Espécie	Nome científico	Thr (g kg ⁻¹ dieta)	% Thr na PB da dieta	Pi – Pf (g)
Tilápia do Nilo ¹	<i>Oreochromis niloticus</i>	10,50	3,75	0,1 - 1,0
Tilápia do Nilo ²	<i>Oreochromis niloticus</i>	13,50	5,00	37,6 - 351,5
Tilápia do Nilo ³	<i>Oreochromis niloticus</i>	11,10	3,96	1,6 - 21,2
Truta arco-íris ⁴	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10,57	2,66	1,8 - 4,7
Salmão do Atlântico ⁵	<i>Salmo salar</i>	10,65	2,68	0,8 - 6,1
Salmão do Atlântico ⁶	<i>Salmo salar</i>	13,10	2,54	79,4 - 165,7
Salmão do Atlântico ⁷	<i>Salmo salar</i>	13,30	2,41	39,2 - 89,9

Thr = treonina; PB = proteína bruta; Pi = peso inicial; Pf = peso final.

¹Santiago & Lovell (1988), ²Silva *et al.* (2006), ³Bomfim *et al.* (2008), ⁴Bodin *et al.* (2008), ⁵Bodin *et al.* (2008), ⁶Helland & Helland (2011), ⁷Helland *et al.* (2013).

Quando as exigências de treonina são apresentadas com base no conceito de “proteína ideal”, ou seja, em proporção a lisina, a relação em dietas para peixes carnívoros é inferior quando comparada à utilizada em dietas para a tilápia do Nilo (Figura 5). Apesar da semelhança entre as exigências quantitativas de treonina (g kg⁻¹ de dieta) em dietas para peixes carnívoros e da tilápia do Nilo, a menor relação treonina:lisina em dietas para peixes carnívoros pode ser explicada pela maior proporção de lisina na

proteína da dieta de peixes carnívoros ($\approx 8\%$ da proteína bruta da dieta) em relação a proporção obtida para tilápias ($\approx 5\%$ da proteína bruta da dieta).

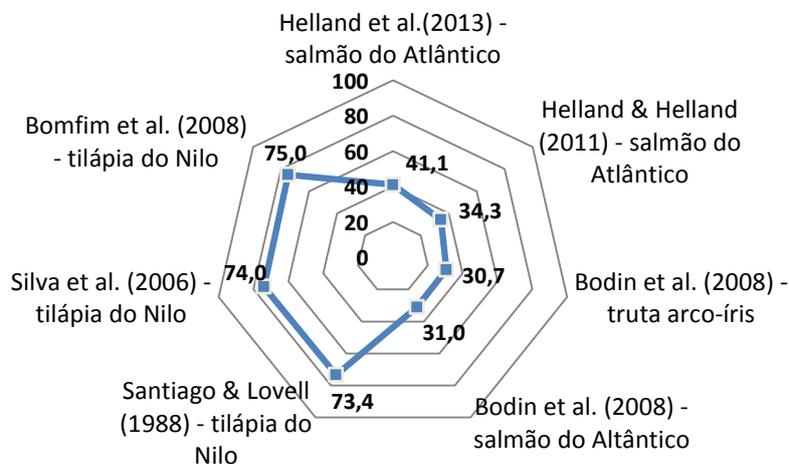


Figura 5. Relação treonina:lisina em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

As exigências dietéticas de treonina para tilápias são expressas em valores totais, com base em porcentagem da dieta ou porcentagem da proteína da dieta. A apresentação da exigência dietética de treonina com base no conceito de “proteína ideal” pode resultar em estimativas mais precisas das exigências, considerando as variações encontradas nas dietas, espécies utilizadas, manejo alimentar e taxa de crescimento dos peixes.

Considerando que existem poucas informações sobre as exigências de treonina para tilápias com peso comercial para abate, torna-se importante avaliar a melhor relação treonina:lisina para a tilápia do Nilo, uma vez que existe evidência que a deficiência de treonina afeta negativamente a utilização de aminoácidos essenciais e não essenciais e, conseqüentemente a retenção de proteína corporal. Ainda, considerando a maior exigência de lisina para a manutenção, relacionada com a produção de mucina, bem como sua função na síntese proteica, há possibilidade de maior rendimento de filés, principal produto originado da criação de tilápias.

Referências

- Balarin, J.D. & Hatton, J.P. (1979) *Tilapia: A Guide to their Biology and Culture in Africa*. University of Stirling, Stirling, UK.
- Bodin, N., Mambrini, M., Wauters, J.B., Abboudi, T., Ooghe, W., Boulenge, E.L., Larondelle, Y. & Rollin, X. (2008) Threonine requirements for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. *Aquaculture*, **274**, 353-365.
- Bomfim, M.A.D., Lanna, E.A.T., Dozele, J.L., Quadros, M., Ribeiro, F.B. & Araújo, W.A.G. (2008) Exigência de treonina, com base no conceito de proteína ideal, de alevinos de tilápias-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, **37**, 2077-2084.
- Castagnolli, N. (1992) *Piscicultura de água doce*. Funep, Jaboticabal, Brazil.
- Davis, A. T. & Austic, R. E. (1982) Threonine imbalance and the threonine requirement of the chicken. *J. Nutr.*, **112**, 2170-2176.
- Degani, G. & Revach, A. (1991) 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. Managem.*, **22**, 397-403.
- Emmert, J.L. & Baker, D.H. (1997) Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. *J. Appl. Poultry Res.*, **6**, 462-470.
- Encarnação, P., de Lange, C., Rodehutsord, M., Hoehler, D., Bureau, W. & Bureau, D.P. (2004) Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture*, 2004, **235**, 569–586.
- Encarnação, P.C.F.M. de Lange, & Bureau, D.P. (2006) Diet energy source affects lysine utilization for protein deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **261**, 1371-1381.
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A. & El-Mowafi, A. (2007) Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. *Aquaculture*, **263**, 168–178.
- Eyre, D.R. (1980) Collagen - molecular diversity in the body's protein scaffold. *Science*, **207**, 1315–1322.
- Food and agriculture organization – FAO. (2012) *The state of world fisheries and aquaculture 2012*. Roma, Italia
- Forster I. & Ogata H.Y. (1998) Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, **161**, 131–142.
- Furuya, W.M. (2010) *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*. GFM, Toledo, Brazil.
- Furuya, W.M., Santos, V.G., Silva, L.C.R. & Furuya, V.R.B. (2006) Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, **35**, 937-942.
- Gupta, M.V. & Acosta, B.O. (2004) From drawing board to dining table: The success story of the GIFT project. *NAGA - Worldfish Center Quarterly*, Penang, **27**, 4-14.

- Helland, B.G., Lemme, A. & Helland, S. (2013) Threonine requirement for maintenance and efficiency of utilization for threonine accretion in Atlantic salmon smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*, **372**, 158-166.
- Helland, S. & Helland, B.G. (2011) Dietary threonine requirement of Atlantic salmon smolts. *Aquaculture*, **321**, 230-236.
- Helland-Gisdale, B., Hatlen, B., Mundheim, H & Helland, S.J. (2011) Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. *Aquaculture*, **315**, 260-268.
- Kaushik, S.J. & Seliez, I. (2010) Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish. *Aqua. Res.*, **41**, 322-332.
- Kidd, M.T., Kerr, B.J., Firman, J.D. & Boling, S.D. (1996) Growth and carcass characteristics of broilers fed low protein-threonine supplemented diets. *J. Appl. Poultry Res.*, **5**, 180-190.
- Kidd, M.T., Virden, W.S., Corzo, A., Dozier, W.A. & Burnham, D.J. (2005) Amino acid density and L-threonine responses in ross broilers. *I. J. Poultry Sci.*, **4**, 258-262.
- Li, P., Mai, K., Trushenski, J. & Wu, G. (2009) New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, **37**, 43-53.
- Lovell, R.T. (1989) Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York, USA:
- Mack, S. (1998) Amino acids in broiler nutrition-requirements and interrelations. In: *Simpósio internacional sobre nutrição de aves*. Campinas, CBNA, 69-86.
- Mai, K.S., Zhang, L., Ai, Q.H., Duan, Q.Y., Zhang, C.X., Li, H.T., Wan, J.L. & Liufu, Z.G. (2006) Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, **258**, 535-542.
- Marzocco, A. & Torres, B. B. (1999) Bioquímica básica. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, Brazil.
- Michell, H.H. (1964) Comparative nutrition of man and domestic animals. pp. 129-191. Academic Press, New York, USA.
- MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura) (2013) Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. Brasília, Brazil.
- Nelson, D.L. & Cox, M. (2011) Lehninger – Princípios de Bioquímica. Artmed, Porto Alegre, Brazil.
- NRC (National Research Council) (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Ozorio, R.O.A., Verreth, J.A.J., Aragão, C.R., Vermeulen, C.J., Schrama, J.W., Verstegen, M.W.A. & Huisman, E.A. (2003) Dietary carnitine supplements increased lipid metabolism and decreased protein oxidation in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles fed high fat levels. *J. Aquac. Trop.*, **18**, 225-238.
- Parsons, C.M. & Baker, D.H. (1994) The concept and usage of ideal proteins in the feeding of nonruminants. In: *Simpósio Internacional de Produção de Não-Ruminantes*, Maringá, Brazil.

- Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M. & Pezzato A.C. (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, **31**, 1595-1604.
- Robinson, E.H., Wilson, R.P. & Poe, W.E. (1980a) Re-evaluation of the lysine requirement and lysine utilization by fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, **110**, 2313-2316.
- Santiago, C.B. & Lovell, R.T. (1988) Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutr.*, **118**, 1540-1546.
- Silva, L.C.R., Furuya, W.M., Santos, L.D., Santos, V.G., Silva, T.S.C. & Pinsetta, P.J. (2006) Níveis de treonina em rações para tilápias-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, **35**, 1258-1264.
- Stickney, R.R. (1997) Tilapia update 1996. *World Aquac.*, **28**, 20-25.
- Tengjaroenkul, B., Smith, B.J., Caceci, T. & Smith, S.A. (2000) Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, **182**, 317-327.
- Tibaldi, E. & Tulli, F. (1999) Dietary threonine requirement of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, **175**, 155-166.
- Walton, M.J., Cowey, C.B. & Adron, J.W. (1984) The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.*, **52**, 115-122.
- Wilson, R.P., Harding, D.E. & Garling Jr, D.L. (1997) Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, **107**, 166-170.
- Wilson, R.P. & Poe, W.E. (1985) Relationship of whole body and egg essential Amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Com. Biochem. Phy.*, **80b**, 385-388.
- Wilson, R.P. (2002) Amino acids and proteins. In: *Fish Nutrition* (Halver, J.E. & Hardy, R.W. eds), 3rd edn, pp. 144-175. Academic Press Inc., San Diego, CA.

II - OBJETIVOS

Gerais

Determinar as exigências de lisina e relação treonina:lisina para tilápias do Nilo na terminação.

Específicos

Determinar as exigências de lisina para tilápias do Nilo de 270 a 550 g, com base no conceito de “proteína ideal” sobre o crescimento, conversão alimentar, rendimento de carcaça e de filés, composição corporal e dos filés, retenção de nutrientes e morfometria da musculatura branca.

Determinar a melhor relação treonina:lisina em dietas para a tilápia do Nilo de 550 a 800 g, com base no conceito de “proteína ideal”, sobre o crescimento, conversão alimentar, rendimento de carcaça e de filés, composição corporal e dos filés e retenção de nutrientes.

