

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA DA AMAZÔNIA – INPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE AGUA DOCE E PESCA  
INTERIOR – BADPI**

**EXIGÊNCIA DE LISINA E ESTIMATIVA DOS AMINOÁCIDOS  
ESSENCIAIS PARA TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* (CUVIER,  
1818)**

**EDIMAR LOPES DA COSTA**

**Manaus-AM  
Novembro/2014**

**EDIMAR LOPES DA COSTA**

**EXIGÊNCIA DE LISINA E ESTIMATIVA DOS AMINOÁCIDOS  
ESSENCIAIS PARA TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* (CUVIER,  
1818)**

**Orientadora: Dra. Elizabeth Gusmão Affonso**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Biologia de Água  
Doce e Pesca Interior BADPI/INPA,  
como parte dos requisitos para obtenção  
do título de mestre em Biologia de Água  
Doce e Pesca Interior - BADPI

**Manaus-AM  
Novembro/2014**

## FICHA CATALOGRÁFICA

C837 Costa, Edimar Lopes da  
Exigência de lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais para tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) / Edimar Lopes da Costa. --- Manaus: [s.n.], 2014.  
ix, 60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2014.  
Orientador : Elizabeth Gusmão Affonso.  
Área de concentração : Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

1. Aminoácidos. 2. Tambaqui. 3. Tambaqui - Nutrição. I. Título.

CDD 597.5

### **Sinopse:**

Neste estudo foram avaliados o desempenho zootécnico e parâmetros fisiológicos do tambaqui *Colossoma macropomum*, submetidos a dietas experimentais com níveis crescentes de lisina para a determinação da exigência nutricional desse aminoácido e a estimativa dos aminoácidos essenciais para a espécie.

**Palavras chaves:** aminoácidos, fisiologia, nutrição, proteína ideal.

## **Dedico**

*Dedico este trabalho a minha amada esposa Cirley pelo apoio incondicional durante toda essa jornada, e aos meus pais Edno e Maria de Nazaré que me proporcionaram amor, incentivo e dedicação em toda minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, e que me deu forças para continuar nos momentos mais difíceis. Sem ele não somos nada! “Only one God”.

A minha família por todo amor, carinho e apoio nas minhas decisões, meus Pais Edno e Maria de Nazaré e meus irmãos Edinaldo, Edno, Ederson, Edinaza, Edinete, Ednilza e Edith.

Minha querida esposa Cirley por toda perseverança, confiança e por tudo que passamos durante esses dois anos de árdua batalha.

A minha orientadora, Dra. Elizabeth Gusmão Affonso, que me aceitou como seu orientado, pela amizade, dedicação e por sua contribuição em minha formação.

Ao meu co-orientador, Eduardo Ono por sua dedicação, pelos ensinamentos e orientação.

Aos “Best-Friends” Elenice Brasil, Jaqueline Alves, Paulo Adelino, Marieta Queiroz e Marcos Cerqueira, pela amizade, incentivos, apoio e cooperação.

Aos amigos do laboratório Elenice, Jaqueline, Marieta, Renata Silva, Valdelira, Andressa, Tamara, Jhonatan, Marcos, Cesar, Guto (Flávio Augusto) e Aline pela amizade e companheirismo e pelo apoio dedicado na realização deste experimento, sem a qual seria difícil a realização deste trabalho.

Aos amigos, Cesar e Guto pela amizade e as orientações estatísticas.

Ao Dra. Sidinéia Amadio, pela credibilidade em permitir usar seu laboratório e equipamentos em determinado momento.

Ao Dra Ligia Uribe e Dr. Leandro pela amizade, orientações e apoio dedicados as minhas análises finais do experimento.

Aos colegas Márcio Quara, Paula e Renan que aceitaram meu pedido de ajuda nas análises finais do experimento.

Ao Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura (LAFAP/COTI) pela infraestrutura utilizada durante esses dois anos.

A Sra. Maria Inês de Oliveira Pereira, pelos conselhos, amizade, e dedicação nas análises bromatológicas do experimento.

Ao M.Sc. Alexandre Honczaryk, pela colaboração no fornecimento dos alevinos de tambaqui.

A minha turma de mestrado (2012), Paula, Morena, Moema, Jefferson, Murilo, Paulo, Alen, Suzanne, Rosa Maria, Fernando pela amizade, respeito e pelas alegrias e angustias vivida nestes dois anos de curso.

Aos funcionários do setor de Aqüicultura, Valdelira, Atílio Storti, Suzana Kawashima, Ana Socorro, Daniel Locatteli, Marcos Makiyama (Marquinho) e Gabriel pela prontidão em ajudar em todos os momentos deste trabalho.

Ao pessoal de apoio da Aqüicultura, Agromar, Roberto, Sr. Joaquim, José Olegário (Fininho) pela amizade e apoio dedicados nos momentos de necessidade, em especial D. Maria de Fatima (Fatinha), pela amizade e suas deliciosas refeições.

À Carminha, secretária do curso de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior pela simpatia, amizade, paciência e dedicação aos alunos do curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior (PPG-BADPI), e seu corpo docente, pela oportunidade, ensinamentos e aprendizagem.

Aos projetos ADAPTA (CNPq/FAPEAM) e ao Projeto Desenvolvimento da Aqüicultura e de Recursos Pesqueiros na Amazônia – DARPA, pelo suporte financeiro.

Ao INPA pelo apoio e oportunidade na realização do mestrado.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de estudo.

Por fim, o meu sincero agradecimento a todos aqueles, sem distinção, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, Muito Obrigado!

## RESUMO

### **Exigência de lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais para tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)**

A lisina é um dos aminoácidos mais limitantes na dieta, e, devido sua importância na deposição de proteína corporal em peixes, é de grande interesse para a aquicultura, principalmente de espécies como o tambaqui. Com objetivo em determinar a exigência desse aminoácido, pelo método dose-resposta e estimar a exigência dos aminoácidos essenciais, com base no conceito de proteína ideal, juvenis de tambaqui ( $7,7 \pm 0,06$  g) foram distribuídos em tanques de 500 L, em delineamento inteiramente ao acaso, alimentados com dieta semipurificada à base de caseína, gelatina e aminoácidos livres, contendo seis níveis de lisina (L- lisina HCL 0,9, 1,2, 1,5, 1,8, 2,1 e 2,4% da dieta). Os resultados demonstraram que as dietas com níveis crescentes de lisina não influenciaram os parâmetros zootécnicos avaliados, não permitindo estimar a exigência de lisina, por intermédio da curva dose-resposta. O tambaqui apresentou consumo reduzido, baixo ganho de peso e alta conversão alimentar com uso de dieta semipurificada, que teve como causa provável a baixa palatabilidade da dieta. A dieta semipurificada afetou significativamente os parâmetros hematológicos Ht, [Hb] e RBC, porém, sem um padrão específico com os níveis de lisina. Os parâmetros fisiológicos, colesterol, triglicérides e cortisol plasmático, apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. A dieta com menor nível de lisina apresentou os maiores valores para o colesterol e triglicérides. O cortisol plasmático apresentou tendência a reduzir com aumento de lisina na dieta. Não foi possível determinar a exigência de lisina pelo método dose-resposta para o intervalo de 0,9 a 2,4% de lisina na dieta. As exigências dos aminoácidos essenciais, estimados, a partir do conteúdo de aminoácidos corporais do tambaqui, com base no conceito de proteína ideal, foram similares ao encontrados para outras espécies e a lisina foi estimada em 6,0 e 6,2% da proteína dietética pelos dois métodos utilizados.

Palavra-chave: aminoácidos, fisiologia, nutrição, proteína ideal

## ABSTRACT

### **Lysine requirement and estimation of essential amino acids for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)**

Lysine is one of the most limiting amino acids in aquafeeds due to its importance in fish body protein deposition. Therefore, lysine requirement studies are needed to optimize diets for aquaculture, especially for species such as tambaqui. In order to determine lysine requirement by dose-response method and estimate the requirement of essential amino acids based on ideal protein concept, tambaquis juveniles ( $7.7 \pm 0.06$  g) were distributed in 500-L tanks, in a completely randomized design. Fish were fed semipurified diets formulated with casein, gelatin and free amino acids premix, containing increasing six levels of lysine (L-lysine HCL 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1 and 2.4%). Increasing levels of lysine did not affect tambaqui performance parameters, then it was not possible to estimate the lysine requirement by dose-response curve. Tambaqui presented feed intake reduction, low weight gain and high feed conversion probably by the low palatability of semipurified diets. These diets significantly affected hematologic parameters hematocrit (Ht), hemoglobin concentration [Hb] and red blood cell count (RBC), but with no tendency by increasing lysine levels. Physiological parameters as cholesterol, triglycerides and plasma cortisol showed significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments. Fish fed the lowest level of dietary lysine showed the highest values for cholesterol and triglycerides. Plasma cortisol tended to decrease with increasing dietary lysine level. It was not possible to determine lysine requirement by dose-response method with levels from 0.9 to 2.4% dietary lysine. Essential amino acids requirement estimated by the amino acid content of whole body tambaqui based on ideal protein concept, were similar to other species and lysine requirement was estimated at 6.0 and 6.2% of dietary protein by both methods.

Keyword: Amino acid, physiology, nutrition, ideal protein.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>Lista de Tabelas</b> .....	viii
<b>Lista de Figuras</b> .....	ix
<b>Apresentação</b> .....	10
<i>A lisina como aminoácido referência</i> .....	12
<i>Tambaqui (Colossoma macropomum)</i> .....	14
<i>Estresse fisiológico</i> .....	16
<b>Objetivos</b> .....	18
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	19
<b>Capítulo 1. Exigência de lisina e estimativa de aminoácidos essenciais para o tambaqui, Colossoma macropomum (Cuvier, 1818)</b> .....	30
<b>Resumo</b> .....	31
<b>Abstract</b> .....	32
<b>Introdução</b> .....	33
<b>Material e Métodos</b> .....	35
<i>Peixes e condições experimentais</i> .....	35
<i>Dietas experimentais</i> .....	35
<i>Composição nos tecidos corporais e nas dietas</i> .....	36
<i>Parâmetros zootécnicos</i> .....	38
<i>Concentração de aminoácidos essenciais</i> .....	39
<i>Monitoramento da qualidade de água</i> .....	39
<i>Parâmetros fisiológicos</i> .....	39
<i>Análise estatística</i> .....	40
<b>Resultados</b> .....	40
<b>Discussão</b> .....	49
<b>Conclusão</b> .....	59
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	59



## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	36
<b>Tabela 2.</b> Composição de aminoácidos dos ingredientes e mistura de aminoácidos (% MS). 37	
<b>Tabela 3.</b> Composição de aminoácidos essenciais e não essenciais das dietas experimentais. .....	38
<b>Tabela 4.</b> Variáveis físicas e químicas da água dos tratamentos: pH, O <sub>2</sub> - Oxigênio dissolvido, CE - Condutividade Elétrica, ALT - Alcalindade Total, DT - Dureza Total, CO <sub>2</sub> - Concentração de CO <sub>2</sub> , AT - Amonia Total e NT - Nitrito Total.....	40
<b>Tabela 5.</b> Parâmetros zootécnicos de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> submetidos à dieta com diferentes níveis de lisina (%)......	44
<b>Tabela 6.</b> Parâmetros hematológicos: hematócrito (Ht), número de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina ([Hb]), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , submetidos a dietas com diferentes níveis de lisina.47	
<b>Tabela 7.</b> Parâmetros bioquímicos plasmáticos: proteína total (PT), triglicérides (TR), colesterol total (CT), glicose plasmática (GP) e cortisol plasmático de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , submetidos a dietas com diferentes níveis de lisina. ....	48
<b>Tabela 8.</b> Composição proximal da carcaça inteira de juvenis de tambaqui submetidos a níveis crescentes de lisina na dieta. ....	49
<b>Tabela 9.</b> Exigência dos aminoácidos essenciais para o tambaqui, estimados pelos métodos propostos por Arai (1981) e Abimorad e Castellani (2011), baseados no perfil de aminoácidos corporais do tambaqui e a exigência nutricional de outras espécies. ....	58

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Relação dos níveis de lisina (%) na dieta e o ganho de peso (g) de juvenis de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> . .....	42
<b>Figura 2.</b> Relação dos níveis de lisina na dieta e o consumo médio individual de ração de juvenis de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> . .....	42
<b>Figura 3.</b> Relação dos níveis de lisina (%) dieta e a conversão alimentar de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . .....	43
<b>Figura 4.</b> Relação dos níveis de lisina na dieta e triglicerídeos de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . .....	45
<b>Figura 5.</b> Relação dos níveis de lisina na dieta e colesterol de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . .....	46
<b>Figura 6.</b> Relação dos níveis de lisina na dieta e cortisol plasmático de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . .....	46

## Apresentação

A aquicultura é a atividade de produção animal que mais tem contribuído com o aumento de proteína em todo o mundo. Segundo a “Food and Agriculture Organization”, (FAO, 2013), a produção mundial de pescado (extrativa e aquícola) atingiu 156,2 milhões de toneladas no ano de 2011, das quais 62,7 milhões de toneladas, cerca de 40,1%, foi da aquicultura. O Brasil, que ocupa o 12º lugar na produção mundial de pescado, é o 2º maior produtor na América do Sul, destacando-se juntamente com o Peru na produção aquícola continental (FAO, 2013). De acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2013), a produção nacional de pescado (extrativa e aquícola), em 2011, representou cerca de 1,4 milhões de toneladas, dos quais 44% foram oriundos da aquicultura, apresentando, na última década, um acréscimo de 35% na produção nacional, com incremento de 51,2% de 2010 a 2011.

O expressivo crescimento da aquicultura nacional é reflexo da grande demanda por proteína de boa qualidade, incentivos públicos governamentais e investimentos privados no setor que mais tem crescido nos últimos anos, além da evidente estagnação da produção da pesca extrativa (FAO, 2013; MPA, 2013). Isso tem motivado a comunidade científica desenvolver pesquisas que respondam as diversas lacunas que representam entraves no cultivo de organismos aquáticos (Rocha *et al.*, 2013). Dentre estas, aquelas relacionadas à nutrição, principalmente de espécies de alto valor comercial, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o pirarucu (*Arapaima gigas*) (Ono *et al.*, 2004; Cyrino *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011; Ono, 2011; Kubitzka, 2012).

Estudos sobre nutrição de diferentes espécies de peixes de interesse para o cultivo têm avaliado as exigências de proteína e a relação energia:proteína (Ituassú *et al.*, 2005; Ono *et al.*, 2008; Oishi *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2010b; Signor *et al.*, 2010); o uso de ingredientes alternativos e a digestibilidade (Mori-Pinedo *et al.*, 1994; Guimarães e Shorti-Filho, 2004; Abimorad e Carneiro, 2007; Silva *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2009; Dairiki *et al.*, 2013a); a suplementação e exigência de aminoácidos (Muñoz-Ramires e Carneiro, 2002; Encarnação *et al.*, 2004; Dairiki *et al.*, 2007; Brandão *et al.*, 2009; Abimorad *et al.*, 2010; Bomfim *et al.*, 2010; Dairiki *et al.*, 2013b; Vásquez-Torres e Arias-Castellanos, 2013), entre outros, com o objetivo de melhorar o desempenho produtivo das espécies e reduzir custos ambientais e econômicos.