III – Exigência de lisina para tilápias do Nilo na terminação alimentadas com dietas com baixos níveis de proteína*

RESUMO – Este trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar as exigências de lisina para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de 270 a 550 g, alimentadas com dietas com baixos níveis de proteína. Oitocentos peixes ($274,5 \text{ g} \pm 3,59 \text{ g}$) foram distribuídos em 20 tanques-rede de $1,2 \text{ m}^3$ cada, para avaliar dietas com diferentes níveis lisina, durante 4 semanas. Foram elaboradas cinco dietas com aproximadamente $3114 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energia digestível e $250,8 \text{ g kg}^{-1}$ de proteína bruta, com níveis crescentes de suplementação de L-lisina, em que foram obtidas dietas com 11,17; 12,49; 13,76; 15,12 e 16,31 g kg^{-1} de lisina. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia até saciedade aparente. Não foram observadas diferenças significativas sobre o ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de carcaça e composição corporal e dos filés, e frequência de fibras musculares brancas em classes de diâmetro entre os tratamentos. A utilização de dietas com diferentes níveis de lisina resultou em efeito linear sobre o peso dos filés e efeito quadrático sobre rendimento dos filés, composição corporal em arginina, fenilalanina e triptofano, retenção corporal da proteína e dos aminoácidos arginina e lisina em que foram obtidos os valores máximos de 14,08; 13,94; 14,34; 14,31; 13,09; 13,91 e 12,30 g kg^{-1} de lisina, respectivamente. Foi observada maior frequência de ocorrência de fibras com diâmetro de 20 a 50 μm . Concluiu-se que dietas com 11,17 a 16,31 g kg^{-1} de lisina (4,45 a 6,50% da proteína da dieta), atendem as exigências para desempenho produtivo, contudo, 14,08 g kg^{-1} de lisina (5,61% da proteína da dieta), resulta em maior rendimento de filé de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com baixos níveis de proteína.

Palavras-chave: aminoácidos, composição corporal, desempenho, fibra muscular, peixe, rendimento de filé

III – Lysine requirement of finishing Nile tilapia fed low protein diets*

ABSTRACT –This study was carried out to determine lysine requirement for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from 270 to 550 g fed low protein diets. Eight-hundred fish ($274.5 \text{ g} \pm 3.59 \text{ g}$) were distributed into 20 cages with 1.2 m^3 each to evaluate diets containing increasing levels of lysine for 40 days. Five diets containing $3114 \text{ kcal kg}^{-1}$ of digestible energy and 250.8 g kg^{-1} of crude protein were elaborated with increased levels of L-lysine, which were obtained diets containing 11.17, 12.49, 13.76, 15.12 and 16.31 g kg^{-1} of lysine. Fish were fed three times a day until apparent satiety. No significant differences on daily weight gain, feed conversion ratio, carcass yield, body and fillet composition, and frequency of occurrence of white muscle fiber diameter among treatments were observed. The dietary lysine resulted in linear increase on fillet weight and quadratic effect on fillet yield, body composition of arginine, phenylalanine and tryptophan, protein, arginine and lysine retention, which the maximum values were estimated at 14.08, 13.94, 14.34, 14.31, 13.09, 13.91 and 12.30 g kg^{-1} of lysine, respectively. Higher frequency of occurrence of fibers with 20 to $50 \mu\text{m}$ was observed. It was concluded that diets with 11.17 to 16.31 g kg^{-1} of lysine (4.45 to 6.50% of dietary protein) meet the requirements for fish performance, however 14.08 g kg^{-1} of lysine (5.61% of dietary protein) results in higher fillet yield of Nile tilapia, fed low protein diets.

Key words: amino acids, body composition, fish, fillet yield, muscle fiber, performance

*Artigo redigido de acordo com as normas de publicação da revista *AquacultureNutrition*. Fator de impacto = 2,179. [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095/issues](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095/issues).

Introdução

O contínuo e elevado crescimento econômico que a aquicultura brasileira apresenta ano após ano, reflete a importância dessa atividade em âmbito nacional e internacional. O grande potencial aquícola que o Brasil possui, mesmo que ainda pouco explorado, faz deste país o terceiro maior produtor de peixes das Américas (FAO 2012). Dentre as inúmeras espécies de peixes utilizadas na piscicultura brasileira, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de maior destaque nacional, com produção de 155,450 mil toneladas em 2010, que correspondeu a 32% da produção nacional (MPA 2012).

Ainda que muitas pesquisas tenham sido realizadas na área de nutrição, a contínua determinação das exigências nutricionais considerando as diferentes variedades e fases de desenvolvimento dos peixes é importante para elaboração de dietas balanceadas de mínimo custo. Os peixes, assim como outros animais, possuem exigências para os dez aminoácidos essenciais para maximizar o crescimento e reduzir a excreção de nitrogênio (NRC 2011). A lisina é um aminoácido essencial presente em elevada concentração no tecido muscular dos peixes (Wilson & Poe 1985) e também participa de importantes processos metabólicos como a síntese de hidroxilisina, constituinte do colágeno (Eyre 1980), e síntese de carnitina, responsável pelo transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para dentro da mitocôndria para realizar a β -oxidação e assim obter energia (Walton 1984). A lisina é um aminoácido limitante em ingredientes de origem vegetal (Mai *et al.* 2006; Wu *et al.* 2009), e sua suplementação em dietas para peixes resulta em aumento no ganho em peso (Khan & Abidi 2011; Yang *et al.* 2011), aumento na retenção de nitrogênio (Cao *et al.* 2002) e redução no conteúdo de gordura (Berge 1998; Furuya *et al.* 2006; Nguyen *et al.* 2013). A exigência dietética de lisina varia de 12 a 28 g kg⁻¹ ou 3,0 a 8,4% da proteína da dieta (NRC 2011), sendo a maioria dos trabalhos realizados com peixes na fase inicial e em condições laboratoriais, havendo poucas informações sobre os efeitos da lisina sobre o rendimento de filé de peixes em condições comerciais.

O tecido muscular estriado esquelético dos peixes constitui de 40 a 60% do peso total do animal (Bone 1978), sendo que a musculatura branca dos peixes ocupa em torno de 70 a 90% do volume da massa muscular total (Kilarski 1990). As contribuições da hiperplasia e hipertrofia para o crescimento muscular são variáveis, dependendo da espécie, fase de crescimento, tipo de músculo (Dal Pai *et al.* 2000; Johansen & Overturf

2005; Aguiar *et al.* 2008). Nos peixes, o crescimento muscular ocorre a partir da ativação, proliferação e diferenciação de células satélites (Mauro 1961; Campion 1984), responsáveis pelo crescimento hiperplásico e hipertrófico das fibras musculares (Koumans & Akster 1995). Na hiperplasia ocorre fusão entre células satélites ativadas, resultando na formação de novas fibras musculares, enquanto na hipertrofia, as células satélites ativadas se fundem com fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento na área da fibra muscular (Koumans & Akster 1995; Johnston 1999; Rowleron & Veggetti 2001. Nos mamíferos a hiperplasia cessa em um curto período de crescimento (Johnston *et al.* 2000), enquanto em peixes, com poucas exceções, ocorre o crescimento hiperplásico durante toda vida (Mommsen 2001), mas a predominância de fibras relacionadas com a hiperplasia decresce com a idade.

Em tanques-rede, os peixes são criados em elevadas densidades, em que há necessidade de água de boa qualidade para permitir o adequado crescimento e saúde dos peixes. Assim, a utilização de dietas com proteína de alta qualidade em termos de digestibilidade, reduzido teor em proteína, e que atendam as exigências quantitativas e qualitativas de aminoácidos, são recomendadas para diminuir os resíduos originados da alimentação dos peixes, particularmente o nitrogênio, considerando que as dietas para peixes possuem elevadas concentrações desse nutriente comparado às dietas de aves e suínos. Assim, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar as exigências dietéticas de lisina em dietas para a tilápia do Nilo de 270 a 550 g, em tanques-rede, sobre o desempenho produtivo, composição corporal e dos filés, retenção de proteína e aminoácidos e desenvolvimento do músculo estriado esquelético.

Material e métodos

Peixes e condições experimentais

O experimento foi realizado no Rio do Corvo, que compõe o reservatório de Rosana, no município de Diamante do Norte – PR, no período março a abril de 2010, durante 4 semanas. Foram utilizados 800 peixes da variedade GIFT, com peso vivo médio inicial de $274,5 \text{ g} \pm 3,59 \text{ g}$, masculinizados durante a fase larval, provenientes da piscicultura

Sgarbi – Palotina, Paraná, Brasil. Os peixes foram distribuídos em 20 tanques-rede com volume unitário de 1,2 m³ (1,0 x 1,0 x 1,2 m de altura), em um delineamento inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. Os parâmetros de qualidade de água de pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram monitorados diariamente durante todo o período experimental de acordo com APHA (1992).

Dietas e manejo alimentar

Foram elaboradas cinco dietas com níveis crescentes de suplementação de L-lisina (Tabela 1), com aproximadamente 3114,00 kcal kg⁻¹ de energia digestível e 250,80 g kg⁻¹ de proteína bruta, em que foram obtidas dietas com 11,17, 12,49, 13,76, 15,12 e 16,31g kg⁻¹ de lisina. Foram utilizados os valores de energia digestível e fósforo disponível dos alimentos obtidos por Furuya *et al.* (2001b), Pezzato *et al.* (2002) e Guimarães *et al.* (2008a,b), em estudos realizados com tilápia do Nilo (Tabela 2). As rações foram produzidas no município de Capitão Leônidas – PR, na Cooperativa de Produção, Industrialização e Comercialização de Peixes do Rio Iguaçu – COOPERÇU em parceria com a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Todos os ingredientes foram pesados e posteriormente moídos em moinho martelo com peneira com abertura de 0,8 mm de diâmetro. Após total homogeneização, as dietas foram extrusadas em extrusor de rosca simples com matriz de 3,5 mm, em que foram obtidos grânulos com diâmetro aproximado de 5,0 mm. Os peixes receberam diariamente em ração a porcentagem equivalente a 1,5% do seu peso corporal, em três períodos de arraçoamento, às 8h, 14h e às 17h.

Tabela 1. Formulação das dietas experimentais (g kg⁻¹)

	Nível de lisina (g kg ⁻¹)				
	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31
Milho	446,80	454,00	461,30	468,50	475,70
Farelo de soja	290,00	282,50	275,00	267,50	260,00
Farinha de vísceras	80,00	80,00	80,00	80,00	80,00
Quirera de arroz	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
Glúten de milho	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
Fosfato bicálcico	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Sal comum	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
L-ácido glutâmico	30,00	24,00	18,00	11,90	5,90
L-lisina	0,00	2,00	4,00	6,00	8,00
L-arginina	0,00	2,00	4,00	6,00	8,00
DI-metionina	0,80	1,30	1,80	2,30	2,80
L-treonina	1,20	1,80	2,50	3,10	3,70
L-triptofano	0,00	0,30	0,70	1,00	1,30
L-valina	0,00	0,00	0,10	0,10	0,10
L-histidina	0,00	0,30	0,50	0,80	1,00
L-isoleucina	0,00	0,30	0,70	1,00	1,30
L-fenilalanina	0,00	0,30	0,50	0,80	1,00
Cloreto de colina	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Supl. mineral e vitamínico ¹	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Vitamina C ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Antioxidante ³	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico ⁴	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

¹Suplemento 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, vit. 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; Se = 20 mg.

²Vitamina C (Lutavit C[®]): sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico com (3500 mg/kg⁻¹).