Na aquicultura, a ração é o principal componente dos custos finais de produção e está diretamente relacionada aos níveis de proteína existente na sua formulação. Segundo Bureau e

Cho (1999), o valor nutritivo de uma proteína é resultado da sua digestibilidade e da composição de seus aminoácidos. Esses, por sua vez, constituem importantes nutrientes necessários a manutenção da vida, do crescimento (deposição de tecidos) e da reprodução dos animais, sendo essencial fornecê-los na dieta em níveis desejáveis, que possibilite alta eficiência na produção, melhor aproveitamento em digestibilidade e redução de compostos nitrogenados eliminados no ambiente (Kim *et al.*, 1992; Cho *et al.*, 1994; Parsons e Baker, 1994; Bureau e Cho, 1999; Dairiki *et al.*, 2007; Cyrino *et al.*, 2010; Ovie e Eze, 2013). Contudo, uma dieta de alto valor nutricional e ambientalmente correta, com balanço adequado de aminoácidos, depende, necessariamente, do completo conhecimento das exigências nutricionais da espécie cultivada (NRC, 1993; Zhang *et al.*, 2008; Bicudo *et al.*, 2009).

Com o surgimento dos aminoácidos sintéticos, a formulação de dietas, baseadas nos requisitos necessários por aminoácidos essenciais dos animais, tornou-se foco da exigência nutricional para diferentes organismos (Wilson, 1989). Isso aumentou o número de pesquisas sobre as exigências de aminoácidos das espécies de importância na aquicultura. Um dos principais métodos para mensurar exigências nutricionais de aminoácidos em peixes têm sido os experimentos do tipo dose-resposta, nos quais as concentrações de um determinado aminoácido são oferecidas aos animais, tendo como parâmetro o ganho de peso em resposta aos níveis aplicados (Green e Hardy, 2002; Boisen, 2003; Rollin *et al.*, 2003; Abimorad *et al.*, 2010). Porém, como estes estudos demandam tempo e alto custo, convencionou-se a utilização de métodos que permitissem estimar com maior rapidez a exigência nutricional a partir da utilização de um aminoácido referência, obtido por um experimento dose-resposta e o perfil corporal da espécie (Wilson, 2002; Bicudo e Cyrino, 2009; NRC, 2011). Esse conceito sugere que há uma afinidade entre os aminoácidos presentes na proteína do músculo dos animais e a exigência nutricional da espécie, e que este perfil aminoácídico constituiria um balanceamento ideal na dieta para atender o melhor desempenho (Wilson, 1991; Wilson, 2002; Pezzato *et al.*, 2004; Dairiki *et al.*, 2007). O balanceamento de uma dieta, com base no conceito de proteína ideal, pode reduzir o conteúdo de proteína na ração, os custos de produção e a excreção de nitrogênio pelos peixes, um dos nutrientes mais poluentes no meio aquático (Botaro *et al.*, 2007). Experimentos executados com o conceito de proteína ideal consistem na elaboração de dietas com ingredientes purificados, que permitem o conhecimento exato dos níveis de aminoácidos incluídos na formulação, especialmente, a variação segura nos níveis crescentes do aminoácido referência.

Embora diferentes aminoácidos sejam utilizados como referência para estimar outros aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, a lisina é o mais empregado em diferentes estudos para determinar a exigência nutricional em peixes, devido à facilidade dos experimentos, e por ser um dos principais aminoácidos essenciais aos peixes (Bureau e Encarnação, 2006).

### ***A lisina como aminoácido referência***

A lisina é o aminoácido mais limitante em muitas fontes proteicas, sendo encontrada em maiores concentrações nas proteínas de origem animal. É um aminoácido exclusivamente orientado para a deposição de proteína corporal, merecendo atenção especial na formulação de rações para peixes (Baker e Han, 1994; Kim e Lall, 2000; Rodehutschord *et al.*, 2000; Dairiki *et al.*, 2007; Peres e Olivia-Teles, 2008; Ovie e Eze, 2013). Limitações na concentração de lisina na dieta podem acarretar perdas de crescimento e de ganho de peso, principalmente por não haver síntese endógena desse aminoácido (Baker e Han, 1994; Dairiki *et al.*, 2007; Dairiki *et al.*, 2013b). Níveis adequados de lisina melhoram a sobrevivência e o crescimento dos peixes, além de prevenir possíveis doenças e lesões nas nadadeiras (Dairiki *et al.*, 2007; Ovie e Eze, 2013). Três razões contribuem para utilização da lisina como aminoácido referência: (1) é um aminoácido estritamente essencial e não apresenta síntese endógena; (2) possui metabolismo básico e único orientado para deposição de proteína corporal, diferente dos aminoácidos sulfurosos e; (3) são precisas as análises laboratoriais para determinação dos seus níveis em ingredientes, rações e tecidos (Wilson, 2002; Peres e Olivia-Teles, 2008).

Segundo o National Research Council - NRC (2011), a necessidade de lisina para peixes variam entre 5,0 e 6,8% da proteína dietética, sendo os valores mais altos, em geral, encontrados para peixes carnívoros (Dairiki *et al.*, 2013). A utilização da lisina na determinação de exigência nutricional de aminoácidos em peixes tem sido empregada por vários autores para diferentes espécies em várias partes do mundo, como para o “large yellow croaker” (*Pseudosciaena crocea* R) (Zhang *et al.*, 2008), “turbot” (*Scophthalmus maximus*) (Peres e Olivia-Teles, 2008), “black sea bream” (*Spaurus macrocephalus*) (Zhou *et al.*, 2010), bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (Zarate e Lovell, 1997), “striped bass” (*Morone saxatilis*) (Small e Soares, 1998; 2000), juvenis de “Japanese flounder” (*Paralichthys olivaceus*) e “red sea bream” (*Pagrus major*) (Forster e Ogata, 1998; 2000), “truta arco-íris” (*Oncorhynchus mykiss*), (Encarnação *et al.*, 2004), entre outros.

Dentre as espécies estudadas no Brasil, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) tem sido foco constante de pesquisas sobre sua exigência por aminoácidos. Gonçalves *et al.* (2009) estudando a relação proteína digestível e lisina digestível para juvenis de *O. niloticus*, demonstraram que o aminoácido lisina, ainda que em níveis elevados de inclusão, não foi suficiente para melhorar o desempenho produtivo dos peixes, quando utilizado em dietas com baixo valor proteico. Entretanto, a suplementação de 7,5% de lisina em relação à proteína digestível (PD), em rações com níveis acima de 26%, promoveu melhores respostas de desempenho produtivo para a espécie.

Ovie e Eze (2013), estudando a exigência para a mesma espécie, suplementando lisina em dieta deficiente deste aminoácido, determinaram a exigência em 7,12% da proteína com base nos valores da taxa de crescimento específico e da conversão alimentar. Bomfim *et al.* (2010) avaliando os efeitos de cinco níveis de lisina digestível da ração, numa dieta basal de 29,12% PB e 3.000 kcal de energia digestível/kg, também com *O. niloticus*, encontraram melhores resultados com 1,7% de lisina digestível na dieta ou 5,83% da proteína. Furuya *et al.* (2006), avaliando quatro níveis de lisina para a mesma espécie, numa dieta com 29,51% PB e 3.235 kcal de energia digestível/kg, estimaram a exigência para o ganho de peso e conversão alimentar, em 1,56 e 1,44% de lisina digestível respectivamente ou 5,2% e 4,74% da proteína. Recentemente, Furuya *et al.* (2012) determinaram a exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia do Nilo, mantendo a relação arginina:lisina de 1,3:1 constante, encontraram a exigência de lisina digestível de 15,21 g/kg (5,41 g/100 g de proteína digestível ou 5,41% da proteína).

Outras espécies também têm sido estudadas quanto sua exigência por aminoácidos. Abimorad *et al.* (2010), utilizando seis níveis de lisina digestível para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), obtiveram incremento significativo no ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico, retenção de proteína, taxa de eficiência proteica e conversão alimentar aparente para o nível de 1,61% de lisina na dieta. A lisina digestível, determinada pelo modelo de regressão segmentada, com base nos valores médios de ganho de peso, foi de 1,64% (5,57% da proteína). Bicudo *et al.* (2009), estudando a mesma espécie, com dieta semipurificada e isoproteica de 32% PB, determinaram, como nível adequado de lisina digestível, com base no ganho de peso e eficiência alimentar, valores de 1,4 a 1,5% de lisina digestível ou 4,4 a 4,7% da proteína.

Montes-Girao e Fracalossi (2006), avaliando a exigência de lisina para juvenis de jundiá (*Rhandia quelem*), utilizando uma dieta semipurificada com 34% de PB e 3.500 kcal

de energia metabolizável, encontraram a exigência dietética respectivamente de 4,5% e 5,3% da proteína, determinadas para os parâmetros ganho de peso e taxa de retenção proteica.

Dairiki *et al.* (2007) determinaram a exigência dietética para juvenis de “black bass” (*M. salmoides*) para o peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico em 2,1% ou 4,9% da proteína dietética. Já a conversão alimentar apresentou melhor índice com 1,69% de lisina na dieta ou 3,9% da proteína. Prado (2011) estudado o também carnívoro surubim (*Pseudoplatystoma* spp), determinou a exigência para a espécie em 2,75% de lisina na dieta.

Apesar dos crescentes avanços nas pesquisas sobre exigências nutricionais em peixes, a exigência por aminoácidos ainda é um amplo campo de investigação. Estes estudos em peixes vêm se tornando, cada vez mais, importante para a formulação de dietas mais eficientes e equilibradas quanto ao perfil de aminoácidos essenciais e não essenciais. Porém, para o tambaqui, (*C. macropomum*), uma das espécies mais importantes da aquicultura no Brasil, os estudos sobre suas exigências nutricionais por aminoácido são, praticamente, inexistentes.

### **Tambaqui (*Colossoma macropomum*)**

O tambaqui, Characiforme da família Characidae, é originário das bacias dos rios Orinoco e Amazonas, com abrangência em toda a região amazônica. Possui hábito alimentar onívoro, alimenta-se, na natureza, de frutos e sementes da floresta alagada e pequenos organismos. Na fase jovem, é filtrador, alimentando-se de zooplânctons, no qual encontra maior oferta de proteína animal para os primeiros anos de vida (Silva *et al.* 2000; Costa *et al.* 2001; Araújo-Lima e Gomes, 2005; Rodrigues, 2014).

É a espécie nativa de maior importância na pesca e piscicultura da Amazônia, muito apreciada na região Norte do país. Historicamente, é uma das espécies com maior pressão de sobrepesca (Isaac e Ruffino, 1996; Costa *et al.* 2001; Santos *et al.* 2006; Freitas e Rivas, 2006; Freitas *et al.* 2007; Mounic-Silva, 2009), apresentando, nos últimos 5 anos, estagnação no desembarque da pesca comercial, com cerca de 4.200 t em 2011 (Ibama, 2007; Mounic-Silva, 2009; MPA, 2012; 2013). Segundo estatística do Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA, no ano 2011, a produção aquícola de tambaqui no Brasil foi 26 vezes superior a extrativa no mesmo período, sendo a região Norte a maior produtora desta espécie em ambas as modalidades (MPA, 2013). Segundo Jacometo *et al.* (2010), de cada dez tambaquis consumidos na cidade de Manaus, nove são oriundos da piscicultura. A cidade de Manaus é o

maior porto de desembarque de tambaqui da região e a maior consumidora de tambaqui do Brasil (Kubitza *et al.*, 2012).

O início da década de 80 foi marcado pelos primeiros passos rumo à produção de alevinos e ao cultivo de peixes redondos no Brasil, e desde então o volume de informação sobre a biologia e o cultivo destes peixes vem evoluindo. Os primeiros estudos do cultivo de tambaqui foram investigados por Silva *et al.* (1981), Lopes e Fontenele (1982), Eckmann, (1987), Merola e Souza (1988), Merola e Pagan-Font (1988), tornando-se uma das espécies mais estudadas no Brasil, o que proporcionou avanços significativos em seu cultivo (Kubitza, *et al.*, 2012).

Das espécies produzidas no Brasil, o tambaqui é a segunda mais cultivada e a primeira dentre as espécies nativas, representando cerca de 20,4% da produção nacional (MPA, 2013). Apresenta excelentes características para a piscicultura, tais como, fácil aceitação de ração, excelente rusticidade ao confinamento, crescimento rápido e boa conversão alimentar, facilidade de manejo e reprodução induzida, resistente a doenças e tolerante a baixos níveis de oxigênio dissolvido, além de apresentar boa rentabilidade, entre 19 a 40% (Melo *et al.* 2001; Izel e Melo, 2004; Araújo-Lima e Gomes, 2005; Gomes *et al.*, 2010; Rodrigues, 2014).

Vários estudos têm abordado diferentes informações acerca da espécie, como densidades de estocagem, diferentes sistemas de cultivo, arraçamento e manejo alimentar, qualidade de água, larvicultura e etc. (Gunther e Abarca, 1992; Melo *et al.*, 2001; Brandão *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2004; Izel e Melo, 2004; Gomes *et al.*, 2006; Chagas *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2010b; Cunha e Santos-Junior, 2011). Contudo, a consolidação de sua tecnologia de cultivo, principalmente sobre nutrição, reprodução e manejo precisa ser aprimorada para melhorar a eficiência de produção desta espécie (Gomes *et al.*, 2010; Dairiki e Silva, 2011; Rodrigues, 2014).

Atualmente, o potencial de crescimento e a viabilidade econômica da produção de tambaqui estão relacionados aos estudos de nutrição e manejo alimentar (Oliveira *et al.*, 2011). Entre as áreas estudadas, a exigência nutricional, em diversas fases do crescimento e com diferentes nutrientes, como a exigência por aminoácidos essenciais, é ainda um campo amplo para a pesquisa. Estudos sobre a exigência proteica para o tambaqui, em geral, têm focado sua abordagem nos requisitos por proteína bruta, sem considerar o conteúdo de aminoácidos na dieta (Vidal Jr *et al.*, 1998; Gutiérrez *et al.*, 2010; Oishi *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2010b; Almeida *et al.*, 2011). É sabido que os peixes não têm exigência absoluta por proteína, mas sim por um balanceamento adequado de aminoácidos na dieta. No entanto, uma



ração que proporcione melhor desempenho, e que seja ambientalmente sustentável, depende do completo conhecimento das exigências nutricionais da espécie (Bicudo *et al.*, 2009). Todavia, informações sobre as exigências nutricionais de aminoácidos para o tambaqui é praticamente inexistente, sendo necessários estudos que permitam a elaboração de uma dieta equilibrada em aminoácidos e que atenda a exigência nutricional desta espécie, proporcionando melhores condições de saúde e, conseqüentemente, melhor desempenho.

### ***Estresse fisiológico***

Em geral, estudos sobre as exigências nutricionais são avaliados com base no desempenho zootécnico das espécies sob as diferentes dietas testadas. No entanto, o efeito dessas dietas na fisiologia e no metabolismo animal pode ser uma importante ferramenta para o melhor entendimento da dinâmica de utilização dos nutrientes na saúde dos peixes (Tavares-dias *et al.*, 2007; Bicudo *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010a; Almeida *et al.*, 2011; Castillo, 2012; Silva, 2013). Dietas que não possuem nutrientes balanceados e que não atendem as exigências do animal, não só afetam o crescimento e a eficiência alimentar, mas também aumentam a susceptibilidade a doenças e induz o aparecimento de sinais de deficiência, incluindo comportamento alterado e mudanças fisiológicas (Urbinati e Carneiro, 2004; Tavares-dias *et al.*, 2007; Olivia-Teles, 2012).

De acordo com Wedmayer (1996), os peixes ajustam o seu metabolismo a condições desfavoráveis ou estressantes frente a situações que podem ser causadas por diversos fatores, como: mudanças na qualidade da água, práticas de manejo inadequadas, altas densidades de estocagem, deficiências nutricionais, captura, transporte, adensamento, entre outras. Em condições de estresse é comum observar mudanças no comportamento, acompanhadas por várias alterações fisiológicas e bioquímicas no animal (Tavares-Dias e Moraes, 2004). Segundo Wendeelar-Bonga (1997), o estresse pode ser definido como uma condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, ou homeostase, é ameaçado ou perturbado em decorrência da ação de estímulos intrínsecos denominados estressores.

No estresse fisiológico é comum fazer a distinção entre as respostas primária, secundária e terciária, conhecida como Síndrome de Adaptação Geral (Wedemeyer *et al.*, 1990; Pickering e Pottinger, 1995; Barton, 2002). A resposta primária compreende a ativação dos centros cerebrais, resultando na liberação dos hormônios catecolamina (adrenalina e noradrenalina) e cortisol na circulação, que provocam a resposta secundária, definida como a canalização das ações e dos efeitos imediatos destes hormônios em nível sanguíneo e tecidual,

como: hiperglicemia, alterações osmorregulatórias, aumento da taxa metabólica, alterações hematológicas, alterações cardiorespiratórias, mobilização de substratos de energia e, ainda, a perturbação do balanço hidromineral. A resposta terciária manifesta-se em nível de população, traduzindo-se em inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune do animal (McDonald e Milligan, 1997; Wendelaar-Bonga, 1997; Urbinati e Carneiro, 2004).

Vários estudos têm avaliado respostas fisiológicas em peixes como informações adicionais para melhor avaliar os desafios impostos durante os experimentos. Alguns exemplos da literatura evidenciam o suporte destas informações em estudos sobre nutrição de peixes. Tambaquis (*C. macropomum*) alimentados com dietas suplementadas com castanha da Amazônia mostraram desempenho satisfatório, tanto do ponto de vista produtivo como de saúde dos animais (Santos *et al.*, 2010a). Estudo realizado por Almeida *et al.* (2011) encontraram alterações metabólicas em respostas a diferentes teores de proteína e lipídios utilizados na dieta nessa mesma espécie. Chagas e Val (2003), avaliando a inclusão de vitamina C na dieta, observaram que os animais alimentados com a dieta sem a inclusão desta vitamina apresentaram alterações hematológicas, indicando anemia nos animais. Affonso *et al.* (2007), também avaliando os efeitos da inclusão de vitamina C na dieta para o matrinxã (*Brycon amazonicus*), sugerem que a suplementação com 800 mg/kg desta vitamina apresentou melhor desempenho e perfil fisiológico nos peixes. Castillo, (2012), estudando os efeitos das dietas com níveis crescentes de proteína para juvenis de pirarucu (*A. gigas*) determinou o melhor resultado obtido (49,4% PB), utilizando como referência o desempenho zootécnico e a homeostase fisiológica dos animais. Silva (2013), também para o pirarucu, não observou alterações fisiológicas que comprometessem a avaliação do desempenho dos animais alimentados com dietas com níveis de substituição da farinha de peixe por farelo de soja.

Outros estudos relacionaram a avaliação dos parâmetros fisiológicos com a nutrição em peixes, tais como, Rodrigues *et al.* (2010) com o pacu (*P. Mesopotamicus*), Drumond *et al.* (2010) e Menezes *et al.* (2006) com o pirarucu (*A. gigas*), Araújo *et al.* (2011) com a tilápia (*O. niloticus*), Lazzari *et al.* (2010) com o jundiá (*R. quelem*), etc.

Na piscicultura, o estresse é uma condição comum imposta aos peixes pela atividade, mas, dependendo do nível de tolerância da espécie e as adaptações que foram adquiridas durante seu processo evolutivo, suas respostas podem afetar o desempenho produtivo, a saúde e a suscetibilidade a doenças (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Affonso *et al.*, 2006; Oba *et al.*, 2009). Entender as respostas fisiológicas do animal sob estresse corrobora com a identificação de condições indesejáveis ou desagradáveis ao organismo animal, o que pode contribuir para

tomada de decisões que mitiguem os procedimentos de cultivo dos peixes (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Lima *et al.*, 2006; Tavares-Dias, 2007). Nesse contexto, a avaliação das respostas fisiológicas do tambaqui submetido à inclusão de níveis crescente de lisina na dieta pode corroborar com os resultados de desempenho e exigência de lisina para esta espécie.

## **Objetivos**

### ***Geral***

Determinar a exigência nutricional de lisina para o tambaqui *Colossoma macropomum* pelo método dose resposta e estimar a exigência dos aminoácidos essenciais com base no conceito de proteína ideal.

### ***Específicos***

- ✓ Avaliar o desempenho zootécnico dos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de lisina na dieta;
- ✓ Avaliar a influência das dietas com diferentes níveis de lisina nas respostas fisiológicas dos peixes;
- ✓ Estimar a exigência de lisina para o tambaqui a partir dos parâmetros zootécnicos ganho de peso e retenção de proteína, utilizando modelos de regressão;
- ✓ Estimar os valores relativos dos demais aminoácidos essenciais, tendo a lisina como aminoácido referência, utilizando a equação proposta por Arai, (1981) e Abimorad e Castallani, (2011).

## Referências Bibliográficas

- Abimorad, E.G. e Carneiro, D.J. 2007. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles-fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*, 13: 1-9.
- Abimorad, E.G.; Castellani, D. 2011. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 37(1): 31-38.
- Abimorad, E.G.; Favero, G.C.; Squassoni, G.H.; Carneiro, D.J. 2010 Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, Oxford, 16: 370-377.
- Affonso, E.G.; Silva, E.C.; Tavares-Dias, M.; Menezes, G.C.; Carvalho, C.S.M.; Nunus, E.S.S.; Ituassu, D.R.; Roubach, R.; Ono, E.A.; Fim, J.D.I.; Marcon, J.L. 2007. Effect of high levels of vitamim C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 147: 383-388.
- Affonso, E. G.; Oliveira, S. R.; Paula, A. A.; Souza, R. T. Y. B; Waichman, A. V.; Fim, J. D. I.; Ono, E. A. 2006. Caracterização fisiológica de Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Characidae) em duas densidades de estocagem. *Comunicación Científica*. P. 996-1003.
- Almeida, L.C.; Avilez, I.M.; Honorato, C.A.; Hori, T.S.F.; Moraes, G. 2011. Growth and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed different levels of protein and lipid. *Aquaculture nutrition*. 17: 253-262.
- Araújo, D.M.; Pezzato, A.C.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Nakagome, F.K. 2011. Hematologia de tilapias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 46(3): 294-302.
- Araújo-Lima, C. A. R. M.; Gomes, L.C. 2005. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Ed). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. v.2. Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, p.67-104.
- Araújo-Lima, C. A. R. M.; Goulding, M. 1998. *Os frutos do Tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia*. Sociedade Civil Mamirauá/ CNPq/ Rainforest Alliance. Brasília, DF. 186p.
- Baker D.H; Han, Y. 1994. Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks posthatching. *Poultry Science*, 73: 1441-1447.

- Barton, B. A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 517-525.
- Bicudo, A.J.A.; Cyrino, J.E.P. 2009. Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40: 318-823.
- Bicudo, A.J.A.; Sado, R.Y.; Cyrino, J.E.P. 2009. Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Aquaculture*, 297: 151-156.
- Boisen, S. 2003. Ideal dietary amino acid profiles for pigs. *In: Amino acid in farm animal nutrition*. Wallingford: CAB International, p.157-168.
- Bomfim, M. A. D.; Lanna, E. A. T.; Donzele, J.L.; Quadros, M.; Ribeiro, F. B.; Souza, M. P. 2010. Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nylo. *R. Bras. Zootec.*, 39: 1-8.
- Botaro, D; Furuya, W. M.; Silva, L. C. R.; Santos, L. D.; Silva, T. S. C; Santos, V. G. 2007. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. *R. Bras. Zootec.*, 36(3): 517-525.
- Brandão, L. V.; Pereira-Filho, M.; Guimarães S. F.; Fonseca F. A. L. 2009. Suplementação de metionina e lisina em rações para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818). *Acta Amazonica*. 39(3): 675 – 680.
- Brandão, R. F.; Gomes, L. de C.; Chagas, E. C.; Araújo, L. D. de. 2004. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. *Pesq. agropec. bras.*, 39(4): 357-362.
- Bureau, D.P.; Cho, C.Y. 1999. Nutrition and feeding of fish. *OMNR Fish Culture Course*, University of Guelph, Guelph, Ontario, 21-25 June 1999.
- Bureau, D.P.; Encarnação, P.M. 2006. Adequately defining the amino acid requirements of fish: the case example of lysine. *In: Simposium Internacional de Nutrición Acuícola; Avances en Nutrición Acuícola*, 8, Monterrey. Anais... Monterrey, 2006. p.29-54.
- Castilho, C. P. C. 2012. *Exigência proteica e respostas fisiológicas de juvenis de pirarucu Arapaima gigas (Schinz, 1822)*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior/Instituto Nacional de Pesquisas na Amazônia – INPA, Manaus, Amazonas. 77p.

- Costa, R.F.L.; Barthem, B.R. e Bittencourt, M.M. 2001. A pesca do tambaqui, *Colossoma macropomum*, com enfoque na área do médio Solimões, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 31(3): 449-468.
- Chagas, E.C.; Val, A. L. 2003. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 38(3): 397-402.
- Chagas, E.C.; Gomes, L.C.; Martins Júnior, H.; Roubach, R. 2007. Produtividade de tambaqui criado em tanque-rede com diferentes taxas de alimentação. *Ciência Rural*, 37: 1109-1115.
- Cho, C.Y.; Hynes, J.D.; Wood, K.R.; Yoshida, H.K. 1994. Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction os aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture*, 124: 293-305.
- Cunha, V.V; Júnior, A.S. 2011. Crescimento de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (cuvier, 1818), em tanques-rede com diferentes densidades populacionais em Ji-Paraná, RO. *Amazônia: Ci. & Desenv.*, 6(12): 185-193.
- Cyrino, J.E.P.; Bicudo, A.J.A.; Yuji, S.R.; Borghesi, R.; Dairiki, J.K. 2010. A piscicultura e o ambiente - o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *R. Bras. Zootec.*, 39: 68-87 (Suplemento Especial).
- Dairiki, J. K.; Correa, R. B.; Inoue, L. A.K. A.; Morais, I. S. 2013a. Feijão-caupi autoclavado na nutrição de juvenis de tambaqui. *Pesq. agropec. bras.*, 48(4): 450-453.
- Dairiki, J. K.; Dias, C T. S.; Cyrino, J. E. P. 2007. Lysine Requirements of Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*: A Comparison of Methods of Analysis of Dose-Response Trials Data. *Journal of Applied Aquaculture*, 19(4): 1-27.
- Dairiki, J. K.; Borghesi, R.; Dias, C. T. S.; Cyrino, J. E. P. 2013b. Lysine and arginine requirements of *Salminus brasiliensis*. *Pesq. agropec. bras.* [online], 48(8): 1012-1020.
- Dariki, J.K. e Silva, T.B.. 2011. Revisão de literatura: exigências nutricionais do tambaqui – compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus, *Embrapa Amazônia Ocidental - Documentos 91*. 44p
- Drumond, G.V.F.; Caixeiro, A.P.A.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J.L.; Affonso, E.G.2010. Características bioquímicas e hematológicas do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) de cultivo semi-intensivo na Amazônia. *Acta Amazonica*, 40(3): 591-596.
- Eckmann, R. (1987). Growth and body composition of juvenile *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (Characoidei) feeding on artificial diets. *Aquaculture*, 64(4): 293-303.

- Encarnação, P.; Lange, C.; Rodehutschord, M. *et al.* 2004. Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture*, 235: 569-586.
- FAO Fisheries and Aquaculture Department. 2013. *Global Aquaculture Production Statistics for the year 2011* [online].  
<<ftp://ftp.fao.org/FI/news/GlobalAquacultureProductionStatistics2011.pdf>>
- FAO. 2012. *El estado mundial de la pesca y acuicultura 2012*. Roma. 231p.
- Forster, I.; Ogata, H. Y. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder, (*Paralichthys olivaceus*), and juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 161: 131-142.
- Furuya, W. M.; Graciano, T. S.; Vidal, L. V. O.; Xavier, T. O.; Gongora, L. D.; Righetti, J. S.; Furuya, V. R. B. 2012. Digestible lysine requirement of Nile tilapia fingerlings fed arginine-tolysine-balanced diets. *R. Bras. Zootec.*, 41(3): 485-490.
- Furuya, W.M.; Botaro, D.; Santos, V.G. *et al.* 2006. Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *R. Bras. Zootec.*, 35(3): 937-942 (supl.).
- Freitas, C. E. C. e Rivas, A. A. F. 2006. A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Ocidental. *Cienc. Cult.* [online], 58(3): 30-32.
- Freitas, C. E. C., Nascimento F. A. e Souza, F. K. S. 2007. Levantamento do estado de exploração dos estoques de curimatã, jaraqui, surubim e tambaqui. *In: ProVárzea* (Ed.). *O setor pesqueiro na Amazônia: análise da situação atual e tendências do desenvolvimento a indústria pesqueira*. IBAMA, Manaus, Amazonas, p.76-100.
- Gomes, L.C.; Simões, L.N.; Araújo-Lima, C.A.R.M. 2010. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). *In: Baldisserotto, B. e Gomes, L.C. (Ed.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2ª ed. Editora da UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul, p.175-204.
- Gomes, L. C.; Chagas, E. C.; Martins-Junior, H.; Roubach, R.; Ono, E. A.; Lourenço, J. N. P. 2006. Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. *Aquaculture*, 253: 374-384.
- Gomes, L. G.; Brandão, F. B.; Chagas, E. C.; Ferreira, M. F. B.; Lourenço, J. N. P. 2004. Efeito do volume do tanque-rede na produtividade de tambaqui (*Colossoma macropomum*) durante a recria. *Acta Amazonica*, 34(1): 11-113.
- Gomes, L.C.; Araujo-Lima, C.A.R.M.; Roubach, R., Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P. 2003. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile

- tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34: 76-84.
- Gonçalves, G.S.; Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Tachibana, L.; Rosa, M.J.S.; Guimarães, I.G. 2009. Relação lisina digestível:proteína digestível em rações para tilápias-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, 38(12): 2299-2305.
- Green, J.A.; Hardy, R.W. 2002. The optimum dietary essential amino acid pattern for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to maximize nitrogen retention and minimize nitrogen excretion. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 97-108.
- Guimarães, S. F. e Storti-Filho, A. 2004. Produtos agrícolas e florestais como alimento suplementar de tambaqui em policultivo com jaraqui. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 39(3): 293-296.
- Gunther, J.; J. Abarca, J. B. 1992. Growth performance of *Colossoma macropomum*(Cuvier) juveniles at different feed rations. *Aquaculture and Fisheries Management*, 23 (81).
- Gutiérrez, F.W.; Quispe, M.; Valenzuela, L.; Contreras, G.; Zaldívar, J. 2010. Utilización de la proteína dietaria por alevinos de la gamitana, *Colossoma macropomum*, alimentados com dietas isocalóricas. *Rev. peru. biol.*, 17: 219-223.
- Gutierrez, F.W.; Zaldívar, J.; Contreras, G. 2009. Coeficientes de digestibilidade aparente de harina de pescado peruana y maíz amarillo duro para *Colossoma macropomum* (Actinopterygii, Characidae). *Rev. peru. biol.* 15(2): 111-115.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, 2007. *Estatística da Pesca 2007. Brasil: grandes regiões e unidades da federação*. Brasília – DF.
- Ituassú, D. R.; Pereira-Filho, M.; Roubach, R.; Crescêncio, R.; Cavero, B. A. S.; Gandra, A. L. 2005. Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 40(3): 255-259.
- Isaac, V. J.; Ruffino, M. L. 1996. Population dynamics of tambaqui, *Colossoma macropomum*, Cuvier 1818, in the Lower Amazon, Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, 3(4): 315-333.
- Izel, A.C.U.; Melo, L.A.S. 2004. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em tanques escavados no Estado do Amazonas. Manaus: *Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos 32*. 20p.
- Jacometo, C. B; Barrero, N. M. L; Rodriguez□Rodriguez, M. D; Gomes, P. C.; Povh, J. A.; Streit Junior, D. P.; Vargas, L.; Resende, E. K.; Ribeiro, R.P. 2010. Variabilidade



- genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 45(5): 481-487.
- Kim K.I; Grimshaw T.W; Kayes T.B; Amundson C.H. 1992. Effect of fasting or feeding diets containing different levels of protein or amino acids on the activities of the liver amino acid-degrading enzymes and amino acids oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 107, p.89-105.
- Kim, J.D. e Lall, S.P. 2000. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellow-tail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 187: 367-373.
- Kubitza, F. 2012. Tambaqui: alimentando com eficiência para reduzir custos. *Panorama da aquicultura*, Rio de Janeiro, 22(129): 14-21.
- Kubitza, F.; Campos, J. L.; Ono, E. A.; Istchuk, P. I. 2012. Panorama da piscicultura no Brasil: estatísticas, espécies, polos de produção e fatores limitantes á expansão da atividade. *Panorama da aquicultura*, 22(132): 14-25.
- Lazzari, R.; Netto, J.R.; Corrêia, V.; Rossato, S.; Ferreira, C.C.; Sutili, F.J.; Duarte, M.M.F. 2011. Hematologia de jundiás em resposta ao nível de proteína na dieta. *Ciência Animal Bras*, 12(2): 192-197.
- Lima, L.C; Ribeiro, L.P.; Leite, R.C.; Melo, D.C. 2006. Estresse em peixes. *Rev Bras Reprod Animal*. Belo Horizonte, 30(3/4): 113-117.
- Lopes, J.P. e Fontenele, O. 1982. Produção de alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), para peixamento de açudes e estocagem de viveiros, no nordeste do Brasil. Fortaleza, Ceará: DNOCS.
- McDonald, G.; Milligan, C.L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. p.119-144. In: Iwama, G.W.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C.B. (Eds.). *Fish stress and health in aquaculture*, 62: 119-144.
- Melo, L.A.S.; Izel, A.C.U.; Rodrigues, F.M, 2001. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas. Manaus: *Embrapa Amazônia Ocidental*. Brasil. 30pp.
- Menezes, G.C.; Tavares-Dias, M.; Ono E.A.; Andrade, J.I.A.; Brasil, E.M.; Roubach, R.; Urbinati, E.C.; Marcon, J.L.; Affonso, E.G. 2006. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 145: 274-279.

- Merola, N.; Souza, H. 1988. Preliminary studies on the culture of the pacu, *Colossoma mitrei*, in floating cages: Effect of stocking density and feeding rate on growth performance. *Aquaculture*, 68, 243-248.
- Merola, N; Pagán-Font, F. A. 1988. Pond Culture of the Amazon Fish Tambaqui, *Colossoma macropomum*: A Pilot Study. *Aquacultural Engineering*, 7: 113-125.
- Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA, 2012. *Boletim Estatístico de Aquicultura e Pesca, Brasil 2010*. Brasília - DF. 128p.
- Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA, 2013. *Boletim Estatístico de Aquicultura e Pesca, Brasil 2011*. Brasília - DF. 60p.
- Montes-Girao, P. J.; Fracalossi, D. M. Dietary Lysine Requirement as Basis to Estimate the Essential Dietary Amino Acid Profile for Jundiá´, *Rhamdia quelen*. *Journal Of The World Aquaculture Society*, 37(4): 388-396.
- Mori-Pinedo, L.A.; Pereira-Filho, M.; Honczaryk, A.; Oliveira-Pereira, M.I. 1994. Evaluation of peach palm meal (*Bact gasipae* H.B.K.) as a substitute for corn meal (*Zea mays* L.) in practical feed formulation for juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, 124: 127-131.
- Mounic-Silva, C.E. 2009. *Abundância de juvenis do ano de Characiformes migradores em áreas de várzea do baixo rio Solimões (Amazonas-Brasil)*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazonia-INPA. Manaus, Amazonas. 54p.
- Muñoz-Ramírez, A.P. e Carneiro, D.J. 2002. Lysine and methionine supplementation in diets with low protein level for the initial growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). *Acta Scientiarum*, 24: 909-916.
- National Research Council - NRC. 1993. *Nutrient requirement of fish*, Washington, D.C.: National Academy of Science. 105p.
- National Research Council - NRC. 2011. *Nutrient requirement of fish and shrimp*. Washington, D.C.: National Academy of Science.
- Oba, E. T.; Mariano, W. S.; Santos, L. R. B. 2009. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo. In: Tavares-Dias, M. *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*. Embrapa Amapá, Macapá, Amapá. p.226-247.
- Oishi, Cesar A.; Nwanna, Lawrence C.; Pereira Filho, M. 2010. Optimum dietary protein requirement for Amazonian Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fish meal free diets. *Acta Amazonica*. 40(4): 757-762.

- Oliva-Teles, A. 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35: 83-108.
- Oliveira, A.C.B; Miranda, E.C.; Correa, R. 2011. Exigências nutricionais e alimentação do tambaqui. In: Cyrino, J.E.P e Fracalossi, D.M. (Ed.). 2011. *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p.217-229.
- Ono, E. A.; Halverson, M. R.; Kubitz, F. 2004. Pirarucu: o gigante esquecido. *Panorama da Aquicultura*. 14(81): 14-25.
- Ono, E. A.; Nunes, E.S.S; Cedano, J.C.C.; Pereira-Filho, M.; Roubach, R. 2008. Digestibilidade aparente de dietas práticas com diferentes relações energia:proteína em juvenis de pirarucu. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 43(2): 249-254.
- Ono, E.A. 2011. A produção de pirarucu no Brasil: uma visão geral. *Panorama da Aquicultura*. 21(123):40-45.
- Ovie, S.O.; Eze, S. S. 2013. Lysine requirement and its effect on the body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8(1): 94-100.
- Parsons C.M.; Baker D.H. 1994. The concept and use of ideal proteins in the feeding of non ruminants. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 31. Maringá. Anais ... Maringá: SBZ. p.119-128.
- Peres, H.; Olivia-Teles, A. 2008. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, 275: 283-290.
- Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Fracalossi, D.M.; Cyrino, J.E.P. 2004. Nutrição de peixes. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. (Ed). *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: TecArt. p. 75-169.
- Pickering A.D.; Pottinger TG. 1995. Biochemical effects of stress. In: Hochachka PW, Mommsen TP. *Environmental and ecological biochemistry*. Amsterdam: Elsevier, 1995. p.349-379.
- Prado, Samuel A. 2011. *Exigência de Lisina de Juvenis de Surubim (Pseudoplatystoma spp)*. Dissertação de Mestrado. Pós-graduação em Zootecnia. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais. 38p.
- Rocha, C.M. C.; Resende, E. K.; Routledge, E. A. B.; Lundstedt, L. M. 2013. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 48(8): iv-vi.

- Rodehutschord, M.; Borchert, F.; Gregus, K. *et al.* 2000. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. 1. Effect of dietary crude protein level. *Aquaculture*, 187: 163-176.
- Rodrigues, A. P. 2014. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Bol. Inst. Pesca*, São Paulo, 40(1): 135-145.
- Rodrigues, L.A.; Fernandes, J.B.K.; Fabregat, T.H.P.; Sakomura, N.K. 2010. Desempenho produtivo, composição corporal e parâmetros fisiológicos de pacu alimentado com níveis crescentes de fibra. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 45(8): 897-902.
- Rollin, X.; Mambrini, M.; Abboudi, T. *et al.* 2003. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *British Journal of Nutrition*, 90: 865-876.
- Salze, G.; Quinton, M. and Bureau, D.P. 2011. Challenges associated with carrying out a meta-analysis of essential amino acid requirements of fish. *International AquaFeed*. 4p.
- Santos, F.; Pereira-Filho, M.; Sobreira, C.; Ituassú, D.; Fonseca, F. A. L. 2010b. Exigência proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. *Acta Amazonica*, 40(3): 597-604.
- Santos, G. M; Ferreira, E. J. G.; Zuanon, J. A. S. 2006. *Peixes comerciais de Manaus*. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea. 144p.
- Santos, M.Q.C.; Oishi, C.A.; Pereira-Filho, M.; Lima, M.A.C.; Ono, E.A.; Affonso, E.G. 2010a. Physiological response and performance of tambaqui fed with diets supplemented with Amazonian nut. *Ciência Rural*, 40: 2181-2185.
- Santos, S.S.; Lopes, J.P.; Santos-Neto, M.A. e Santos, L.S. 2007. Larvicultura do tambaqui em diferentes densidades de estocagem. *Rev. Bras. Eng. de Pesca*, 2: 18-25 (Esp.).
- Signor, A A.; Boscolo, W. R.; Feiden, A.; Bittencourt, F.; Coldebella, A.; Reidel, A. 2010. Proteína e energia na alimentação de pacus criados em tanques-rede. *R. Bras. Zootec.*, 39, n.11, p.2336-2341.
- Silva, A.; Carneiro, S.; Melo, F.R. 1981. Desova induzida de tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, com de hipófise de curimatã comum, *Prochilodus cearensis* Steindachner. In: *DNOCS. Coletânea de trabalhos técnicos*. Fortaleza-Ceará: DNOCS.
- Silva, J. A. M.; Pereira-Filho, M.; Oliveira-Pereira, M. I. 2000. Seasonal variation of nutrients and energy in tambaqui's (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) natural food. *Revista Brasileira de Biologia*, 60(4): 599-605.

- Silva, J. A. M.; Pereira-Filho, M.; oliveira-Pereira, M. I. 2003. Frutos e Sementes Consumidos pelo Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) Incorporados em Rações. Digestibilidade e Velocidade de Trânsito pelo Trato Gastrointestinal. *R. Bras. Zootec.*, 32(6): 1815-1824 (Supl. 2).
- Silva, J.A.M.; Pereira-Filho, M.; Cavero, B.A.S. *et al.* 2007. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Acta Amazonica*, 37(1): 157-164.
- Silva, R. M. 2013. *Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas práticas para juvenis de pirarucu (Arapaima gigas, SCHINZ, 1822)*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Aquicultura/Universidade Nilton Lins e Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. 45p.
- Small, B. C.; Soares, J. H. 1998. Estimating the quantitative essential amino acids requirements of striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture Nutrition*, 4: 225-232.
- Small, B. C.; Soares, J. H. 2000. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture Nutrition*, 6: 207-212.
- Tavares-Dias, M.; Barcellos, J.F.M.; Marcon, J.L.; Menezes, G.C.; Ono, E.A.; Affonso, E.G. 2007. Hematological and biochemical parameters for the pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Osteoglossiformes, Arapaimatidae) in net cage culture. *Electronic journal of ichthyology*. 2: 61-68.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2003. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em “pesque-pague” de Franca, São Paulo, Brasil. *Biosc. Journal*, 19(1): 107-114.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto, São Paulo. p.144.
- Urbinati, E.C.; Carneiro, P.C.F. 2004. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. (Ed.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. *Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática*. Jaboticabal, SP. p.171-194.
- Vasquez-Torres, W. e Arias-Castellanos, José A. 2013. Crescimento de juvenis de *Piaractus brachypomus* alimentados com dietas contendo diferentes perfis de aminoácidos essenciais. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 48(8): 849-856.

- Vidal Jr, M.V.; Donzele, J.L.; Camargo, A.C.S.; Andrade, D.R.; Santos, L.C. 1998. Níveis de proteína bruta para tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. 1. Desempenho dos tambaquis. *R. Bras. Zootec.*, 37: 421-426.
- Wedemeyer, G.; Barton, B.A.; Mcleay, D.J. 1990. Stress and acclimation. *In: Schreck, C.B.; Moyle, P.B. (Eds.). Methods for Fish Biology. American Fisheries Society*, p.451-489.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.
- Wilson R.P. 1989. Amino acids and proteins. *In: Halver JE (Ed.). Fish nutrition*. London: Academic Press, p.111-151.
- Wilson R.P. 1991. Amino acid nutrition of fish: a new method of estimating requirement values. *In: US-Japan Symposium on aquaculture nutrition*, 20, Newport, Oregon. Proceedings ... Newport, OR: [s.n], p.49-54.
- Wilson, R. P. 2002. Amino acids and proteins. *In: Halver, J. E. e Hardy, R. W.(Ed). Fish Nutrition*. Orlando: Academic Press, p.144-179.
- Zarate, D. D.; R. T. Lovell. 1997. Free lysine (L-lysine) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 159: 87-100.
- Zhang, C.; AI, Q.; Mai, K.; Tan, B.; LI, H.; Zhang, LU. 2008. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea R*). *Aquaculture*, 283: 123-127.
- Zhou, F.; Shao, J.; Xu, R.; Ma, J.; Xu, Z. 2010. Quantitative L-Lysine requirement of juvenile black sea bream (*Spaurus Macrocephalus*). *Aquaculture Nutrition*, 16: 194-204.

## Capítulo 1.

### Exigência de lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais para tambaqui, *Collossoma macropomum* (Cuvier, 1818)

Edimar Lopes da Costa<sup>1</sup>; Eduardo Akifumi Ono<sup>2</sup>; Paulo Adelino de Medeiros<sup>1</sup>; Elizabeth Gusmão Affonso<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia  
Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca interior – BADPI  
Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTI  
Av. André Araújo, nº 2936, Aleixo, CEP 69060-001. Caixa Postal 478  
Manaus – Amazonas – Brasil  
[edilcosta21@yahoo.com.br](mailto:edilcosta21@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Nilton Lins  
Pós-Graduação em Aquicultura – Nilton Lins/INPA  
Av. Professor Nilton Lins, 3259. Parque das Laranjeiras - CEP: 69058-030  
Manaus – Amazonas – Brasil  
[onoedu@yahoo.com](mailto:onoedu@yahoo.com)

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia  
Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTI  
Av. André Araújo, nº 2936, Aleixo, CEP 69060-001. Caixa Postal 478  
Manaus – Amazonas – Brasil  
[pgusmao@inpa.gov.br](mailto:pgusmao@inpa.gov.br)

Correspondência para:  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia  
Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTI  
Av. André Araújo, nº 2936, Aleixo, CEP 69060-001. Caixa Postal 478  
Manaus – Amazonas – Brasil  
[pgusmao@inpa.gov.br](mailto:pgusmao@inpa.gov.br)

## Resumo

### **Exigência de lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais para tambaqui, *Colossoma macropomum* (cuvier, 1818)**

Com objetivo de determinar a exigência de lisina para o tambaqui, 450 juvenis ( $7,7 \pm 0,06$  g) foram distribuídos em caixas de 500 litros, alimentados com dieta semipurificada à base de caseína, gelatina e aminoácidos livres, contendo seis níveis de lisina (L- lisina HCL 0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1; 2,4% da dieta), em delineamento inteiramente ao acaso. Os resultados demonstraram que as dietas com níveis crescentes de lisina não influenciaram os parâmetros zootécnicos avaliados. O tambaqui apresentou consumo reduzido, baixo ganho de peso e alta conversão alimentar com o uso de dieta semipurificada. O uso da dieta semipurificada afetou significativamente alguns parâmetros fisiológicos, exceto o volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, proteína total e glicose plasmática. Os baixos valores de hematócrito e contagem de eritrócitos influenciaram nos valores dos índices hematimétricos, provavelmente o baixo consumo tenha afetado esses parâmetros sanguíneos. O cortisol plasmático apresentou tendência a reduzir com aumento de lisina na dieta, sugerindo que níveis mais baixos de lisina influenciaram nos valores de cortisol plasmático. Os parâmetros fisiológicos triglicérides e colesterol, e o teor de lipídios corporais apresentaram tendência a reduzir com aumento dos níveis de lisina na dieta, sugerindo uma relação da lisina com acúmulo de lipídios corporais. As exigências dos aminoácidos essenciais, estimados a partir do conteúdo de aminoácidos corporais do tambaqui, foram similares ao encontrados para outras espécies e a lisina foi estimada em 6,0 e 6,2% da proteína dietética pelos dois métodos utilizados. O desempenho zootécnico, apresentado pelo tambaqui, com uso de dieta semipurificada para o intervalo de 0,9 a 2,4% de lisina na dieta, não permitiu determinar a exigência para a espécie por meio do método dose-resposta.