³Banox[®]: BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

⁴MoldZapAquativa[®]:dipropionato de amônia, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g kg⁻¹), com base em matéria seca

	Nível de lisina (g kg ⁻¹)				
	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31
Matéria seca ¹	934,50	933,70	933,30	939,20	940,70
Energia digestível (kcal kg ⁻¹) ²	3114,00	3114,00	3114,00	3114,00	3114,00
Proteína bruta ¹	253,12	249,83	250,68	252,51	250,16
Extrato etéreo ¹	29,34	29,45	29,30	29,12	29,60
Fibra bruta ¹	27,90	27,50	27,30	27,00	26,70
Cálcio ¹	9,57	9,63	9,60	9,59	9,60
Fósforo disponível ²	6,83	6,77	6,80	6,81	6,75
Aminoácidos essenciais ³					
Lisina	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31
Metionina	6,92	6,77	6,55	6,73	6,68
Treonina	9,59	9,62	9,35	9,32	9,22
Triptofano	2,93	2,99	3,00	2,94	2,89
Arginina	16,34	18,56	20,63	22,48	25,04
Fenilalanina	9,66	9,54	9,42	9,36	9,28
Histidina	4,04	3,86	3,84	3,85	3,82
Isoleucina	7,60	7,46	7,45	7,30	7,24
Leucina	18,88	18,79	18,85	18,21	18,06
Valina	10,37	10,26	10,36	10,04	10,00
Aminoácidos não essenciais ³					
Alanina	34,11	34,74	23,99	26,11	19,50
Ácido aspártico	17,29	17,41	17,06	16,92	16,62
Ácido glutâmico	53,13	53,39	45,74	47,39	43,66
Cistina	2,86	2,82	2,88	2,81	2,76
Glicina	18,21	18,04	17,46	18,43	16,57
Serina	9,43	9,64	9,41	9,25	9,07
Tirosina	6,46	6,49	6,26	6,31	6,28

¹Valores determinados no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

²De acordo com Furuya *et al.* (2001b), Pezzato *et al.* (2002) e Guimarães *et al.* (2008a,b).

³Valores determinados no laboratório da Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos LTDA, São Paulo, Brasil.

Coleta de amostras e análises laboratoriais

No início do experimento, 30 peixes permaneceram em jejum durante 24 horas e foram coletados para análise da composição corporal inicial. No final do experimento, de cada tanque-rede e após jejum de 24 horas, todos os peixes foram pesados individualmente, sendo cinco peixes coletados para análise da composição corporal. De cada unidade experimental foram utilizados 15 peixes para a determinação do rendimento de filé. As

amostras de peixes e filés foram moídas em moedor de carne e desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 48 horas. Após secagem, as amostras foram novamente moídas em moinho tipo bola, armazenadas em refrigerador a 5°C, para posteriores análises. As análises proximais de umidade, proteína bruta e cinzas das dietas, peixes e filés foram realizadas de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (1995). A umidade foi determinada pela secagem em estufa a 105 °C durante 24 horas; a proteína bruta (N x 6,25) foi determinada pelo método Kjeldahl; a cinza foi determinada em mufla a 550 °C por 24 horas. O extrato etéreo foi determinado pelo método de Soxhlet. Os aminoácidos foram determinados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Hitachi L-8800). O triptofano foi determinado após hidrólise ácida.

Morfometria das fibras musculares brancas

Dois peixes de cada unidade experimental foram utilizados para avaliar o crescimento hipertrófico e hiperplásico das fibras musculares do músculo branco. Amostras de músculo branco foram coletadas da região abaixo da nadadeira dorsal e acima da linha lateral de cada peixe. Após coleta, as amostras foram envoltas em talco neutro e emergidas em nitrogênio líquido até transferência em freezer a -80°C. Cortes histológicos transversais de 10 µm foram obtidos em criostato a -20°C e submetidos à coloração hematoxilina-eosina (Bancroft & Steven 1990). O menor diâmetro das fibras musculares brancas foi determinado por meio de analisador de imagem (Image pro plus), em que foram realizadas mensurações do diâmetro de 200 fibras musculares de cada peixe (Dubowitz & Brooke, 1973). Após a mensuração, as fibras musculares foram distribuídas em classes, na dependência de seu diâmetro (<20 µm; entre 20 µm e 50 µm; >50 µm), de acordo com Almeida *et al.* (2008).

Cálculos

Ganho em peso (g) = peso final (g) – peso inicial (g); conversão alimentar = consumo de ração (g)/ganho em peso (g); sobrevivência (%) = número de peixes ao final do experimento/número de peixes ao início do experimento x 100; taxa de eficiência proteica = ganho em peso (g)/proteína consumida (g); rendimento de carcaça (%) = peso eviscerado (g)/peso corporal (g) x 100; rendimento de filé (%) = peso dos filés (g)/peso

corporal (g) e retenção corporal de proteína e aminoácidos (%) = proteína ou aminoácido retido na carcaça (g)/proteína ou aminoácido consumido (g) x 100.

Análise estatística

Os valores observados de cada variável resposta foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, à regressão polinomial para o ajustamento de uma função, para exprimir a relação entre cada variável-resposta com a relação lisina. As análises estatísticas realizadas utilizando o programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 6). Para a análise dos resultados foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparações múltiplas de Dunn. Uma diferença de 5% ($p < 0,05$) foi considerada estatisticamente significativa.

Resultados

Desempenho produtivo

A mortalidade dos peixes durante o período experimental foi baixa ($\leq 1\%$), não sendo observados sinais externos de patologias mesmo nos peixes que foram alimentados com a dieta com o menor nível de lisina. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) das dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina sobre o peso final, ganho em peso diário, conversão alimentar, peso eviscerado e rendimento de carcaça (Tabela 3). A utilização de dietas com diferentes níveis de lisina resultou em aumento linear sobre o peso dos filés ($P < 0,05$) e efeito quadrático sobre o rendimento de filé, em que o máximo valor estimado dessa variável foi de $14,08 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina (5,61% da proteína bruta da dieta).

Tabela 3. Valores médios de desempenho de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina¹

Variável	Nível de lisina(g kg ⁻¹)					CV (%) ²	Efeito ³
	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31		
Peso inicial (g)	277,39	273,71	273,81	273,63	273,76	1,31	NS
Peso final (g)	549,75	527,72	521,90	552,20	545,15	4,90	NS
Ganho em peso diário (g)	6,81	6,35	6,20	6,96	6,78	9,99	NS
Conversão alimentar	1,60	1,53	1,60	1,50	1,55	8,44	NS
Peso eviscerado (g)	466,06	460,10	448,50	464,01	484,51	7,55	NS
Peso dos filés (g)	144,85	150,35	150,25	170,57	170,41	8,42	*
Rendimento de carcaça (%)	85,50	86,38	86,29	84,71	86,04	1,71	NS
Rendimento de filé (%)	29,05	30,17	30,18	30,32	30,41	2,20	**
	Equação						P
Peso dos filés	$Y = 80,8610 + 5,5503x, R^2 = 0,63$						0,04
Rendimento de filé	$Y = 4,3253 + 3,7083x - 0,1317x^2, R^2 = 0,76$						0,02

¹Valores médios de quatro repetições.

²Coeficiente de variação.

³NS = não significativo, * = Efeito linear, ** = Efeito quadrático.

Composição corporal e dos filés

Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) sobre a composição corporal e composição dos filés em umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas (Tabela 4). A composição corporal dos aminoácidos histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, valina, alanina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico, glicina, serina e tirosina não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos peixes que consumiram as dietas com diferentes níveis de lisina. Por outro lado, foi observado efeito quadrático ($P < 0,05$) da utilização de dietas com diferentes níveis de lisina sobre a composição de arginina, fenilalanina e triptofano em que os máximos valores desses aminoácidos foram estimados em 13,94; 14,34 e 14,31 g kg⁻¹ de lisina (5,55; 5,72 e 5,70% da proteína bruta da dieta), respectivamente (Tabela 5).

Tabela 4. Composição proximal corporal e dos filés (g 100 g⁻¹) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina¹

	Nível de lisina (g kg ⁻¹)					CV (%) ³	Efeito ⁴
	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31		
Composição corporal ²							
Umidade	62,98	65,10	64,15	64,94	64,43	2,06	NS
Proteína bruta	15,47	15,20	15,27	14,99	15,55	3,15	NS
Extrato etéreo	15,36	14,46	15,60	15,06	15,50	5,55	NS
Cinzas	3,02	2,98	3,34	3,00	3,11	10,81	NS
Composição dos filés							
Umidade	77,93	78,49	77,36	77,99	77,42	0,90	NS
Proteína bruta	16,96	16,78	16,83	16,47	16,71	2,30	NS
Extrato etéreo	2,76	2,37	2,95	2,71	3,60	15,95	NS
Cinzas	1,11	1,05	1,10	1,07	1,07	3,73	NS

¹Valores médios de quatro repetições, com base em matéria natural.

²Composição corporal da carcaça inicial (g 100 g⁻¹) = umidade 66,96; proteína bruta 14,59; extrato etéreo 11,37 e cinzas 3,68.

³Coefficiente de variação.

⁴NS = não significativo.

Tabela 5. Composição corporal de aminoácidos essenciais e não essenciais de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina¹

	Inicial	Nível de lisina (g kg ⁻¹)					CV (%) ²	Efeito ³	
		11,17	12,49	13,76	15,12	16,31			
Aminoácido essencial									
Arg	10,30	8,21	9,62	9,42	9,55	8,61	6,81	*	
His	3,04	2,17	2,32	2,33	2,26	2,39	4,43	NS	
Ile	5,64	6,04	5,62	6,03	5,89	6,09	3,91	NS	
Leu	9,25	10,35	10,16	10,33	10,21	10,60	2,67	NS	
Lys	11,32	10,03	9,95	10,23	10,10	10,37	2,77	NS	
Met	3,98	3,75	3,67	3,70	3,71	3,69	2,51	NS	
Phe	6,09	5,21	5,46	5,69	5,69	5,68	4,29	*	
Thr	6,54	6,27	6,24	6,31	6,12	6,34	1,94	NS	
Trp	1,20	1,18	1,33	1,32	1,30	1,30	4,75	*	
Val	7,10	6,44	6,34	6,73	6,60	6,80	3,44	NS	
Aminoácido não essencial									
Ala	10,15	10,48	10,45	10,29	10,24	10,35	2,31	NS	
Asp	13,83	12,93	13,31	13,50	13,40	13,69	3,28	NS	
Cys	1,13	1,09	1,20	1,18	1,16	1,15	3,97	NS	
Glu	21,69	20,41	20,40	20,49	20,35	20,79	2,10	NS	
Gly	20,98	14,35	14,09	14,22	13,97	15,02	6,34	NS	
Ser	6,35	5,83	5,83	5,88	5,77	5,83	1,43	NS	
Tyr	4,06	3,34	3,70	4,07	4,05	3,75	9,98	NS	
		Equação						P	
Arg		$y = -28,7470 + 5,5246x - 0,1982x^2$; $R^2 = 0,70$						0,030	
Phe		$y = -84,4900 + 13,2060x - 0,4606x^2$; $R^2 = 0,79$						0,040	
Trp		$y = -1,4762 + 0,3921x - 0,0137x^2$; $R^2 = 0,61$						0,037	

¹Valores médios de quatro repetições, com base em matéria natural.²Coefficiente de variação.³NS = não significativo, * = Efeito quadrático.