Palavra-chave: aminoácidos, fisiologia, nutrição, proteína ideal,



## Abstract

### **Lysine requirement and estimation of amino acids essential for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)**

The aim of this study was to determine lysine requirement for tambaqui. Juveniles ( $7.7 \pm 0.06\text{g}$ ) were distributed in 500 - L tanks (25 fish per tank). Fish were fed semipurified diet based on casein, gelatin and free amino acids, containing six levels of L-lysine HCL (0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1, 2.4%) in a completely randomized design. Increasing levels of lysine did not influence fish performance parameters. Tambaqui presented feed intake reduction, low weight gain and high feed conversion. Fish fed semipurified diets showed physiological parameters affected, except to Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration total protein and plasma glucose. Low values of hematocrit and erythrocyte count influenced the values of red blood cell (RBC) index, probably low feed intake affected these blood parameters. Plasma cortisol tended to decrease with increasing lysine dietary levels, suggesting that lowest levels of lysine influenced plasma cortisol values. Triglycerides, cholesterol and body lipids content showed a tendency to decrease with increasing levels of dietary lysine, suggesting a connexion with the lysine accumulation of body lipids. Essential amino acids requeriment estimated by amino acid content of whole-body tambaqui were similar to other species and lysine requeriment was estimated at 6.0 and 6.2% of dietary protein by the two methods. It was not possible to determine tambaqui lysine requirement by the dose-response method when fish were fed semipurified diet with levels from 0.9 to 2.4% dietary lysine.

Keyword: amino acid, physiology, nutrition, ideal protein.

## Introdução

A consolidação de pacotes tecnológicos para espécies de importância para a aquicultura, e na elaboração de rações eficientes, capazes de proporcionar ótimo desempenho zootécnico e econômico, é objeto de constantes pesquisas científicas (Espe *et al.*, 1999; NRC, 2011; Pastore *et al.*, 2011). Esses estudos têm proporcionado avanços significativos na aquicultura, sobretudo na produção de diferentes espécies, e, mais recentemente, na sustentabilidade do setor, muito embora sejam necessárias atender novas demandas (Teixeira *et al.*, 2006; Dairiki e Silva, 2011; Furuya, 2010).

Dietas eficientes, com alta qualidade nutricional contribuem, significativamente, para o crescimento e a eficiência alimentar em peixes, otimizando o aproveitamento da proteína, fortalecem o sistema imunológico, reduzindo a incidência de doenças e mortalidade, além de contribuir com a redução de custos de produção e menor aporte de efluentes no ambiente aquático (Lall, 2000; Teixeira *et al.*, 2006; Crab *et al.*, 2007; Bicudo e Cyrino, 2009; NRC, 2011; Dairiki *et al.*, 2013; Pohlenz e Gatlin III, 2014). Contudo, uma dieta de alto valor nutricional e ambientalmente adequada, depende, essencialmente, do completo conhecimento das exigências nutricionais da espécie cultivada (Portz *et al.*, 2000; Bicudo e Cyrino, 2009). Atualmente, a exigência nutricional, por aminoácidos, para peixes tem sido foco de várias pesquisas relacionadas ao balanceamento de rações, sendo desenvolvidas para diferentes espécies de interesse da aquicultura (Bodin *et al.*, 2007; Dairiki *et al.*, 2007; Peng Li *et al.*, 2009; Grisdale-Helland *et al.*, 2011; Helland e Grisdale-Helland, 2011; Dairiki *et al.*, 2013; Furuya *et al.*, 2013; Riche, 2014).

A ração é o insumo mais caro da produção aquícola, e está diretamente relacionada aos níveis e qualidade da proteína existente na sua formulação, sendo este o nutriente mais importante nas dietas para peixes (Bureau e Cho, 1999; Rotta, 2002; Furuya e Furuya, 2010; NRC, 2011). No entanto, os peixes não apresentam requisitos absolutos por proteína, mas sim por um adequado balanceamento ou equilíbrio de aminoácidos, sendo abordado, em muitos estudos, como a proteína ideal (Oliva-Teles, 2000; Wilson, 2002; Furuya *et al.*, 2011; NRC, 2011).

O conceito de proteína ideal é definido como a proteína, ou a combinação de proteínas na dieta, que não apresente excesso ou deficiência de aminoácidos e que atenda à exigência nutricional da espécie (Wilson, 2002; Green e Hardy, 2002; Pezzato *et al.*, 2004; Furuya *et al.*, 2005; Bomfim *et al.*, 2008), que atendam às necessidades de manutenção, crescimento,

reprodução e reposição de tecidos (Bureau e Cho, 1999; Green e Hardy, 2002; Furuya *et al.*, 2011).

Para determinar as exigências nutricionais de aminoácidos, alguns estudos demonstram uma relação direta entre a composição de aminoácidos nos tecidos corporais e a exigência nutricional do animal (Wilson, 2002; Portz e Cyrino, 2003; Montes-Girao e Fracalossi, 2006; Bicudo e Cyrino, 2009; Abimorad *et al.*, 2010). Partindo desse pressuposto, pode-se estimar a exigência de aminoácidos para uma espécie, utilizando o perfil corporal e um aminoácido como referência (Wilson, 2002; Furuya *et al.*, 2005; Bonfim *et al.*, 2008ab).

Em geral, um aminoácido referência é obtido através de experimento tipo dose-resposta, como é o caso da lisina, que está entre os aminoácidos mais estudados em peixes (Small e Soares, 2000; Dairiki *et al.*, 2007; Abimorad *et al.*, 2010; Fracalossi *et al.*, 2011; Salze *et al.*, 2011). A lisina é um aminoácido essencial aos peixes, limitante em muitos ingredientes utilizados nas dietas, não apresenta síntese endógena, sendo encontrado em maior concentração na carcaça e músculo dos peixes. É considerado um aminoácido exclusivamente orientado para deposição de proteína corporal e sua limitação na dieta pode acarretar perdas de crescimento e de ganho de peso, merecendo, portanto, atenção especial na formulação de rações para diferentes espécies (Boisen *et al.*, 2000; Hauler e Carter, 2001; Rollin *et al.*, 2003; Furuya *et al.*, 2006; Dairiki *et al.*, 2013; Ovie e Eze, 2013).

No Brasil, estudos recentes de exigência nutricional de aminoácidos em peixes têm utilizado a lisina como referência e tem focado suas investigações em algumas espécies, como a tilápia *Oreochromis niloticus*, que ocupa o primeiro lugar na produção nacional aquícola, o dourado *Salminus Brasiliensis*, o pacu *Piaractus mesopotamicus*, e o surubim *Pseudoplatystoma* spp (Dairiki *et al.*, 2007; Bicudo *et al.*, 2009; Abimorad *et al.*, 2010; Bomfim *et al.*, 2010; Prado, 2011; Furuya *et al.*, 2012; Dairiki *et al.*, 2013; Ovie e Eze, 2013). Nesse contexto, para o tambaqui *Colossoma macropomum*, a segunda mais cultivada no Brasil e a primeira dentre as espécies nativas (44,56% em 2011) (MPA, 2013), são poucos os estudos sobre a exigência nutricional por aminoácidos. Dessa forma, o presente estudo avaliou a exigência nutricional de lisina para o tambaqui e a estimativa da exigência dos demais aminoácidos essenciais, com base no conceito de proteína ideal.

## **Material e Métodos**

### ***Peixes e condições experimentais***

O experimento foi conduzido nas instalações do Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura – LAFAP, da Coordenação de Tecnologia da Inovação - COTI do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais – CEUA/INPA, sob o número 010/2013. Juvenis de tambaqui foram adquiridos de piscicultura comercial e aclimatados às condições experimentais por duas semanas até o início do experimento. Quatrocentos e cinquenta juvenis de tambaqui, pesados ( $7,7 \pm 0,06$  g) e agrupados em lotes de 25 peixes, foram acondicionados em tanques circulares de PVC de 500 litros, com sistema de renovação parcial de água e aeração forçada por soprador, compondo seis tratamentos e três repetições. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado e teve duração de 90 dias. Os peixes foram alimentados em três refeições diárias (9:00, 13:00 e 17:00 h), até a saciedade aparente, durante todo o período experimental.

### ***Dietas experimentais***

Seis dietas experimentais semipurificadas e isoproteicas (30% proteína bruta -PB) foram formuladas contendo níveis crescentes de lisina em intervalos de 0,3 (L- lisina HCL 0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1 e 2,4% da dieta), usando caseína, gelatina e aminoácidos cristalinos como ingredientes proteicos (Tabelas 1 e 2). O perfil de aminoácidos das dietas simulou o perfil de aminoácidos corporal do tambaqui, exceto pela lisina. Para manter as dietas isonitrogenadas, a adição de L-Lisina HCL foi substituída na mesma proporção (1:1) pela mistura de ácido aspártico e ácido glutâmico de acordo com Bicudo *et al.*, (2009) (Tabela 2). A energia bruta das dietas (kcal/100g) foi obtida por intermédio de bomba calorimétrica. Os ingredientes foram misturados, homogeneizados e umedecidos com água e solução de hidróxido de sódio (NaOH 6N) na proporção (1:1,5) para neutralizar a acidez das rações. Posteriormente, a mistura foi peletizada em picador de carne (modelo CAF n° 22) com matriz de diâmetro de 3 mm e seca em estufa ventilada (45 °C) por 24 h. A ração foi moída e homogeneizada em peneiras com granulometria de 2 a 2,5 mm, armazenadas em freezer (-20 °C) para posterior uso experimental.

**Tabela 1.** Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes	Dietas experimentais (%)					
	1	2	3	4	5	6
Caseína	11,60	11,60	11,60	11,60	11,60	11,60
Gelatina	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
Premix de Aminoácidos <sup>1</sup>	13,72	13,72	13,72	13,72	13,72	13,72
Dextrina	31,61	31,61	31,61	31,61	31,61	31,61
Celulose Microfina	15,67	15,67	15,67	15,67	15,67	15,67
Carboximetilcelulose	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de canola	6,50	6,50	6,50	6,50	6,50	6,50
Fosfato Bicálcico	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Suplemento Mineral-Vitamínico <sup>3</sup>	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
DL- $\alpha$ -tocoferol	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-Lisina HCL	0,00	0,45	0,90	1,35	1,80	2,25
Asp:Glu (1:1)	6,38	5,93	5,48	5,03	4,58	4,13
Composição proximal (% da matéria seca)						
Matéria seca	92,05	91,75	91,75	90,80	90,60	91,95
Proteína bruta	30,4	30,7	31,4	31,1	30,5	31,1
Extrato etéreo	4,70	3,55	3,85	4,2	4,65	4,05
Matéria Mineral	6,70	6,35	7,10	8,10	8,30	7,30
Energia Bruta (kcal/100g)	398,7	406,1	405,4	403,9	406,3	410,0

<sup>1</sup> (%) de aminoácidos: arg-1,66; hist- 0,53; isol- 0,59; leu-1,22; met-0,50; fen-0,62; tre-0,93; tri-0,24; val-0,69; tir-0,32; ser-0,66; ala-1,65; gli-2,06; pro-0,43; cis-0,27

<sup>3</sup> Enriquecimento de microminerais e vitaminas em mg/kg de ração: manganês (26); zinco (140); ferro (100); cobre (14); cobalto (0,2); iodo (0,6); selênio (0,6), Vit. A (10.000 UI); Vit D3 (4.000 UI); Vit E (100); Vit K (5); Vit B1 (25); Vit B2 (25); Vit B6 (25); Vit B12 (30); niacina (100); ácido fólico (5); ácido pantotênico (50); biotina (0,8); colina (2000); inositol (50); Vit C (350).

### **Composição nos tecidos corporais e nas dietas**

Os perfis de aminoácidos corporais do tambaqui e das dietas foram obtidos através de análise de cromatografia líquida de alta resolução, realizada pelo Laboratório “CBO Análises”, Campinas-SP (Tabelas 2 e 3). O perfil corporal foi obtido do corpo inteiro, sem vísceras, de 5 exemplares de tambaqui ( $248 \pm 26,67$  g) oriundos da estação experimental do INPA, sacrificados, moídos, liofilizados e, posteriormente, encaminhados para análise. A composição química das dietas e dos peixes foi determinada a partir da análise bromatológica, de acordo com a AOAC (2000), analisada no Laboratório de Nutrição de Peixes do INPA. Para composição corporal foram sacrificados 12 juvenis da mesma população no início do experimento e quinze exemplares de cada tratamento ao final, totalizando 90 indivíduos.

O teor de umidade (UM) foi determinado pelo método de Weende/Alemanha, com a pré-secagem, por meio da liofilização das amostras, e a determinação da matéria seca obtida a

partir da diferença do peso da amostra após secagem na estufa a 105 °C, com umidade, temperatura e peso constante. A proteína bruta (PB) foi determinada pelo método de Kjeldahl, pelo processo de digestão da amostra (Bloco digestor/Modelo TE-040-G40/25), destilação (Destilador/Modelo NT 415) e titulação, determinando o nitrogênio total, convertido pelo fator de conversão 6,25. O Extrato etéreo (EE) foi determinado por meio da extração (Extrator SOXLETH/Modelo TE 044-8/25 micro) com solvente éter de petróleo. As Cinzas (CZ) foram obtidas por meio da incineração da amostra (2 g) em mufla à temperatura de 550 °C durante 3 horas. A Energia Bruta (EB - kcal/100g), estimada com base nos valores de energia para a proteína (5,64 kcal/g), extrato etéreo (9,44 kcal/g) e carboidratos (4,11 kcal/g) (NRC, 1993). A Fibra bruta (FB), obtida por meio do resíduo da digestão ácido-básica, de acordo com o método de Weende (Estação Experimental de Agricultura de Weende/Alemanha), e o teor de Extrato não-nitrogenado (ENN), pelo cálculo da diferença entre a totalidade do peso de cada amostra, de acordo com o cálculo  $ENN \% = 100 - (\%UM + \%PB + \%EE + \%FB + \%CZ)$ .