Retenção corporal de proteína e aminoácidos

A retenção corporal da proteína e dos aminoácidos histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, alanina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico, glicina, serina e tirosina não foi influenciada ($P>0,05$) pelo consumo de dietas com diferentes níveis de lisina. Por outro lado, foi observado efeito quadrático ($P<0,05$) da utilização de dietas com diferentes níveis de lisina sobre a retenção de proteína bruta e dos aminoácidos arginina e lisina em que a máxima retenção corporal foi estimada em 13,09, 13,91, 12,30 g kg⁻¹ de lisina dietética (5,22; 5,54 e 4,90% da proteína bruta da dieta), respectivamente (Tabela 6).

Morfologia e morfometria da musculatura branca

Não foi observado efeito ($P>0,05$) entre os tratamentos sobre a frequência de ocorrência de fibras musculares brancas, independentemente da classe de diâmetro. Por outro lado, os diferentes níveis de lisina influenciaram ($P<0,005$) a frequência de ocorrência de fibras musculares brancas em cada tratamento dentre as classes de diâmetros. Nos peixes alimentados com dietas contendo 12,49; 13,76; 15,12 e 16,31 g kg⁻¹ de lisina, foi observada maior frequência de ocorrência de fibras variando de 20 a 50 µm em relação às demais classes, que não diferiram entre si. Nos peixes alimentados com dietas contendo 11,17 g kg⁻¹ de lisina, a distribuição da frequência dos diâmetros das fibras musculares brancas não diferiu entre as classes de <20 µm e 20-50 µm, que diferiram da classe de diâmetro de 50 µm (Tabela 7).

Tabela 6. Retenção corporal de proteína e aminoácidos essenciais e não essenciais (%) das tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina¹

	Nível de lisina(g kg ⁻¹)					CV (%) ²	Efeito
	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31		
Aminoácido essencial							
Proteína bruta	42,89	44,33	44,29	42,26	41,52	6,99	*
Arg	32,04	33,32	25,10	26,96	17,36	22,69	*
His	20,79	27,99	27,43	25,78	29,08	15,82	NS
Ile	54,40	51,07	58,18	54,91	57,49	8,71	NS
Leu	42,53	39,82	40,40	43,00	43,60	7,69	NS
Lys	56,04	62,23	52,08	45,63	43,41	14,84	*
Met	32,77	32,84	34,55	33,65	32,31	8,67	NS
Phe	31,04	36,42	38,71	38,58	37,22	11,53	NS
Thr	40,24	42,02	43,04	40,14	42,39	7,23	NS
Trp	24,94	33,08	31,90	30,25	29,72	11,31	NS
Val	37,25	37,87	42,02	40,04	41,37	9,32	NS
Aminoácido não essencial							
Ala	21,72	22,93	21,54	21,13	21,02	8,56	NS
Asp	48,44	54,38	54,34	53,13	53,79	9,06	NS
Cys	25,16	31,90	30,08	28,79	27,73	11,99	NS
Glu	24,62	26,01	25,47	24,95	25,30	8,27	NS
Gly	29,63	28,81	27,79	28,00	33,60	22,99	NS
Ser	38,91	40,88	40,53	38,78	38,31	6,33	NS
Tyr	28,22	37,35	44,88	43,98	36,14	20,61	NS
	Equação						P
Proteína bruta	$y = - 4,6609 + 7,4535x - 0,2846x^2$; R ² = 0,87						0,001
Arg	$y = - 26,986 + 5,2795x - 0,1898x^2$; R ² = 0,79						0,002
Lys	$y = - 93,8110 + 24,5580x - 0,9980x^2$; R ² = 0,68						0,003

¹Valores médios de quatro repetições, com base em matéria natural.

²Coefficiente de variação.

³NS = não significativo, * = Efeito quadrático.

Tabela 7. Frequência de ocorrência de fibras musculares brancas em classes de diâmetros, de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes níveis de lisina

	Nível de lisina (g kg ⁻¹)					CV (%) ¹
	11,17	12,49	13,76	15,12	16,31	
<20µm	15,50ab	12,36b	8,93b	9,63b	11,00b	42,07
20-50µm	78,25a	79,57a	82,21a	80,56a	83,31a	6,22
>50µm	6,25b	8,07b	8,86b	9,81b	5,69b	68,06
P	0,0006	0,0008	0,0012	0,0005	0,0003	

Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças (P<0,05) pelo teste de Kruskal-Wallis

¹Coefficiente de variação.

Discussão

Ao final do período experimental, foi observado baixa mortalidade e elevado ganho de peso diário pelos peixes, que variou de 6,20 a 6,96 g. A lisina é o aminoácido mais estudado na nutrição de peixes, porém ainda são poucos os experimentos conduzidos com o objetivo de determinar as exigências em condições de criação comercial e em fase de terminação, quer seja pelo elevado custo com a alimentação, equipamentos e dificuldades no manejo. Ainda que em experimentos *indoor* as condições de criação sejam mais estáveis, a vantagem da realização de experimentos em rios é a alta taxa de renovação de água que resulta em valores elevados e constantes de oxigênio dissolvido, que permite maior ganho em peso diário pelos peixes.

No presente trabalho, não foram observadas diferenças sobre o ganho em peso, com a utilização de dietas com níveis que variaram de 11,17 a 16,31 g kg⁻¹ de lisina (4,4 a 6,5% da proteína da dieta), diferentemente dos resultados obtidos por Santiago & Lovell (1988), que estimaram a exigência de 14,3 g kg⁻¹ de lisina (5,1% da proteína bruta da dieta) em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. Da mesma forma, Zhou *et al.* (2007) observaram que 23,8 g kg⁻¹ de lisina (5,38% da proteína bruta da dieta), para máximo ganho em peso do “cobia” (*Rachycentron canadum*), enquanto Yang *et al.* (2011) observaram máximo ganho em peso para “silverperch” (*Bidyanus bidyanus*) alimentados com dieta contendo 23,2 g kg⁻¹ de lisina (5,96% da proteína bruta da dieta), e mais recentemente, Khan & Khan (2013) estimaram em 20 g kg⁻¹ de lisina dietética (5,26% da proteína bruta da dieta) para máximo ganho em peso em alevinos de “stinging catfish” (*Heteropneustes fossilis*), assim como Murthy & Varghese (1997) e

Fagbenro *et al.*, (1998), em que foram estimados 22,4 e 22,9 g kg⁻¹ de lisina (5,6% e 5,73% da proteína bruta da dieta), em estudo realizados com alevinos de carpa (*Cyprinus carpio*) e bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), respectivamente. No presente trabalho, todos os aminoácidos essenciais foram suplementados de forma a atender as exigências quantitativas. Particularmente, a arginina foi suplementada para manter a relação arginina:lisina constante, com a finalidade de evitar possíveis antagonismos entre os mesmos. Assim, é possível que a exigência de lisina para ganho em peso tenha sido atendida mesmo em peixes que consumiram dietas com o nível mais baixo de lisina (11,17 g kg⁻¹ ou 4,4% da proteína da dieta).

Há grande divergência nos resultados sobre os efeitos da suplementação de lisina sobre a composição corporal e do músculo dos peixes. Assim como no presente trabalho, Cao *et al.* (2012) não observaram diferenças na composição corporal e do músculo dos peixes alimentados com diferentes níveis de lisina em estudo com juvenis de “yellow catfish” (*Pelteobagrus fulvidraco*). Khan & Khan (2013) também não observaram diferenças na composição corporal de alevinos “stinging catfish” com a suplementação de lisina. Por outro lado, Zhou *et al.* (2010), Helland *et al.* (2011), Yang *et al.* (2011) e Xie *et al.* (2012) em trabalhos realizados com “blackseabream” (*Sparus macrocephalus*), salmão do Atlântico (*Salmo salar*), “silver perch” e “large yellow croaker” (*Pseudosciaena crocea*, Richardson 1846), respectivamente, observaram redução no conteúdo de proteína e aumento de gordura corporal dos peixes que receberam dietas deficientes em lisina. Esse fato pode ser explicado pela redução na β -oxidação de ácidos graxos, pois a deficiência de lisina pode comprometer a síntese de carnitina (Walton *et al.* 1984), resultando em acúmulo de lipídeos e redução da proteína corporal pelo aumento da oxidação de aminoácidos para produção de energia (Zhang *et al.* 2008). Por outro lado, a suplementação de lisina existe baixa correlação com as concentrações de carnitina no fígado e músculo com a suplementação de lisina em truta arco-íris (Walton *et al.* 1984), fato demonstrado mais recentemente com a “silver perch” por Yang *et al.* (2011), que não observaram diferenças nas concentrações de carnitina no músculo, de peixes alimentados com 9,6 a 27,7 g kg⁻¹ de lisina, sugerindo que a quantidade de lisina utilizada para a síntese de carnitina é baixa em peixes, sendo as necessidades atendidas pela quantidade proveniente da dieta (Rebouche 1992).

No presente trabalho, com exceção da arginina, fenilalanina e triptofano, não foram observadas diferenças na composição corporal dos aminoácidos essenciais e não essenciais. Cao *et al.* (2012) em estudo realizado com “yellow catfish” não observaram

efeito da utilização de dietas com 17,3 a 41,9 g kg⁻¹ de lisina, sobre a composição corporal de arginina, divergindo dos resultados obtidos por Zhou *et al.* (2010) e Lin *et al.* (2012) com o “black seabream” e “chinese sucker” (*Myxocyprinus asiaticus*), respectivamente, em que foi observada maior concentração corporal desse aminoácido em dietas com 23,9 e 25,2 g kg⁻¹ de lisina, respectivamente. Assim como no presente trabalho, Cao *et al.* (2012) e Lin *et al.* (2012) não encontraram diferenças na composição corporal de fenilalanina, divergindo dos resultados obtidos por Zhou *et al.* (2010) em que o melhor valor estimado para essa variável foi 25,2 g kg⁻¹ de lisina na dieta. Há uma grande variação encontrada na literatura em relação à composição corporal de aminoácidos, inclusive a falta de valores referentes ao aminoácido triptofano referente ao alto custo da análise. Ainda que exista grande variação dos resultados encontrados entre os autores, a análise da composição corporal de aminoácidos permite determinar o perfil de aminoácidos essenciais e não essenciais, pois, análises realizadas com o plasma sanguíneo apenas indicam o perfil de aminoácidos podendo não ser a fiel representação do perfil de aminoácidos corporais. Em trabalhos mais recentes, observa-se que a suplementação de lisina afeta a composição de aminoácidos corporais como observado em trabalhos realizados por Cao *et al.* (2012), Helland *et al.* (2011) e Lin *et al.* (2012). A máxima retenção de proteína, arginina e lisina no presente estudo foi estimada em dietas com 13,09; 13,91 e 12,30 g kg⁻¹ de lisina, correspondendo a 5,22; 5,55 e 4,90% da proteína bruta da dieta, respectivamente, não sendo observadas diferenças para a retenção nos demais aminoácidos. Apesar alguns trabalhos apresentarem a composição corporal dos aminoácidos, não há informações sobre a retenção dos mesmos em função do nível de lisina dietético como no presente estudo.

No presente trabalho, para o máximo rendimento de filé foi estimado o valor de 14,08 g kg⁻¹ de lisina que corresponde a 5,61% da proteína bruta da dieta. Esse valor está dentro da faixa descrita pelo NRC (2011) para tilápias, porém, não há trabalhos descritos com a faixa de peso utilizada no presente trabalho, e que conseqüentemente utilize a variável rendimento de filé como parâmetro para determinar as exigências. No presente estudo, ainda que não tenha sido observada diferença no ganho em peso, a diferença referente ao rendimento de filé está relacionada a maior retenção corporal de proteínas e aminoácidos. No Brasil, o principal produto da industrialização de tilápias é o filé, constituindo uma importante variável para estimar as exigências em aminoácidos para peixes em fase de terminação.

No presente trabalho, foi observado predominância de fibras musculares com diâmetros entre 20 e 50 μm , indicando hipertrofia do tecido muscular branco. Segundo Veggetti *et al.* (1993) e Johnston (1999), quando a hiperplasia está ocorrendo, observa-se mosaico de fibras de diferentes diâmetros, com predominância de fibras com diâmetro $<20 \mu\text{m}$ (Almeida *et al.* 2008). Aguiar *et al.* (2005) avaliaram o crescimento muscular em larvas de tilápias do Nilo que receberam quatro níveis de lisina e não observaram diferenças no diâmetro das fibras musculares entre os tratamentos. No presente trabalho, foi observado em peixes de todos os tratamentos baixa ocorrência de fibras musculares brancas com diâmetro superior a 50 μm , sendo observado fibras musculares com diâmetro máximo de 90 μm .

Concluiu-se que dietas com 11,17 a 16,31 g kg^{-1} de lisina (4,45 a 6,50% da proteína da dieta), atendem as exigências para desempenho produtivo, contudo, 14,08 g kg^{-1} de lisina (5,61% da proteína da dieta), resulta em maior rendimento de filé de tilápias do Nilo de 270 a 550 g, alimentadas com dietas com baixos níveis de proteína.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda – *Animal Nutrition* pelo fornecimento e análises de aminoácidos. O projeto foi financiado parcialmente pelo Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq.

Referências

- Aguiar, D.H., Barros, M.M., Padovani, C.R., Pezzato, L.E. & Dal Pai-Silva, M. (2005) Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diets. *J. Fish Biol.*, **67**, 1287-1298.
- Aguiar, D.H., Bock, C., Padovani, C.R. & Dal Pai-Silva, M. (2008) MyoD, Myogenin and proliferating cell nuclear antigen expression in growing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aqua. Res.*, **39**, 1673-1679.
- Almeida, F.L.A., Carvalho, R.F., Pinhal, D., Padovani, C.R., Martins, C. & Dal Pai-Silva, M. (2008) Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. *Micron*, **39**, 1306-1311.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995) *Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International* (16th edn). Arlington, Virginia.
- American Public Health Association (APHA) (1992) *Standard Methods for the Examination of Water and Waste water* (18th edn.). Washington DC.
- Berge, G.E., Sveier, H. & Lied, E. (1998) Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*); the requirement and metabolic effect of lysine. *Comp. Biochem. Physiol. A-Mol. Integr. Physiol.*, **120**, 477-485.
- Bancroft, J.D. & Steven, A. (1990) *Theory and Practice of Histological Techniques* (3rd ed) Churchill Livingstone, New York.
- Bone, Q. (1978) Locomotor muscle. In: *Fish Physiology* (Hoar, E.S. & Randall, D.J. eds), pp. 361-424. Academic Press, New York.
- Campion, D.R. (1984) The muscle satellite cells. *Int. Ver. Cytol.*, **87**, 225-251.
- Cao, J.M., Chen, Y., Zhu, X., Huang, Y.H., Zhao, H.X., Li, G.L., Lan, H.B., Chen, B. & Pan, Q. (2012) A study on dietary L-lysine requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquac. Nutr.*, **18**, 35-45.
- Deng, D.F., Dominy, W., Ju, Z.Y., Koshio, S., Murashige, R. & Wilson, R.P. (2010) Dietary lysine requirement of juvenile Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*). *Aquaculture*, **308**, 44-48.
- Dal Pai, V., Dal Pai-silva, M., Carvalho, E.D., Fujihara, C.Y., Gregório, E.A. & Curi, P.R. (2000) Morphological, histochemical and morphometric study of the

- myotomal muscle tissue of pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). *Anat.Histol. Embryol.*, **29**, 283-289.
- Dubowitz, V. & Brooke, M.H. (1973) *Muscle biopsy: a modern approach*. London: Saunders, 220p.
- Eyre, D.R. (1980) Collagen - molecular diversity in the body's protein scaffold. *Science*, **207**, 1315–1322.
- Fagbenro, O.A., Balogun, A.M., Bello-Olusoji, O.A. & Fasakin E.A. (1998) Dietary lysine requirement of the African Catfish, *Clarias gariepinus*. *J. Appl. Aquac.*, **8**, 71–77.
- Food and agriculture organization – FAO. (2012) The state of world fisheries and aquaculture 2012. Roma, Italia
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Pezzato, A.C., Barros, M.M. & Miranda, E.C. (2001b) Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, **30**, 1143-1149.
- Furuya, W.M., Santos, V.G., Silva, L.C.R. & Furuya, V.R.B. (2006) Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, **35**, 937-942.
- Guimarães, I.G., Pezzato, L.E. & Barros, M.M. (2008a) Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquac. Nutr.*, **14**, 396-404.
- Guimarães, I.G., Pezzato, L.E., Barros, M.M. & Tachibana, L. (2008b) Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. *J. World Aquac. Soc.*, **39**, 781-789.
- Helland-Gisdale, B., Hatlen, B., Mundheim, H & Helland, S.J. (2011) Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. *Aquaculture*, **315**, 260-268.
- Johansen, K.A. & Overturf, K. (2005) Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mar. Biotechnol.*, **7**, 576-587.
- Johnston, I.A. (1999) Muscle development and growth: potential implication for flesh quality in fish. *Aquaculture*, **177**, 99-115.
- Johnston, I.A., Alderson, R., Sandham, C., Dingwall, A., Mitchell, D., Selkirk, C., Nickell, D., Baker, R., Robertson, B., Whyte, D. & Springate, J. (2000) Muscle fibre density in relation to colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, **185**, 335-349.
- Khan, M.A. & Abidi, S.F. (2011) Effect of dietary L-lysine levels on growth, feed conversion, lysine retention efficiency and haematological indices of *Heteropneustes fossilis* (Bloch) fry. *Aquac. Nutr.*, **17**, e657–e667.
- Khan, F. & Khan, M.A. (2013) Dietary L-lysine requirement of fingerling stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) for optimizing growth, feed conversion, protein and lysine deposition. *Aquac. Res.*, **44**, 523-533.
- Kilarski, W. (1990) Histochemical characterization of myotomal muscle in the roach, *Rutilus rutilus* (L.). *J. Fish Biol.* **36**, 353-362.

- Koumans, J.T.M. & Akster, H.A. (1995) Myogenic cells in development and growth of fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **110**, 3-20.
- Lin, Y., Gong, Y., Yuan, Y., Gong, S., Yu, D., Li, Q. & Luo, Z. (2012) Dietary L-lysine requirement of juvenile Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*). *Aquac. Res.*, 1-11.
- Mauro, A. (1961) Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Bioph. Biochem. Cytol.*, **9**, 493-494.
- Mai, K.S., Zhang, L., Ai, Q.H., Duan, Q.Y., Zhang, C.X., Li, H.T., Wan, J.L. & Liufu, Z.G. (2006) Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, **258**, 535-542.
- Mommsen, T.P. (2001) Paradigms of growth in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **129**, 207-219.
- Murthy, H.S. & Varghese, T.J. (1997) Dietary requirements of juveniles of the Indian major carp, *Labeo rohita*, for the essential amino acid lysine. *Israeli J. Aquac.*, **49**, 19-24.
- MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura). (2012) Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2010. Brasília, Brazil.
- Nguyen, M.V., Rønnestad, I., Buttle, L., Lai H.V. & Espe, M. (2013) Imbalanced Lysine to arginine ratios reduced performance in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) fed high plant protein diets. *Aquac. Nutr.*, no prelo.
- NRC (National Research Council). (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M. & Pezzato A.C. (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, **31**, 1595-1604.
- Rebouche, C.J. (1992) Carnitine function and requirements during the life cycle. *Faseb J.*, **6**, 3379-3386.
- Rowlerson, A. & Veggetti, A. (2001) Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: *Muscle Development and Growth*. (Johnston, I.A. ed.). pp. 103-139. Academic Press, London.
- Santiago, C.B. & Lovell, R.T. (1988) Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutr.*, **118**, 1540-1546.
- Veggetti, A., Mascarello, F., Scapolo, P.A., Rowlerson, A. & Carnevali, C. (1993) Muscle growth and myosin isoform transitions during development of a small teleost fish, *Poeciliareticulata* (Peters) (Atheriniformes, Poeciliidae): a histochemical, immunohistochemical, ultrastructural and morphometric study. *Anat. Embryol.*, **187**, 353-361.
- Walton, M.J., Cowey, C.B. & Adron, J.W. (1984) The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.*, **52**, 115-122.
- Wilson, R.P. & Poe, W.E. (1985) Relationship of whole body and egg essential Amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **80b**, 385-388.

- Wu, G.Y., Bazer, F.W., Davis, T.A., Kim, S.W., Li, P., Rhoads, J.M., Satterfield, M.C., Smith, S.B., Spencer, T.E. & Yin, Y.L. (2009) Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids*, **37**, 153–168.
- Xie, F., Ai, Q., Mai, K., Xu, W. & Wang, X. (2012) Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaenacrocea*, Richardson 1846) larvae. *Aquac. Res.*, **43**, 917–928.
- Yang, S.D., Liu, F.G. & Liou, C.H. (2011) Assessment of dietary lysine requirement for silver perch (*Bidyanus bidyanus*) juveniles. *Aquaculture*, **312**, 102–108.
- Zhang, C.X., Ai, Q.H., Mai, K.S., Tan, B.P., Li, H.T. & Zhang, L. (2008) Dietary lysine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaenacrocea* R. *Aquaculture*, **283**, 123–127.
- Zhou, Q.C., Wu, Z.H. & Chi, S.Y. (2007) Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, **273**, 634–640.
- Zhou, F., Shao, J., Xu, R., Ma, J. & Xu, Z. (2010) Quantitative L-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*). *Aquac. Nutr.*, **16**, 194–204.

IV - Relação treonina:lisina em dietas para tilápias do Nilo na terminação*

RESUMO – A treonina é o terceiro aminoácido essencial limitante em dietas à base de ingredientes de origem vegetal. Seiscentos peixes (563,30 g ± 15,09 g) foram distribuídos em 20 tanques-rede de 1,2 m³ cada, para avaliar dietas com diferentes relações treonina:lisina para tilápias do Nilo, durante quatro semanas. Foram elaboradas cinco dietas com 288,81 g kg⁻¹ de proteína bruta e 3043 kcal kg⁻¹ de energia digestível, com relações treonina:lisina de 59,34; 69,13; 81,44; 90,45 e 102,66%. Os peixes foram alimentados com dietas extrusadas, três vezes ao dia e até saciedade aparente. Não foram observadas diferenças significativas sobre em ganho de peso, conversão alimentar, gordura visceral, índice hepatossomático, rendimento de carcaça e na composição corporal e dos filés. A utilização de dietas com diferentes relações de treonina:lisina resultou em efeito quadrático sobre o peso e rendimento dos filés, arginina, treonina, serina e tirosina corporal, em que foram obtidos os valores máximos com relações de 80,71; 79,13; 85,01; 86,63; 83,85 e 86,07%, respectivamente. Para a máxima retenção de proteína corporal e dos aminoácidos arginina, histina, treonina, serina e tirosina, foram estimadas as relações de treonina:lisina de 74,36; 83,92; 77,04; 81,10; 82,84 e 83,89%, respectivamente. No presente trabalho, concluiu-se que a utilização de dietas com relação treonina:lisina de 79,13% (11,59 g kg⁻¹ de treonina) proporciona melhor eficiência na utilização da proteína e aminoácidos dietéticos resultando em maior rendimento de filé da tilápia do Nilo de 550 a 800 g.