**Tabela 2.** Composição de aminoácidos dos ingredientes e mistura de aminoácidos (% MS).

<i>AAE</i>	Caseína (11,60%)	Gelatina (2,30%)	Mistura de AA (%)	Total	Perfil corporal Tambaqui (30%)
Arg	0,37	0,19	1,64	2,21	2,21
His	0,27	0,02	0,53	0,81	0,81
Ile	0,46	0,03	0,59	1,08	1,08
Leu	0,95	0,07	1,21	2,23	2,23
Met	0,29	0,02	0,50	0,80	0,80
Fen	0,49	0,04	0,62	1,16	1,16
Tre	0,44	0,04	0,93	1,41	1,41
Tri	0,11	0,00	0,24	0,35	0,35
Val	0,66	0,05	0,69	1,40	1,40
<i>AAANE</i>					
Cis	0,18	0,02	0,27	0,47	0,47
Tir	0,57	0,01	0,32	0,90	0,90
Ser	0,57	0,08	0,65	1,30	1,30
Gli	0,20	0,56	2,05	2,80	2,80
Ala	0,32	0,21	1,65	2,17	2,17
Pro	1,04	0,33	0,43	1,79	1,79

**Tabela 3.** Composição de aminoácidos essenciais e não essenciais das dietas experimentais.

	<b>% da matéria seca</b>					
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	Dieta 6
<b>AAE</b>						
Arg	1,5	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
His	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Isso	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Leu	2,2	2,2	2,2	2,3	2,2	2,2
Lis	1,0	1,2	1,5	1,9	2,0	2,5
Met	0,7	0,7	0,8	0,7	0,6	0,8
Fen	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Tre	1,4	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4
Tri	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Val	1,5	1,4	1,4	1,4	1,5	1,4
<b>AAANE</b>						
Cis	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5
Tir	0,8	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9
Ac. Asp	4,3	4,3	4,4	3,8	3,8	3,6
Ser	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Ac. Glu	5,0	5,0	4,7	4,8	4,6	4,4
Gli	2,8	2,8	3	2,9	2,8	2,9
Ala	2,2	2,1	2,2	2,3	2,1	2,2
Pro	1,9	1,9	2,1	2,1	2,0	2,1

**Parâmetros zootécnicos**

Para avaliar os efeitos das dietas sobre o desempenho dos peixes, foram realizadas três biometrias (inicial, mensal e final) que possibilitaram calcular os seguintes índices

zootécnicos: Ganho de peso médio (GP; g) = Peso médio final (g) – Peso médio inicial (g);

Taxa de Eficiência Proteica: (TEP; %) = [Ganho de peso (g) / Proteína bruta ingerida

(g)]\*100; Consumo médio de ração individual: (CMRI) = Quantidade de ração fornecida (kg)

/ Número de peixes; Conversão Alimentar Aparente: (CAA) = CMRI / [(Peso médio final(g)

– Peso médio inicial(g)]; Taxa de Crescimento Específico: (TCE%) = 100 x (ln peso médio

final – ln peso médio inicial) / tempo; Taxa de Sobrevivência: (TS%) = 100% x (número final de peixes/número inicial de peixes); Índice de Eficiência Alimentar (IEA) = GP/CT (CT -

consumo total ração); Relação Hepatossomática: RHS (%) = [(peso do fígado/peso da

carcaça) x 100]; Relação Viscero-somática: RVS (%) = [(peso da gordura visceral/peso da

carcaça) x 100]; Valor Produtivo da Proteína (VPP): VPP = 100x(PBCf-Pf)/(PBCi-Pi)/PBI.

### ***Concentração de aminoácidos essenciais***

Os requisitos dos outros aminoácidos essenciais foram determinados com base no perfil corporal de aminoácidos do tambaqui, utilizando a equação proposta por Meyer e Fracalossi (2005), adaptada por Abimorad e Castellani (2011), onde: Exigência em AAE = [(conteúdo de um AAE na carcaça ou músculo do peixe) × (média da somatória das exigências entre bagre do canal, tilápia do Nilo, carpa comum, jundiá e pacu)] / (somatória do conteúdo dos AAE na carcaça e músculo do peixe). Outro método proposto por Arai (1981) foi usado para comparar os valores dos aminoácidos encontrados no primeiro método, onde: Exigência AA = relação A/E do aminoácido essencial × (exigência em lisina (%)) ÷ relação A/E da lisina no músculo). A relação A/E foi calculada seguindo a seguinte proposta: Relação A/E = [(aminoácido essencial/total de aminoácidos essenciais+cistina+tirosina) x 1000].

### ***Monitoramento da qualidade de água***

Para verificar as condições experimentais, foram monitoradas a qualidade da água dos tanques por meio de medição diária das concentrações de oxigênio dissolvido (mg/L), temperatura (°C), pH, condutividade elétrica (CE -  $\mu$ .S/cm), determinadas no período da manhã, por meio de um oxímetro digital (YSI modelo 85) e pH-metro digital (YSI modelo 60). Semanalmente, foram medidas as concentrações de amônia total ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) e nitrito ( $\text{NO}_2$ ), de acordo com Verdouw (1978) e Boyd e Tucker (1992) respectivamente, utilizando espectrofotômetro UV/visível (BIOPLUS/modelo 2000).

### ***Parâmetros fisiológicos***

Foram coletadas amostras de sangue por punção da veia caudal de 5 peixes de cada unidade experimental, ao final de 90 dias, os quais foram previamente anestesiados com 0,25 mg/L de eugenol (Roubach *et al.*, 2005). Foram determinados os seguintes parâmetros hematológicos: Hematócrito (Ht) pelo método de microhematócrito; concentração de hemoglobina ([Hb]) pelo método da cianometahemoglobina, com comprimento de onda de 540 nm (BIOPLUS /modelo 2000); contagem de eritrócitos (RBC) utilizando a solução Natt e Herrick (1952) e determinada em câmara de Neubauer. A partir dos valores de RBC, Ht e [Hb], de cada indivíduo, foram calculados os índices hematimétricos Volume corpuscular médio (VCM) e Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), com a seguinte fórmula:  $\text{VCM (fL)} = \text{Ht} * 10 / \text{RBC}$  e  $\text{CHCM (\%)} = [\text{g/dL}] * 100 / \text{Ht}$  (Wintrobe, 1934).



A partir do plasma sanguíneo, foram determinados: glicose, pelo método enzimático-colorimétrico (glicose oxidase), colesterol e triglicerídeos pelo sistema colorimétrico, utilizando um kit comercial e leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 490-510 nm respectivamente. Proteínas totais foram obtidas pelo método do biureto modificado, com a utilização de kit comercial e leitura da absorbância em espectrofotômetro com comprimento de onda de 550 nm. Cortisol foi obtido pela técnica de imunoenzimático por competição com absorbância medida em leitor microplacas (kit Direct Elisa Cortisol – USA Diagnostica®). As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura - LAFAP/INPA.

### *Análise estatística*

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, composto por 5 tratamentos (0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1; 2,4% de lisina na dieta) e 3 repetições (considerou-se tanque com 25 peixes como uma unidade experimental). Para garantir a homogeneidade no início do experimento, os peixes foram amostrados em peso e submetidos ao teste de Cochran, com nível de 5% de significância. Os dados de cada tratamento, o desempenho zootécnico e os parâmetros fisiológicos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), utilizando-se o pacote estatístico Statistical Analysis System - SAS (2008). Quando verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), o teste de Tukey para comparação entre as médias aritméticas foi aplicado, adotando-se o nível de significância de 5%.

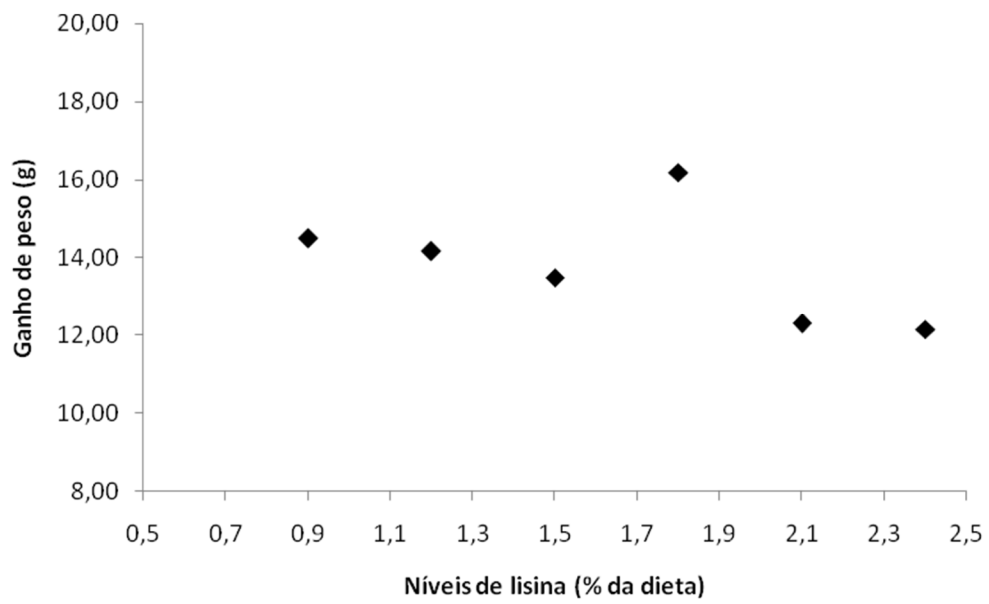
## **Resultados**

Os valores médios das variáveis físicas e químicas da água não apresentaram diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

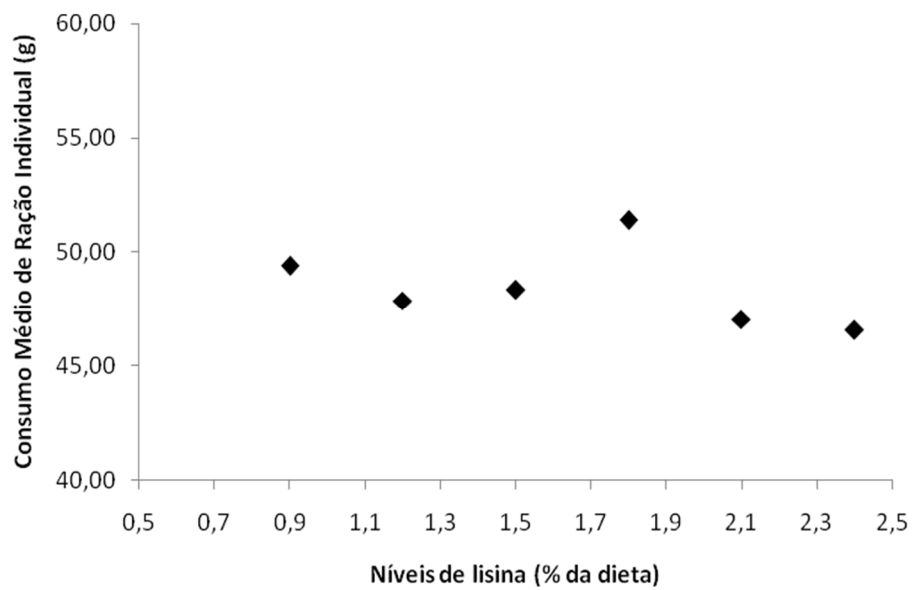
**Tabela 4.** Variáveis físicas e químicas da água dos tratamentos: pH, O<sub>2</sub> - Oxigênio dissolvido, CE - Condutividade Elétrica, AIT - Alcalinidade Total, DT - Dureza Total, CO<sub>2</sub> - Concentração de CO<sub>2</sub>, AT - Amônia Total e NT - Nitrito Total.

Variáveis	Níveis de lisina (%)						CV (%)	Anova
	0,90	1,20	1,50	1,80	2,10	2,40		
pH	6,18	6,18	6,19	6,20	6,11	6,17	0,68	0,2247
O <sub>2</sub> dissolvido (mg/L)	6,86	6,83	6,85	6,83	6,81	6,84	0,62	>0,050
Temperatura (°C)	27,56	27,54	27,49	27,50	27,62	27,53	0,19	0,0889
CE (μS cm <sup>-1</sup> )	23,21	22,96	22,91	23,03	22,72	22,78	0,70	0,0342
AlT (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	4,82	4,80	4,95	4,83	4,74	4,75	3,16	>0,050
DT (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	2,23	2,22	2,30	2,35	2,19	2,33	3,88	0,2408
CO <sub>2</sub> (mg/L)	13,26	12,31	12,37	12,12	13,03	12,44	5,59	0,3579
AT(mg/L NH <sub>3</sub> -NH <sub>4</sub> )	0,38	0,39	0,48	0,39	0,36	0,38	11,87	0,1265
NT (mg/L NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-

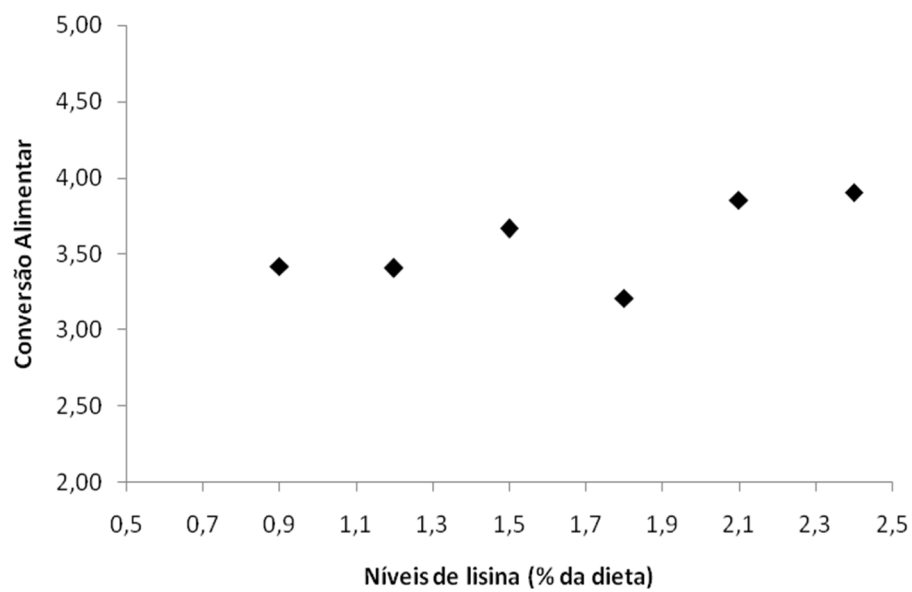
O índice de sobrevivência durante o período experimental foi de 100%. Os resultados dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui, alimentados com dietas com níveis crescentes de lisina, estão apresentados na tabela 5. Com uso da dieta experimental, os peixes apresentaram baixo consumo alimentar e não houve efeito significativo ( $p>0,05$ ) dos tratamentos sobre os parâmetros de desempenho zootécnicos avaliados. Mesmo não apresentando diferença entre os tratamentos, os peixes do tratamento com 1,8% de lisina na dieta apresentaram os maiores valores e comparação aos demais tratamentos para os parâmetros de ganho de peso, taxa de eficiência proteica, taxa de crescimento específico, taxa de retenção proteica, índice de eficiência alimentar e consumo médio de ração, além de apresentar menor valor de conversão alimentar (Figura 3). Os peixes alimentados com dietas contendo 2,1 e 2,4% de lisina apresentaram os menores valores de ganho de peso e consumo médio de ração entre os níveis testados (Figura 1). O consumo de ração influenciou o ganho de peso observado para todos os tratamentos (Figura 1, 2 e 3).



**Figura 1.** Relação dos níveis de lisina (%) na dieta e o ganho de peso (g) de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*.



**Figura 2.** Relação dos níveis de lisina na dieta e o consumo médio individual de ração de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*.



**Figura 3.** Relação dos níveis de lisina (%) dieta e a conversão alimentar de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*.

**Tabela 5.** Parâmetros zootécnicos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* submetidos à dieta com diferentes níveis de lisina (%).