Palavras-chave: aminoácidos, composição corporal, peixe, desempenho, rendimento de filé

*Artigo redigido de acordo com as normas de publicação da revista *AquacultureNutrition*. Fator de impacto = 2,179. [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095/issues](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095/issues).

IV - Dietary threonine to lysine ratios for Nile tilapia in the finishing phase*

ABSTRACT – Threonine is the third limiting essential amino acid in diets based on cereal ingredients. Six hundred fish (initially 563.30 g ± 15.09 g of weight) were distributed into 20 cages with 1.2 m³ each in a 4-weeks growth experiment, to evaluate diets containing increasing threonine:lysine ratios for Nile tilapia. Five diets containing 264.55 g kg⁻¹ of crude protein, 3,043 kcal kg⁻¹ of digestible energy and threonine:lysine ratios of 59.34, 69.13, 81.44, 90.45 and 102.66% were elaborated. Fish were -fed three times a day with extruded diets until apparent satiety. No significant differences on daily weight gain, feed conversion ratio, visceral fat, hepato somatic index, carcass yield, body composition and fillet composition were observed. The dietary threonine:lysine ratios resulted in quadratic effect on fillet weight, fillet yield, body arginine, threonine, serine and tyrosine, where the maximum values were estimated at 80.71, 79.13, 85.01, 86.63, 83.85 and 86.07%, respectively. The maximum retention of protein and arginine, histine, threonine, serine and tyrosine were estimated at 74.36, 83.92, 77.04, 81.10, 82.84 and 83.89% of dietary threonine to lysine ratios, respectively. It is concluded that the dietary threonine to lysine ratio for maximum utilization of protein and amino acids is 79.13% (11.59 g kg⁻¹ of threonine), resulting in higher fillet yield of Nile tilapia from 550 to 800 g.

Key words: amino acids, body composition, fish, fillet yield, performance

*Artigo redigido de acordo com as normas de publicação da revista *AquacultureNutrition*. Fator de impacto = 2,179. [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095/issues](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095/issues).

Introdução

A produção global de tilápia do Nilo em 2010 foi de 2,5 milhões de toneladas, sendo 155 mil toneladas originadas do Brasil (MPA 2012). A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie economicamente importante em diversos países, principalmente nos de clima tropical e subtropical. Possui carne com boas características sensoriais e com possibilidade de obtenção de filés industrializados ausentes de espinhas. De baixo nível trófico, aceita ração desde a fase larval e utiliza eficientemente os carboidratos, que possibilita utilização de fontes alternativas de proteína e energia de origem vegetal para elaborar rações práticas de mínimo custo (Tengjaroenkul *et al.* 2000).

Como a proteína é um dos nutrientes de maior custo em dietas para peixes, a quantidade e qualidade dos aminoácidos que compõe a dieta deve ser observada, pois influenciam diretamente o crescimento, utilização de nutrientes e a composição corporal dos animais. Assim, a determinação do nível e relação dietética ótima de aminoácidos em dietas com baixo teor de proteína é importante para formular dietas de mínimo custo para tilápias. Além disso, a utilização dessas dietas permite maior eficiência da utilização da proteína resultando em menor impacto ambiental pela menor excreção de nitrogênio pelos peixes. Os peixes não possuem exigência dietética de proteína, mas de dietas que atendam às exigências quantitativas e com adequadas proporções entre os aminoácidos para manutenção e produção (Wilson 2002).

A treonina é um aminoácido essencial e potencialmente limitante em dietas para peixes elaboradas com base em proteína de origem vegetal (Bodin *et al.* 2008). Participa na síntese de proteína e serve como precursor de aminoácidos não essenciais como a glicina e serina (Lemme 2003). É o primeiro aminoácido limitante para a produção de mucina, sintetizada em grande quantidade pelos peixes no trato digestório e para o recobrimento da pele (Tibaldi & Tulli 1999), sendo que sua produção é exigida continuamente para atender a demanda intestinal (Fuller 1994) e da epiderme (Perry & Laurent 1993). A exigência dietética de treonina varia de acordo com o tamanho e espécie do peixe (Rollin *et al.* 2006). Com base no conceito de proteína ideal, a melhor relação treonina:lisina para tilápia do Nilo foi determinada em 73,4% (Santiago & Lovell 1988), 74% (Silva *et al.* 2006) e 71% (Bomfim *et al.* 2008). A exigência de treonina para manutenção é alta em relação aos demais aminoácidos, em função de seu grande conteúdo nas secreções intestinais endógenas e da epiderme. A treonina

apresenta maior importância em fases avançadas de desenvolvimento, pois as proporções de exigências para manutenção são maiores nessa fase (Fernandes *et al.* 1994). No entanto, faltam informações sobre as exigências nutricionais das diferentes variedades e para peixes com peso comercial de abate. Assim, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a melhor relação treonina:lisina em dietas para a tilápia do Nilo de 550 a 800 g de peso corporal, sobre o crescimento, conversão alimentar, rendimento de carcaça e de filés, composição corporal e dos filés e retenção de nutrientes.

Material e métodos

Peixes e condições experimentais

O experimento foi realizado no Rio do Corvo, que compõe o reservatório de Rosana, no município de Diamante do Norte – PR, no período de dezembro de 2009 a janeiro de 2010, durante 4 semanas. Foram utilizados 600 peixes da variedade GIFT, com peso vivo médio inicial de $563,3 \text{ g} \pm 15,09 \text{ g}$, masculinizados durante a fase larval, provenientes da piscicultura Sgarbi – Palotina, Paraná, Brasil. Os peixes foram distribuídos em 20 tanques-rede com volume unitário de $1,2 \text{ m}^3$ ($1,0 \times 1,0 \times 1,2 \text{ m}$ de altura), em um delineamento inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. Os parâmetros de qualidade de água de pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram monitorados semanalmente durante todo o período experimental de acordo com APHA (1992).

Dietas e manejo alimentar

Foram elaboradas cinco dietas com níveis crescentes de suplementação de L-treonina (Tabela 1), e aproximadamente $3043,00 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energia digestível e $288,81 \text{ g kg}^{-1}$ de proteína bruta, em que foram obtidas dietas com 8,96; 10,48; 12,24; 13,73 e 15,44 g/kg de treonina, resultado em dietas com relações treonina:lisina de 59,34; 69,13; 81,44; 90,45 e 102,66%, respectivamente. Foram utilizados os valores de energia digestível e fósforo disponível dos alimentos obtidos por Furuya *et al.* (2001b), Pezzato *et al.* (2002) e Guimarães *et al.* (2008a,b), em estudos realizados com a tilápia do Nilo

(Tabela 2). As rações foram produzidas no município de Capitão Leônidas – PR, na Cooperativa de Produção, Industrialização e Comercialização de Peixes do Rio Iguaçu – COOPERÇU em parceria com a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Todos os ingredientes foram pesados e posteriormente moídos em moinho martelo com peneira com abertura de 0,8 mm de diâmetro. Após total homogeneização, as dietas foram extrusadas em extrusor de rosca simples com matriz de 3,5 mm, em que foram obtidos grânulos com diâmetro aproximado de 5,0 mm. Os peixes foram alimentados manualmente até saciedade aparente, em três períodos de arraçamento, às 8h, 14h e às 17h.

Tabela 1. Formulação das dietas experimentais (g kg⁻¹)

	Relação treonina:lisina (%)				
	59,34	69,13	81,44	90,45	102,66
Farelo de soja	420,00	420,00	420,00	420,00	420,00
Milho	414,60	415,47	416,35	417,22	419,10
Quirera de arroz	80,00	80,00	80,00	80,00	80,00
Farinha de vísceras	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Fosfato bicálcico	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Sal comum	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,50	2,37	2,25	2,13	2,00
L-ácido glutâmico	9,00	6,76	4,50	2,25	0,00
L-lisina	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
DL-metionina	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
L-treonina	0,00	1,50	3,00	4,50	6,00
Supl. mineral e vitamínico ¹	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Vitamina C ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Antioxidante ³	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico ⁴	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

¹Suplemento 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, vit. 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; Se = 20 mg.

²Vitamina C (Lutavit C[®]): sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico com (3500 mg/kg⁻¹).

³Banox[®]: Composição: BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

⁴MoldZapAquativa[®]: Composição: dipropionato de amônia, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g kg⁻¹), com base na matéria seca

	Relação treonina:lisina (%)				
	59,34	69,13	81,44	90,45	102,66
Matéria seca ¹	915,10	912,10	913,50	910,10	909,80
Energia digestível (kcal kg ⁻¹) ²	3043,00	3043,00	3043,00	3043,00	3043,00
Proteína bruta ¹	289,74	286,81	286,15	287,99	293,36
Extrato etéreo ¹	29,38	29,02	28,98	29,45	28,76
Fibra bruta ¹	37,24	37,28	36,89	37,22	37,15
Cálcio ¹	9,12	9,14	9,56	9,36	9,34
Fósforo disponível ²	6,44	6,67	6,35	6,88	6,47
Aminoácidos essenciais ³					
Lisina	15,10	15,16	15,03	15,18	15,04
Metionina	5,20	5,33	5,37	5,47	5,51
Treonina	8,96	10,48	12,24	13,73	15,44
Triptofano	4,23	4,16	4,21	4,24	3,83
Arginina	24,15	23,60	23,25	24,18	25,30
Fenilalanina	14,72	14,57	14,35	15,03	14,93
Histidina	5,64	5,30	5,42	5,60	5,62
Isoleucina	12,42	12,01	11,91	12,22	12,43
Leucina	24,10	23,69	23,57	24,16	24,28
Valina	13,83	13,28	13,48	13,66	13,82
Aminoácidos não essenciais ³					
Alanina	14,94	14,37	14,37	14,70	14,84
Ácido aspártico	31,17	30,15	29,91	30,88	31,20
Ácido glutâmico	61,05	58,83	56,16	55,94	55,13
Cistina	4,67	4,52	4,43	4,66	4,80
Glicina	14,99	14,29	13,92	14,20	14,64
Serina	15,13	14,69	14,42	15,09	15,31
Tirosina	10,02	9,76	9,67	10,33	9,98

¹Valores determinados no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

²De acordo com Furuya et al. (2001b), Pezzato et al. (2002) e Guimarães et al. (2008a,b).

³Valores determinados no laboratório da Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos LTDA., São Paulo, Brasil.

Coleta de amostras e análises laboratoriais

No início do experimento, 30 peixes foram mantidos em jejum durante 24 horas e coletados para análise da composição corporal inicial. No final do experimento, de cada tanque-rede e após jejum de 24 horas, todos os peixes foram pesados individualmente, sendo cinco peixes coletados para análise da composição corporal, seis peixes coletados para análises de índice hepatossomático e gordural visceral. Os demais peixes foram

utilizados para a determinação do rendimento de carcaça e rendimento de filé. A retirada dos filés foi realizada por um único operador, sem a retirada das aparas. As amostras de peixes e filés foram moídas em moedor de carne e desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 48 horas. Após secagem as amostras foram novamente moídas em moinho tipo bola, armazenadas em refrigerador a 5°C, para posteriores análises. As análises proximais de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas das dietas, peixes e filés foram realizadas de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (1995). A umidade foi determinada pela secagem em estufa a 105°C durante 24 horas; a proteína bruta (N x 6,25) foi determinada pelo método Kjeldahl; a cinza foi determinada em mufla a 550 °C por 24 horas. O extrato etéreo foi determinado pelo método de Soxhlet. Os aminoácidos foram determinados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Hitachi, Tóquio, Japão). O triptofano foi determinado após hidrólise ácida.