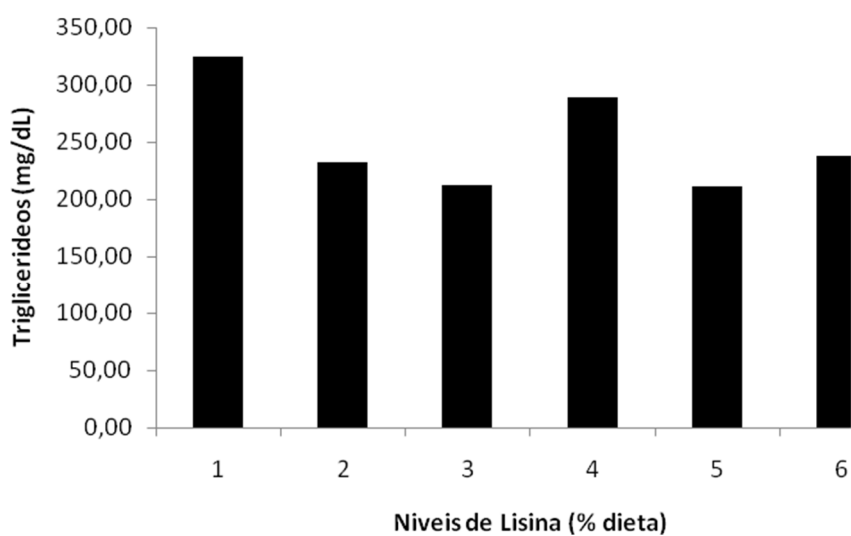
Parâmetros	-----Níveis de lisina (% dieta)-----						CV(%)	Valor de P
	0,90	1,20	1,50	1,80	2,10	2,40		
Peso Inicial (g)	7,7±0,06	7,7±0,06	7,8±0,06	7,7±0,06	7,7±0,06	7,7±0,06	0,75	>0,050
Peso Final (g)	22,2±1,30	21,9±2,01	21,3±2,97	23,9±2,25	20,0±1,60	19,9±2,40	10,02	0,2723
Ganho de peso médio (g)	14,5±1,36	14,2±2,05	13,5±2,96	16,2±2,31	12,3±1,66	12,2±2,35	15,75	0,2781
TEP (%) <sup>1</sup>	0,87±0,06	0,87±0,09	0,82±0,14	0,93±0,12	0,77±0,07	0,77±0,12	11,97	0,3743
CMRI(g) <sup>2</sup>	52,0±1,43	50,7±2,54	51,2±3,86	54,2±1,09	49,7±2,21	48,9±1,81	4,76	0,1985
ICA <sup>3</sup>	0,97±0,02	0,95±0,03	0,98±0,07	0,95±0,05	1,0±0,01	0,99±0,05	4,30	>0,050
Conversão (CAA)	3,6±0,26	3,6±0,33	3,9±0,68	3,4±0,45	4,1±0,39	4,1±0,63	12,59	0,3982
Taxa de Sobrevivência (%)	100	100	100	100	100	100	-	-
TCE (%/dia) <sup>4</sup>	1,2±0,07	1,1±0,11	1,1±0,15	1,2±0,12	1,0±0,10	1,0±0,13	10,08	0,2926
IEA <sup>5</sup>	27,8±1,91	27,9±2,73	26,2±4,38	29,8±3,70	24,7±2,28	24,7±3,88	11,99	0,3743
VPP (%) <sup>6</sup>	62,62±2,73	63,30±12,17	59,80±8,59	68,63±19,89	63,25±10,44	70,56±5,28	15,93	>0,050
RHS (%) <sup>7</sup>	1,7±0,10 a	1,5±0,12 ab	1,3±0,13 b	1,2±0,15 b	1,5±0,08 ab	1,3±0,20 ab	15,26	0,1654
RVS (%) <sup>8</sup>	0,14±0,02	0,12±0,01	0,07±0,04	0,13±0,06	0,050±0,01	0,10±0,03	33,83	0,1048

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

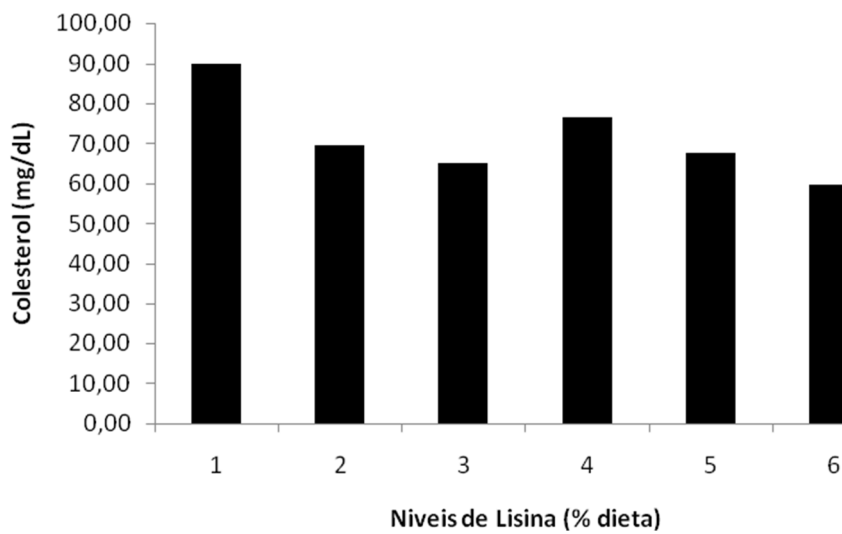
Valores apresentados em média ± desvio padrão

<sup>1</sup> Taxa de eficiência proteica; <sup>2</sup> Consumo Médio de ração Individual; <sup>3</sup> Índice de consumo alimentar; <sup>4</sup> Taxa de crescimento específico; <sup>5</sup> Índice de eficiência alimentar; <sup>6</sup> Valor produtivo da proteína; <sup>7</sup> Relação hepatossomática; <sup>8</sup> Relação viscerossomática.

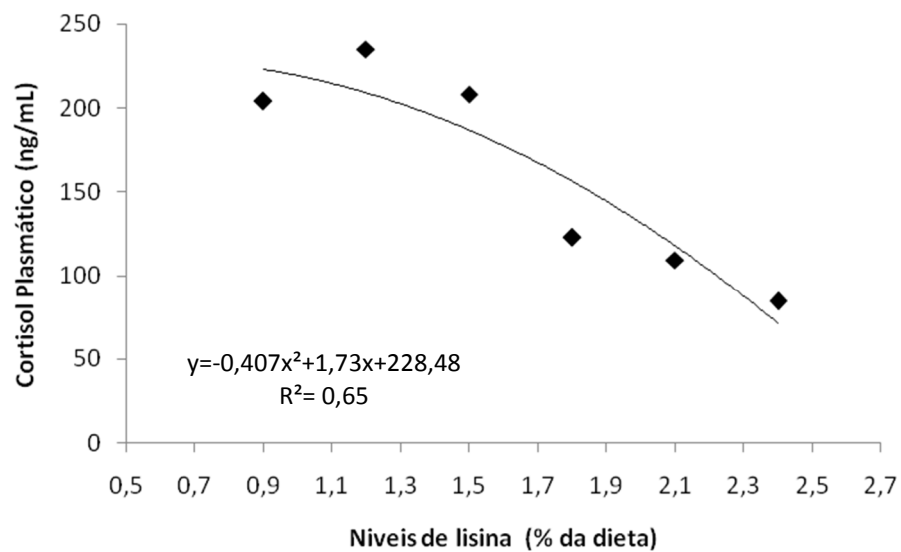
Os parâmetros fisiológicos avaliados estão representados na Tabela 6 e 7. Não houve efeito ( $p>0,05$ ) dos tratamentos sobre os valores de proteína plasmática, glicose e VCM. Mesmo sem efeito significativo, o índice glicêmico foi superior (117,6 mg/dL) para a dieta com 1,8% de lisina. Os valores de RBC, hematócrito e [Hb], quando submetido a análise de regressão, apresentaram comportamento cúbico. Houve efeito ( $p<0,05$ ) sobre os parâmetros plasmáticos colesterol e triglicerídeos. Os valores de colesterol e triglicerídeos apresentaram tendência a reduzir com aumento do nível de lisina. Os peixes alimentados com dieta com 0,9% de lisina apresentaram os maiores valores de colesterol e triglicerídeos, além de apresentarem maior teor de extrato etéreo na composição corporal (Tabela 7 e 8). Os índices hematimétricos HCM e CHCM apresentaram os maiores valores para a dieta contendo 2,4% de lisina e o CHCM apresentou comportamento quadrático. A dieta com 1,2% de lisina apresentou o maior valor de cortisol plasmático entre os tratamentos, apresentando tendência a reduzir com o aumento do nível de lisina na dieta (Figura 4).



**Figura 4.** Relação dos níveis de lisina na dieta e triglicerídeos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*.



**Figura 5.** Relação dos níveis de lisina na dieta e colesterol de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*.



**Figura 6.** Relação dos níveis de lisina na dieta e cortisol plasmático de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*.

**Tabela 6.** Parâmetros hematológicos: hematócrito (Ht), número de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina ([Hb]), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, submetidos a dietas com diferentes níveis de lisina.

Níveis de lisina (%)	Ht (%)	RBC (x10 <sup>6</sup> )	[Hb] (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)
<b>0,90</b>	21,90±0,53 ab	1,49±0,19 a	10,15±0,81 ab	148,18±20,52 a	46,31±3,06 b	68,49±9,58 b
<b>1,20</b>	21,17±1,04 ab	1,29±0,09 a	9,36±0,82 b	163,61±6,58 a	44,18±1,77 b	72,30±4,51 ab
<b>1,50</b>	22,30±1,40 ab	1,28±0,14 a	10,50±0,16 ab	175,11±15,72 a	47,22±2,74 ab	82,79±10,48 ab
<b>1,80</b>	23,97±1,56 a	1,51±0,11 a	11,24±0,84 a	159,09±2,69 a	46,83±1,21 b	74,56±0,88 ab
<b>2,10</b>	23,80±0,26 ab	1,47±0,08 a	11,34±0,38 a	162,65±10,03 a	47,64±1,17 ab	77,57±6,59 ab
<b>2,40</b>	20,87±1,14 b	1,19±0,08 a	10,94±0,68 ab	175,83±18,49 a	52,43±0,72 a	92,26±10,88 a
<b>CV%</b>	4,88	9,02	6,29	8,48	4,16	10,27
<b>Valor de p</b>	0,0179	0,0353	0,0269	0,2156	0,0063	0,0389

Valores apresentados em média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.



**Tabela 7.** Parâmetros bioquímicos plasmáticos: proteína total (PT), triglicerídeos (TR), colesterol total (CT), glicose plasmática (GP) e cortisol plasmático de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, submetidos a dietas com diferentes níveis de lisina.

Níveis de lisina (%)	PT(mg/dL)	TR (mg/dL)	CT (mg/dL)	GP (mg/dL)	Cortisol (ng/ml)
<b>0,90</b>	2,09±0,06	324,36±27,97	89,79±4,39 a	89,83±13,46	203,76±6,20 ab
<b>1,20</b>	1,97±0,05	232,71±38,45	69,49±6,92 ab	104,00±16,89	234,97±1,05 a
<b>1,50</b>	1,91±0,09	211,95±26,92	65,01±7,32 b	83,47±12,16	208,30±5,36 ab
<b>1,80</b>	2,08±0,19	288,62±66,24	76,38±13,79 ab	117,60±13,01	122,74±1,77 bc
<b>2,10</b>	2,11±0,09	211,21±29,83	67,75±4,49 ab	99,33±10,90	109,47±2,83 bc
<b>2,40</b>	1,88±0,10	237,89±48,05	59,64±9,90 b	82,43±12,89	84,31±2,67 c
<b>CV%</b>	5,32	16,71	11,85	13,88	23,65
<b>Valor de p</b>	0,0786	0,0336	0,0132	0,0502	0,0015

Valores apresentados em média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Os valores de composição proximal da carcaça do tambaqui estão apresentados na tabela 8. Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para os valores de proteína e extrato etéreo. Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) sobre o teor de umidade.

**Tabela 8.** Composição proximal da carcaça inteira de juvenis de tambaqui submetidos a níveis crescentes de lisina na dieta.

Níveis de lisina (% dieta)	Umidade	Proteína	Lipídios
<b>0,90</b>	5,07±0,76	61,73±3,93 a	22,00±2,40 a
<b>1,20</b>	6,90±0,20	69,17±0,71 b	18,57±0,64 ab
<b>1,50</b>	10,10±3,61	69,60±1,30 b	16,33±0,64 bc
<b>1,80</b>	7,30±2,46	68,13±0,95 b	18,93±1,23 ab
<b>2,10</b>	7,23±3,31	70,47±2,06 b	16,83±1,06 bc
<b>2,40</b>	5,57±2,85	68,27±1,70 b	16,87±1,69 bc
<b>Anova <math>p &lt; 0,05</math></b>	0,2788	0,0030	0,0035

Valores apresentados em média ± desvio padrão.

Nd – não determinado.

## Discussão

O monitoramento de parâmetros físicos e químicos de qualidade da água é importante ferramenta para manutenção das condições experimentais. Variações em parâmetros, tais como oxigênio, pH e temperatura podem ocasionar alterações metabólicas e fisiológicas, aumentar a incidência de doenças e mortalidade, além de prejudicar desempenho dos animais (Saint-Paul, 1984; Almeida-Val *et al.*, 1993; Affonso *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2004; Marcon *et al.*, 2004; Aride *et al.*, 2007). Alterações fisiológicas em peixes, ocasionada por mudanças na qualidade de água, podem variar em função do tamanho, da idade e da espécie (Tavares-Dias e Moraes, 2004). No presente estudo, não houve diferença significativa nos valores das variáveis físicas e químicas da água avaliados, sendo estes considerados satisfatórios para a espécie (Kubitza, 2003; Aride *et al.*, 2007).

A sobrevivência de 100% dos peixes, além de não ter sido observado quaisquer sinais de deficiência externa e erosão das nadadeiras, corrobora com outros estudos utilizando lisina na dieta (Dairiki *et al.*, 2007; Abimorad *et al.*, 2010; Bomfim *et al.*, 2010; Dairiki *et al.*, 2013;

Furuya *et al.*, 2013; Ovie e Eze, 2013). De acordo com Keembiyehetty e Gatlin (1992), a lisina ajuda na produção de anticorpos e previne contra erosão das nadadeiras.

Experimentos dose-resposta, em geral, utilizam níveis de um determinado nutriente, em intervalos suficientes para a máxima resposta (Fracalossi *et al.*, 2011). Geralmente, os níveis mais baixos de um determinado nutriente na dieta tendem a apresentar os piores resultados de desempenho, melhorando à medida que ocorre o aumento do nutriente testado. Porém, no presente estudo, com exceção do tratamento 4, o tambaqui apresentou tendência a reduzir ganho de peso à medida que ocorreu o aumento de lisina na dieta (Figura 1) e o principal fator que pode explicar essa redução é o baixo consumo de ração (Figura 5) que teve como causa provável a baixa palatabilidade da dieta. Dessa forma o aumento gradual de lisina na dieta não afetou o desempenho zootécnico do tambaqui que permitisse estimar a exigência de lisina pelo método de regressão.

Em geral, o tambaqui apresenta excelentes características de cultivo, tais como fácil aceitação de ração, excelente rusticidade ao confinamento, crescimento rápido e boa conversão alimentar quando alimentados com dietas práticas em sistemas convencionais de cultivo (Melo *et al.*, 2001; Izel e Melo, 2004; Araújo-Lima e Gomes, 2005; Gomes *et al.*, 2010; Rodrigues, 2014). Neste estudo, os juvenis de tambaqui, alimentados com dietas semipurificadas, apresentaram consumo reduzido, baixo desempenho em ganho de peso e elevados valores de conversão alimentar. Entretanto, não observamos na literatura resultados obtidos com a utilização desse tipo de dieta para esta espécie como base de comparação dos resultados obtidos.