Cálculos

Ganho em peso (g) = peso final (g) – peso inicial (g); conversão alimentar = consumo de ração (g)/ganho em peso (g); sobrevivência (%) = número de peixes ao final do experimento/número de peixes ao início do experimento x 100; taxa de eficiência proteica = ganho em peso (g)/proteína consumida (g); gordura visceral (%) = peso da gordura visceral (g)/peso corporal (g) x 100; índice hepatossomático (%) = peso do fígado (g)/ peso corporal (g) x 100; rendimento de carcaça (%) = peso eviscerado (g)/ peso corporal (g) x 100; rendimento de filé (%) = peso dos filés (g)/ peso corporal (g) e retenção corporal de proteína e aminoácidos (%) = proteína ou aminoácido retido na carcaça (g)/proteína ou aminoácido consumido (g) x 100.

Análise estatística

Os valores observados de cada variável resposta foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, à regressão polinomial para o ajustamento de uma função, para exprimir a relação entre cada variável-resposta com a relação treonina:lisina. As análises estatísticas realizadas utilizando o programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 6).

Resultados

Desempenho produtivo

A mortalidade foi baixa ($\leq 2\%$), não sendo observados sinais externos de patologias mesmo nos peixes que foram alimentados com a dieta com o menor nível de treonina. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) das dietas com diferentes relações treonina sobre o peso final, ganho em peso diário, conversão alimentar, índice hepatossomático, gordura visceral e rendimento de carcaça (Tabela 3). A utilização de dietas com diferentes relações treonina:lisina resultou em efeito quadrático sobre o rendimento de filé, em que o máximo valor estimado correspondeu a relação treonina:lisina de 79,13%. Também foi observado efeito quadrático de dietas com diferentes relações treonina:lisina sobre o peso dos filés, em que o máximo valor dessa variável foi estimado em 80,71%.

Tabela 3. Valores médios de desempenho de tilápias do Nilo na terminação alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina¹

Variável	Relação treonina:lisina (%)					CV (%) ²	Efeito ³
	59,34	69,13	81,44	90,45	102,66		
Peso inicial (g)	558,75	565,5	566,5	572,25	553,5	2,68	NS
Peso final (g)	783,74	829,31	786,79	769,96	761,29	3,76	NS
Ganho em peso diário (g)	7,49	8,79	7,34	6,59	6,93	14,52	NS
Conversão alimentar	1,47	1,26	1,51	1,68	1,60	13,94	NS
Índice hepatossomático (%)	1,61	1,69	1,91	1,68	1,77	13,02	NS
Gordura visceral (%)	3,08	3,88	4,00	4,26	3,89	18,85	NS
Peso eviscerado (g)	710,23	769,12	706,60	701,40	688,13	5,16	NS
Peso dos filés (g)	264,79	303,03	298,09	280,50	275,93	7,44	*
Rendimento de carcaça (%)	90,83	91,17	89,29	90,32	91,26	1,23	NS
Rendimento de filé (%)	34,64	34,66	34,95	34,91	33,86	2,88	*
	Equação						P
Peso dos filés	$y = 70,018 + 9,1045x - 0,0564x^2; R^2 = 0,62$						0,042
Rendimento de filé	$y = 25,867 + 0,2374x - 0,0015x^2; R^2 = 0,84$						0,027

¹Valores médios de quatro repetições.²CV = coeficiente de variação.³NS = não significativo, *= Efeito quadrático.

Composição corporal e dos filés

Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) sobre a composição corporal e composição dos filés em umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas (Tabela 4). A composição corporal dos aminoácidos histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, triptofano, valina, alanina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico e glicina não foi influenciada ($P > 0,05$) nos peixes que consumiram as dietas com diferentes relações de treonina:lisina. Por outro lado, foi observado efeito quadrático ($P < 0,05$) da utilização de dietas com diferentes relações treonina:lisina sobre a composição de arginina, treonina, serina e tirosina em que os máximos valores desses aminoácidos foram estimados com dietas com relação treonina:lisina de 85,01; 86,63; 83,85 e 86,07%, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 4. Composição proximal corporal e dos filés ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina¹

Variável	Relação treonina:lisina(%)					CV (%) ³	Efeito ⁴
	59,34	69,13	81,44	90,45	102,66		
Composição corporal ²							
Umidade	66,80	66,72	66,98	66,04	65,58	2,91	NS
Proteína bruta	16,06	15,66	15,99	16,37	16,06	5,00	NS
Extrato etéreo	11,68	12,59	12,09	13,17	12,53	10,94	NS
Cinzas	3,49	3,31	3,56	3,44	3,47	6,81	NS
Composição dos filés							
Umidade	76,93	76,38	76,43	76,91	77,31	0,94	NS
Proteína bruta	19,20	19,35	19,64	19,23	18,89	2,55	NS
Extrato etéreo	2,32	2,84	2,87	2,42	2,31	19,71	NS
Cinzas	1,22	1,21	1,24	1,24	1,24	2,25	NS

¹Valores médios de quatro repetições, com base em matéria natural.

²Composição corporal da carcaça inicial ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) = umidade 66,45; proteína bruta 15,56; extrato etéreo 13,09 e cinzas 3,79.

³Coefficiente de variação.

⁴NS = não significativo.

Tabela 5. Composição corporal de aminoácidos essenciais e não essenciais de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina¹

Aminoácido	Inicial	Relação treonina:lisina(%)					CV (%) ²	Efeito ³
		59,34	69,13	81,44	90,45	102,66		
Essencial								
Arg	12,06	6,05	9,89	11,14	11,75	8,87	24,88	*
His	2,06	2,39	2,40	2,60	2,49	2,34	5,00	NS
Ile	5,77	6,63	6,69	6,34	6,61	6,90	4,61	NS
Leu	10,17	11,35	11,10	12,00	11,45	11,66	5,48	NS
Lys	11,33	11,53	11,60	12,92	12,09	12,14	5,66	NS
Met	3,69	3,74	3,99	3,90	4,17	4,26	6,29	NS
Phe	5,62	5,68	6,02	6,05	6,12	6,17	5,02	NS
Thr	6,20	5,10	6,50	6,93	6,60	6,44	10,87	*
Trp	1,11	1,19	1,25	1,33	1,29	1,22	5,07	NS
Val	6,65	6,78	7,33	7,20	7,29	7,57	4,66	NS
Não essencial								
Ala	10,87	10,71	10,98	11,49	11,51	11,16	3,86	NS
Asp	13,20	14,00	14,28	14,43	15,52	14,66	4,45	NS
Cys	1,00	1,10	1,12	1,19	1,12	1,06	6,86	NS
Glu	20,01	21,83	22,79	24,14	23,61	23,05	5,22	NS
Gly	16,32	15,04	14,98	16,57	16,68	15,32	5,51	NS
Ser	5,92	4,41	5,68	6,26	6,25	5,29	14,15	*
Tyr	3,85	2,71	4,37	4,33	4,67	3,88	19,57	*
Equação							P	
Arg	$y = - 50,2460 + 1,4621x - 0,0086x^2; R^2 = 0,75$						0,037	
Thr	$y = - 10,2790 + 0,3985x - 0,0023x^2; R^2 = 0,85$						0,040	
Ser	$y = - 15,5580 + 0,5199x - 0,0031x^2; R^2 = 0,81$						0,023	
Tyr	$y = - 15,1000 + 0,4648x - 0,0027x^2; R^2 = 0,76$						0,031	

¹Valores médios de quatro repetições, com base em matéria natural.

²Coefficiente de variação.

³NS = não significativo, * = Efeito quadrático.

Retenção corporal de proteína e aminoácidos

A retenção corporal dos aminoácidos isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, triptofano, valina, alanina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico e glicina não foi influenciada ($P>0,05$) pelo consumo de dietas com diferentes relações de treonina:lisina. Por outro lado, foi observado efeito quadrático ($P<0,05$) da utilização de dietas com diferentes relações treonina:lisina sobre a retenção corporal da proteína e dos aminoácidos arginina, histidina, treonina, serina e tirosina, em que os máximos valores desses aminoácidos foram estimados com dietas com relação treonina:lisina de 74,36; 83,92; 77,04; 81,10; 82,84 e 83,89%, respectivamente (Tabela 6). Foi observado que a máxima retenção de proteína corporal ocorreu com a dieta com a relação treonina:lisina superior ao valor estimado para a retenção corporal de treonina.

Tabela 6. Retenção corporal de proteína e aminoácidos essenciais e não essenciais (%) das tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes relações treonina:lisina¹

Variável	Relação treonina:lisina(%)					CV (%) ²	Efeito
	59,34	69,13	81,44	90,45	102,66		
Proteína bruta	41,94	50,84	46,57	39,58	42,07	12,80	*
Arg	-26,78	21,22	27,63	30,87	1,40	227,76	*
His	42,85	49,00	51,18	43,21	36,67	14,27	*
Ile	42,88	49,00	51,18	43,21	36,67	17,04	NS
Leu	46,50	49,88	52,23	43,01	45,34	16,38	NS
Lys	57,56	57,19	55,13	56,12	57,36	3,96	NS
Met	51,32	71,91	56,72	63,80	68,05	17,36	NS
Phe	37,07	50,51	43,40	41,35	42,85	17,62	NS
Thr	16,96	51,61	47,69	34,04	27,35	39,26	*
Trp	26,37	34,12	34,77	29,79	25,41	5,07	NS
Val	39,52	56,96	45,95	43,89	49,33	15,96	NS
Ala	53,46	67,75	64,81	59,76	54,76	12,26	NS
Asp	40,14	48,57	44,60	48,07	41,36	10,91	NS
Cys	22,64	26,82	26,96	21,37	18,00	20,00	NS
Glu	33,83	43,11	42,79	37,79	35,56	15,41	NS
Gly	69,49	75,37	86,83	80,90	59,30	19,63	NS
Ser	4,65	31,53	35,62	32,41	16,93	55,00	*
Tyr	-0,83	48,56	40,64	46,11	26,61	64,31	*
	Equação						P
Proteína bruta	$y = 1,4760 + 1,2046x - 0,0081x^2$; $R^2 = 0,77$						0,003
Arg	$y = - 639,5900 + 16,0630x - 0,0957x^2$; $R^2 = 0,78$						0,002
His	$y = - 74,5510 + 3,2357x - 0,0210x^2$; $R^2 = 0,65$						0,003
Thr	$y = - 302,9900 + 8,6619x - 0,0534x^2$; $R^2 = 0,67$						0,001
Ser	$y = - 342,1900 + 9,1617x - 0,0553x^2$; $R^2 = 0,80$						0,001
Tyr	$y = - 471,4600 + 12,4330x - 0,07410x^2$; $R^2 = 0,69$						0,001

¹Valores médios quatro repetições, com base em matéria natural.²Coefficiente de variação.³NS = não significativo, * = Efeito quadrático.

Discussão

Ao final do período experimental foi observado elevado ganho em peso diário pelos peixes que variou de 6,59 a 8,79 g, resultando em biomassa final de 16,7 a 24,9 kg m⁻³, indicando que o nível de energia e nutrientes associados ao manejo e a qualidade da água foram adequados para a criação da espécie. Poucos experimentos são conduzidos com o objetivo de determinar as exigências nutricionais de peixes em condições de criação comercial, quer seja pelo elevado custo com a alimentação, equipamentos e as dificuldades no manejo. No entanto, essas informações são importantes, pois em condições comerciais a taxa de crescimento dos peixes é superior àquela obtida em experimentos *indoor*. Além disso, permite a avaliação de parâmetros de rendimentos de abate, principalmente o rendimento de filé, o produto de maior valor comercial de tilápias. Outra vantagem da realização de experimentos em rios é a alta taxa de renovação de água, que resulta em valores elevados e constantes de oxigênio dissolvido em relação aos experimentos realizados *indoor*.

Os resultados de ganho em peso e conversão alimentar obtidos pelos peixes no presente trabalho divergem dos descritos por Abidi & Khan (2008) com a carpa maior da Índia (*Labeo rohita*). Peixes que recebem dieta com nível de treonina abaixo da exigência podem apresentar redução no crescimento, consequência da menor eficiência na utilização de aminoácidos essenciais e não essenciais da dieta (Ronnestad *et al.* 2000; Osorio *et al.* 2002). Da mesma forma, Abidi & Khan (2008), observaram que peixes alimentados com excesso de treonina (20 g kg⁻¹) apresentaram menor ganho em peso e pior conversão alimentar, relacionado ao custo metabólico pelo processo de deaminação e excreção de amônia em razão do excesso de aminoácidos presentes na dieta (Walton 1985). No presente trabalho, ainda que não tenham sido observadas diferenças no ganho em peso dos peixes que receberam as dietas com diferentes relações treonina:lisina, destaca-se que em todas as dietas, com exceção da treonina, foram atendidas as exigências quantitativas de aminoácidos recomendadas pelo NRC (2011) para tilápias, e também foram mantidas as proporções dos demais aminoácidos com a lisina que não limitou a síntese proteica.

Os resultados obtidos no presente trabalho divergem dos dados de Tibaldi & Tulli (1999) que estimaram o máximo ganho em peso do “seabass” europeu (*Dicentrarchus labrax*) por meio de regressão polinomial com 12,2 g kg⁻¹ de treonina. Da mesma forma, Abidi & Khan (2008) observaram efeito quadrático sobre o ganho em peso e

conversão alimentar da carpa maior da Índia alimentadas com dietas com níveis de 8 a 20 g kg⁻¹ de treonina, em que o máximo ganho em peso foi estimado com 17 g kg⁻¹ de treonina e a melhor conversão alimentar foi obtida pelos peixes que receberam dietas com 16,3 g kg⁻¹ de treonina.

Helland & Helland (2011) também não observaram diferenças sobre a umidade, proteína bruta e cinzas corporal do salmão do Atlântico alimentado com dietas com relação treonina:lisina entre 32,9 a 52,7%. Por outro lado, mais recentemente, Helland *et al.* (2013) observaram aumento linear da proteína bruta e efeito quadrático sobre os teores de água, lipídios e cinzas corporal. Os efeitos dietéticos da inclusão da treonina foram mais destacados sobre a retenção corporal de proteína e aminoácidos. No presente trabalho, a máxima retenção de proteína corporal foi estimada em peixes que receberam dieta com relação treonina:lisina de 74,36% (11,31 g kg⁻¹ de treonina). Comportamento semelhante foi observado por Bodin *et al.* (2008) que observaram a máxima retenção de proteína corporal de alevinos de truta arco-íris e salmão do Atlântico alimentados com a dieta com relação treonina:lisina de 29,78% (10 g kg⁻¹ de treonina) e 44,67% (15 g kg⁻¹ de treonina), respectivamente. A menor relação treonina:lisina no trabalho citado anteriormente ocorreu em função do elevado teor de lisina da dieta (33,58 g kg⁻¹).

No presente trabalho, a exigência quantitativa de treonina para retenção de proteína (11,31 g kg⁻¹ de treonina) aproximou-se das exigências de treonina descritas nas tabelas do NRC (2011) para espécies comercialmente importantes como o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), e truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) de 11 g kg⁻¹ de treonina para ambas as espécies. A maior exigência de treonina descrita neste trabalho também pode estar relacionada com o maior peso corporal dos peixes utilizados (563,3 a 786,6 g), em relação aos peixes utilizados por Santiago & Lovell (1988), que trabalharam com peixes com peso corporal de 0,05 a 1 g. A exigência de treonina aumenta a medida que avança a idade ou peso dos animais (Baker *et al.* 1993), em consequência da maior síntese de mucina, necessária para manutenção da integridade intestinal (Fuller *et al.* 1989).

A máxima retenção de arginina, histidina, treonina, serina e tirosina foi obtida em peixes que receberam dietas com relação treonina:lisina variando de 74,36 a 83,92%. Por outro lado, ainda não há citações da influência da treonina sobre a retenção corporal de aminoácidos em tilápias. Porém, em trabalho realizado com alevinos de linguado (*Paralichthys olivaceus*), Allan *et al.* (2003) observaram que suplementação de treonina afetou os níveis de arginina, treonina e valina. Bodin *et al.* (2008), em experimento

realizado com alevinos de truta arco-íris, observaram aumento corporal nos valores de histidina, metionina, e treonina e redução linear nos níveis de lisina, cistina, alanina e prolina nos peixes alimentados com dietas contendo níveis crescentes de treonina. Helland & Helland (2011) citaram os efeitos da adição de treonina sobre a composição corporal de arginina, isoleucina, ácido aspártico, treonina e valina. Mais recentemente, Helland *et al.* (2013) descreveram a influência da treonina dietética sobre a composição corporal de arginina, cistina, histidina e treonina, enquanto neste trabalho foi observado efeito dos níveis de treonina dietética sobre arginina, treonina, serina e tirosina. A baixa utilização de aminoácidos essenciais e não essenciais em dietas deficientes em treonina também foi observada no salmão do Atlântico por Helland & Helland (2011) e Helland *et al.* (2013). Tanto a deficiência quanto o excesso de treonina reduz a utilização da proteína e dos aminoácidos. Em casos de deficiência, a presença de um aminoácido limitante reduz o valor nutritivo da proteína ao nível do mesmo (limitando a síntese proteica). Por outro lado, o excesso pode afetar a absorção e utilização de outros aminoácidos (Murthy & Varghese 1996), quer seja por desequilíbrio, antagonismo ou toxicidade (D’Mello 2003).

Os aminoácidos em sua forma livre são absorvidos mais rapidamente que os aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, podendo causar desequilíbrio ao nível celular, induzido pela diferença na taxa de absorção de aminoácidos livres em relação aos aminoácidos ligados a proteína, resultando em piora na utilização da proteína (Wang & Fuller 1989), podendo acarretar em redução do peso, piora na conversão alimentar e conseqüentemente, redução no rendimento de filé. Dentre os aminoácidos essenciais se destaca o efeito dietético da suplementação de treonina sobre a eficiência de utilização da histidina, indicando que o mesmo pode ser o próximo aminoácido limitante em dietas para tilápias. Dietas com adequado balanço de aminoácidos permitem adequada deposição lipídica corporal acompanhada de redução no catabolismo de aminoácidos e alta síntese proteica (Helland & Helland 2011). No presente trabalho, concluiu-se que a utilização de dietas com relação treonina:lisina de 79,13% (11,59 g kg⁻¹ de treonina) proporciona melhor eficiência na utilização da proteína e aminoácidos dietéticos, resultando em maior rendimento de filé da tilápia do Nilo.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda – *Animal Nutrition* pelo fornecimento e análises de aminoácidos. O projeto foi financiado parcialmente pelo Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq.

Referências

- Abidi, S.F. & Khan, M. (2008) Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeorohita* (Hamilton). *Aquac.Res.*, **39**, 1498-1505.
- Alam, M.S., Teshima, S. Koshio, S., Yokoyama, S. & Ishikawa, M. (2003) Optimum dietary threonine level for juvenile Japanese flounder *Paralichthysolivaceus*. *Asian Fish. Sci.*, **16**, 175-184.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995) *Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International* (16th edn).Arlington, Virginia.
- American Public Health Association (APHA) (1992) *Standard Methods for the Examination of Water and Waste water* (18 thedn.). Washington DC.
- Bodin, N., Mambrini, M., Wauters, J.B., Abboudi, T., Ooghe, W., Boulenge, E.L., Larondelle, Y. & Rollin, X. (2008) Threonine requirements for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. *Aquaculture*, **274**, 353-365.
- Bomfim, M.A.D., Lanna, E.A.T., Dozele, J.L., Quadros, M., Ribeiro, F.B. & Araújo, W.A.G. (2008) Exigência de treonina, com base no conceito de proteína ideal, de alevinos de tilápias-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, **37**, 2077-2084.
- D'Mello, J.P.F. (2003) Adverse effects of amino acid. In: *Amino acids in animal nutrition* (D'Mello, J.P.F.eds). CABI Publishing, Edinburgh.
- Fuller, M., McWilliam, R. & Wang, T.C. (1989) The optimum dietary amino acid patter for growing pigs. 2 – Requirements for maintenance and for tissue protein accretion. *Br. J. Nutr.*, **62**, 255-267.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Pezzato, A.C., Barros, M.M. & Miranda, E.C. (2001b) Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromisniloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, **30**, 1143-1149.
- Guimarães, I.G., Pezzato, L.E. & Barros, M.M. (2008a) Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromisniloticus*. *Aquac.Nutr.*, **14**, 396-404.

- Guimarães, I.G., Pezzato, L.E., Barros, M.M. & Tachibana, L. (2008b) Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. *J. World Aquac. Soc.*, **39**, 781-789.
- Helland, S. & Helland, B.G. (2011) Dietary threonine requirement of Atlantic salmon smolts. *Aquaculture*, **321**, 230-236.
- Helland, B.G., Lemme, A. & Helland S. (2013) Threonine requirement for maintenance and efficiency of utilization for threonine accretion in Atlantic salmon smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*, **372**, 158-166.
- Lemme, A. (2003) Reassessing Amino Acid Levels for Pekin Ducks. *Poult. Int.*, **42**, 18-24.
- MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura) (2012) Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2010. Brasília, Brazil.
- Murthy, H.S. & Varghese, T.J. (1996) Quantitative dietary requirement of threonine for the growth of the Indian major carp, *Labeorohita* (Hamilton). *J. Aquac. Trop.*, **11**, 1-7.
- NRC (National Research Council) (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M. & Pezzato A.C. (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, **31**, 1595-1604.
- Rollin, X., Wauters, J.B., Bodin, N., Larondelle, Y., Ooghe, W., Wathélet, B. & Abboudi, T. (2006) Maintenance threonine requirement and efficiency of its use for accretion of whole-body threonine and protein in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *Br. J. Nutr.*, **95**, 234-245.
- Rønnestad, I., Conceição, L.E.C., Aragão, C. & Dinis, M.T. (2000) Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *J. Nutr.*, **130**, 2809-2812.
- Santiago, C.B. & Lovell, R.T. (1988) Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutr.*, **118**, 1540-1546.
- Silva, L.C.R., Furuya, W.M., Santos, L.D., Santos, V.G., Silva, T.S.C. & Pinsetta, P.J. (2006) Níveis de treonina em rações para tilápias-do-Nilo. *Rev. Bras. de Zootec.*, **35**, 1258-1264.
- Tengjaroenkul, B., Smith, B.J., Caceci, T. & Smith, S.A. (2000) Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, **182**, 317-327.
- Tibaldi, E. & Tulli, F. (1999) Dietary threonine requirement of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, **175**, 155-166.
- Wilson, R.P. (2002) Amino acids and proteins. In: *Fish Nutrition* (Halver, J.E. & Hardy, R.W. eds), 3rd edn, pp. 144-175. Academic Press Inc., San Diego, CA.