Estudos de exigência de aminoácidos (AA) em peixes, geralmente, são realizados por meio de experimentos dose-resposta. Porém, nestes estudos, há variações no tipo de dieta, desenho experimental e métodos aplicados para obtenção da exigência nutricional (Encarnação *et al.*, 2004; Bureau e Encarnação, 2006; Furuya *et al.*, 2006; Abimorad *et al.*, 2010; Bomfim *et al.*, 2010; Grisdale-Helland *et al.*, 2011; Dairiki *et al.*, 2013; Ovie e Eze, 2013). De acordo com Riche (2014), estudos sobre exigência por aminoácidos para peixes devem atentar, primeiramente, a uma dieta teste que apresente o mesmo desempenho observado em dietas práticas para a espécie, e que sirva como padrão para a determinação de AA. Esse autor, desenvolvendo uma dieta teste semipurificada para a determinação de exigência por aminoácidos para *Trachinotus carolinus*, obteve bons resultados usando 200 g/kg de caseína na dieta, suplementada com aminoácidos livres, para compor o perfil corporal da espécie. Entretanto, o uso de dietas purificadas e semipurificadas proporcionam, para

algumas espécies, um menor ganho em peso, principalmente relacionados ao uso de aminoácidos livres e a baixa palatabilidade dos ingredientes utilizados nas dietas (Bureau e Encarnação 2006; NRC, 2011).

O pacu, uma espécie onívora com características morfométricas e ecológicas similares ao tambaqui, quando alimentado com dieta semipurificada apresentou taxa de crescimento específico de 2,54 a 2,81% (Bicudo *et al.*, 2009), superior ao observado no presente estudo. Por outro lado, o onívoro jundiá alimentado com dieta purificada com 18% de aminoácidos livres apresentou baixo ganho de peso e alta conversão alimentar (Montes-Girao e Fracalossi, 2006) semelhantes aos resultados obtidos neste estudo.

Acredita-se que a adição de aminoácidos na dieta tenha colaborado com o baixo ganho de peso e a taxa de crescimento específico. A utilização de aminoácidos cristalinos possui limitações e uma delas está relacionada com a rápida absorção dos aminoácidos pelo sistema digestório dos peixes, uma vez que são observadas altas concentrações sanguíneas logo após a alimentação, sendo que o excesso é prontamente eliminado. No presente estudo, o uso de aminoácidos livres correspondeu a 18% da dieta, estando dentro do recomendado pelo NRC (2011), que é de, no máximo, 20% em dietas para peixes. Porém, alguns estudos indicam que o uso de aminoácidos livres como fonte de proteína na dieta não promove o mesmo desempenho obtido com proteínas intactas (Cho *et al.*, 1992; Wilson, 2002; Bureau e Encarnação, 2006), corroborando com os resultados apresentados para o tambaqui. Alguns fatores podem estar relacionados ao baixo desempenho apresentados para os juvenis do tambaqui, tais como, uso de aminoácidos livres na dieta, baixa palatabilidade dos ingredientes purificados, pH da dieta, frequência alimentar e antagonismo entre a lisina e a arginina (Montes-Girao e Fracalossi, 2006; Bicudo *et al.*, 2009; Furuya *et al.*, 2012; Dairiki *et al.*, 2013; Ovie e Eze, 2013).

Alguns autores sugerem que o desbalanceamento da relação arginina:lisina pode afetar o desempenho animal (Bomfim *et al.*, 2010; Furuya *et al.*, 2012; Dairiki *et al.*, 2013). O mesmo pode ser observado no estudo de Furuya *et al.* (2013) que utilizaram uma relação 1,43:1 de arginina:lisina em dieta para a tilápia (*O. niloticus*) e observaram que essa relação influenciou a exigência de lisina em comparação a estudos anteriores realizados com a mesma espécie, sugerindo que essa relação pode afetar a necessidade nutricional do animal. No presente estudo, a maior relação arginina:lisina foi de 1,45:1 e a menor de 0,65:1, porém, os melhores valores dos parâmetros zootécnicos para o tambaqui foram observados com a relação de 0,87:1, próximos aos valores (0,98:1 e 0,91:1) observados por Furuya *et al.* (2006)

para o melhor ganho de peso com a tilápia. Na literatura, essa relação arginina:lisina apresenta grande variação em diferentes estudos para algumas espécies, com diferentes resultados de exigência nutricional (Montes-Girao e Fracalossi, 2006; Bicudo *et al.*, 2009; Abimorad *et al.*, 2010; Bomfim *et al.*, 2010; Gridale-Helland *et al.*, 2011; Ovie e Eze, 2013). A deficiência ou excesso em qualquer um dos aminoácidos essenciais pode limitar a síntese de proteína e, conseqüentemente, reduzir o ganho de peso, podendo causar um desequilíbrio na relação entre os mesmos, causando sintomas metabólicos de toxicidade, antagonismo ou desbalanceamento, além de afetar a taxa de ingestão, o transporte de nutrientes e o catabolismo (Cowey, 1994; Portz e Furuya 2011).

A taxa de crescimento específico (TCE) é um bom indicador de aproveitamento da dieta e expressa o incremento de peso corporal. A TCE encontrada para o tambaqui apresentou valores médios de 1,13% ao dia. Valores similares foram encontrados por Pereira-Junior *et al.* (2013) avaliando a substituição de milho por farinha de mandioca para o tambaqui com valores de 1,5 a 2% ao dia e por Dairiki *et al.* (2013b) avaliando diferentes níveis de inclusão de feijão-caupi em dietas práticas para juvenis de tambaqui, nos quais foram observadas taxas de 1,0 a 1,2% ao dia. Ferreira *et al.* (1991), estudando o desempenho do tambaqui em viveiros com estufa e viveiros convencionais, na fase de recria, obtiveram índices de crescimento específico de 1,95% ao dia com uso de dietas com 27,5% PB. Em geral, nesta fase de desenvolvimento, o tambaqui apresenta crescimento acentuado com o uso de rações práticas e em sistemas de cultivo como viveiros e tanques-rede. Gomes *et al.* (2004) e Brandão *et al.* (2004) obtiveram taxas de crescimento específico, cerca de 9,27% ao dia, para tambaquis cultivados em tanques-redes com diferentes densidades de estocagem. Gomes *et al.* (2006), avaliando o cultivo de tambaqui em tanques-rede com diferentes densidades, obtiveram desempenho superior no segundo mês, próximo a 3% ao dia, reduzindo no decorrer do tempo de cultivo. Desempenhos satisfatórios também foram descritos por outros autores com diferentes objetivos, dietas e sistemas de cultivo (Vidal-Junior *et al.*, 1998; Chagas e Val, 2003; Izel e Melo, 2004; Chagas *et al.*, 2006; Cunha e Santos-Jr, 2009; Mendonça *et al.*, 2009). Entretanto, Ituassu *et al.* (2004), avaliando o desempenho do tambaqui, sob privação alimentar com ração comercial de 36% de proteína bruta e indivíduos com peso médio de 76 g, encontraram taxa de crescimento mais baixa, 0,90% e 0,97% ao dia, com indivíduos sem restrição e com 14 dias de restrição alimentar respectivamente.

No presente estudo, as dietas com níveis crescentes de lisina não influenciaram os parâmetros zootécnicos avaliados, que permitisse estimar a exigência de lisina, por intermédio

da curva dose-resposta. Porém, notadamente, o desempenho zootécnico do tambaqui foi abaixo do esperado com o uso de dietas semipurificadas para a espécie. Uma forma de corroborar dados de desempenho zootécnico em peixes alimentados com dietas deficientes de um determinado nutriente é avaliar as condições fisiológicas deste para melhor compreender os efeitos da dieta no bem estar e saúde do animal (Affonso *et al.*, 2002; Tavares dias e Moraes, 2004; Affonso *et al.*, 2007; Bicudo *et al.*, 2009).

Os parâmetros fisiológicos Ht, RBC e [Hb], avaliados para o tambaqui, apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), porém, quando submetidos à análise de regressão, apresentaram efeito cúbico sobre os níveis de lisina na dieta, não apresentando um padrão específico. Esses parâmetros estão relacionados à capacidade de transporte do oxigênio do sangue e, sob condições de estresse, sofrem alterações que podem levar a um quadro de anemia nos peixes, ou uma hemodiluição ou hemoconcentração do sangue (Tavares-Dias, 2004; Affonso *et al.*, 2012). Os valores desses parâmetros observados para o tambaqui são similares ou abaixo dos encontrados em vários estudos com a espécie sob o uso de quimio e fitoterápicos, densidades de estocagem, componente na dieta e sistemas de cultivo, entre outros. (Affonso *et al.*, 2002; Affonso *et al.*, 2003; Chagas *et al.*, 2003; Aride *et al.*, 2007; Minchan *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2010b; Inoue *et al.*, 2011; Pádua *et al.*, 2012; Pádua *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013). Tavares-Dias e Sandrin, (1998) encontraram valores superiores para RBC  $2,8 \times 10^6/\mu\text{l}$ , hematócrito 41,6%, e taxa de hemoglobina 11,3g/100ml com indivíduos com peso acima de 500 gramas. Já Chagas *et al.* (2006) obtiveram valores superiores para Ht e RBC e inferiores para [Hb] com animais de 37 g submetidos a banhos terapêuticos com mebendazol. Affonso *et al.* (2006), estudando duas densidades para o tambaqui, encontraram valores superiores para Ht e RBC e valores similares para [Hb] com peixes de 5 a 350 g, mostrando uma elevação na porcentagem de Ht nos 3 primeiros meses do experimento. Inoue *et al.* (2011), avaliando resposta metabólicas do tambaqui submetidos a banhos anestésicos com eugenol, mostraram valores superiores de Ht (24-33%) e RBC (3,2-4,1 milhões/uL) e valores similares para [Hb] (9,3-11,1g/dL) para 0 e 24 horas após banho anestésico. Minchan *et al.* (2007), avaliando o desempenho do tambaqui, com 69 a 81 g, em diferentes densidades, encontraram o mesmo padrão nos valores de Ht, RBC e [Hb] obtidos no presente estudo, com valores inferiores de [Hb]. Os valores observados de Ht, [Hb] e RBC, no presente estudo, estão próximos daqueles encontrados para o tambaqui exposto ao estresse agudo, observado por Tavares-Dias *et al.* (2001). Alguns estudos apontam a influência da lisina no hematócrito, como descrito por Bicudo *et al.* (2009), que observaram valores

elevados de Ht com o aumento do nível de lisina em pacu (*P. mesopotamicus*), porém, os valores obtidos para o tambaqui não indicam essa tendência. De acordo com Tavares Dias e Moraes (2004), esses parâmetros são bons indicadores da capacidade de transporte de oxigênio dos peixes, entretanto, provavelmente, as variações observadas no presente estudo estejam relacionadas ao baixo consumo da dieta e a deficiência nutricional. É importante ressaltar que os valores de hemoglobina, estiveram próximos aos valores observados em outros estudos com a espécie, sugerindo que o tambaqui manteve sua capacidade de produção de hemoglobina, mesmo com baixa produção de células vermelhas indicada pelos baixos valores observados de Ht e RBC.

Os valores mais baixos de Ht, RBC e [Hb] influenciaram nos valores dos índices hematimétricos, provavelmente o baixo consumo nas dietas tenha afetado esses parâmetros, reduzindo a produção de células sanguíneas. Os parâmetros, HCM e CHCM apresentaram efeito cúbico em relação aos níveis de lisina na dieta, demonstrando uma tendência a aumentar com níveis mais elevados de lisina. Os valores de VCM não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), entretanto, os valores estão dentro da faixa de variação verificados por Tavares-Dias e Sandrim, (1998), e acima daqueles descritos por Michan *et al.* (2007) para esta espécie. Já HCM e CHCM apresentaram valores superiores aos encontrados nos estudos de Tavares-Dias e Sandrimn, (1998), Michan *et al.* (2007) e Inoue *et al.* (2011), avaliando parâmetros fisiológicos em diferentes situações. Os valores médios de HCM e CHCM apresentaram tendência a aumentar à medida que ocorreu o aumento do nível de lisina na dieta, sendo os maiores valores observados para as dietas com maior nível de lisina, não sendo descrito esse comportamento na literatura. Em geral, os índices hematimétricos estão diretamente relacionados ao volume dos eritrócitos, bem com a quantidade de hemoglobina no sangue, e, dessa forma, os valores encontrados no presente estudo demonstram que a dieta semipurificada, na fase inicial do tambaqui, afetaram estes parâmetros hematológicos.

A literatura expressa uma grande variação nos valores de parâmetros hematológicos para o tambaqui, o que pode estar relacionada à variação quanto ao tamanho dos indivíduos, tipo de experimento, análises de laboratórios, idade, sexo, fatores genéticos e nutricionais (Paiva e Godinho, 1988). Estes resultados indicam que a dieta semipurificada com níveis crescentes de lisina afetou significativamente esses parâmetros, porém sem um padrão específico com a dieta testada.

Outra forma para avaliar o bem estar animal é avaliando alguns parâmetros plasmáticos do sangue como glicose e cortisol, que são importantes indicadores de estresse

em peixes (Barton, 2002; Inoue *et al.*, 2011). No presente estudo, os valores de glicose não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo o maior índice glicêmico (117,9 mg/dL) observado com a dieta 1,8% de lisina, próximo ao valor (116 mg/dL) encontrado por Tavares-Dias *et al.* (2001) e Tavares-Dias e Sandrim (1998) para a mesma espécie. Os valores observados por Minchan *et al.* (2007), avaliando diferentes densidades para o tambaqui, também foram similares ao verificados neste estudo para glicose. Já Inoue *et al.* (2011) e Affonso *et al.* (2006) observaram hiperglicemia em tambaquis submetidos a fatores estressantes, com o uso de eugenol e diferentes densidades de estocagem respectivamente, como resposta as alterações impostas. Outros estudos observaram valores de glicose abaixo dos obtidos no presente estudo, como descrito por Santos *et al.* (2010b), avaliando respostas fisiológicas do tambaqui submetidos à dietas suplementadas com castanha da Amazônia, Chagas *et al.* (2003) e Chagas *et al.* (2006), estudando respostas fisiológicas de tambaqui submetidos à inclusão de vitamina C na dieta e a banhos terapêuticos respectivamente e Gomes *et al.* (2006), estudando diferentes densidades de estocagem do tambaqui em tanques redes. Estes resultados indicam que o nível de estresse do animal, observado pelos valores de glicose, corresponde à capacidade de adaptação do animal às condições aplicadas nos diferentes experimentos.

O cortisol, também conhecido como hormônio do estresse, em geral, está relacionado a exposições crônicas. Nesse estudo, os valores de cortisol plasmático apresentaram tendência a reduzir à medida que houve incremento de lisina na dieta, sendo os maiores valores observados para as dietas 2 e 1 respectivamente (Figura 6). Esses valores estão dentro do intervalo de variação observados por Tavares-Dias e Sandrim (1998) para o tambaqui, 38 a 257,5 ng/ml. Os três primeiros níveis de lisina apresentaram os maiores valores de cortisol e estão próximos aos valores (182,1 e 333,8 ng/ml) observados por Tavares-Dias *et al.* (2001) antes e após estresse de captura e manejo respectivamente. Os resultados sugerem que os menores níveis ou a deficiência em lisina influenciaram os valores de cortisol plasmáticos nos peixes indicando aumento do estresse para os menores níveis.

O aumento da proteína na carcaça com a inclusão dos níveis de lisina não foi observado para o tambaqui como observado por Furuya *et al.* (2006) para tilápia, Bicudo *et al.* (2009) no pacu (*P. mesopotamicus*) e Prado, (2011) para o surubim (*Pseudoplatystoma spp.*). O maior teor de proteína corporal foi observado para a dieta com 2,1% de lisina e o menor teor observado para o menor nível de lisina (Tabela 8). Já o conteúdo de lipídios na carcaça apresentou tendência a reduzir com o aumento do nível de lisina na dieta, sendo o



mesmo efeito observado por Davis *et al.* (1997), Berge *et al.* (1998) e Bicudo *et al.* (2009), com truta arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*P. mesopotamicus*) e salmão do atlântico (*Salmo salar*) respectivamente. Entretanto, Ovie e Eze (2013), avaliando a exigência de lisina para tilápia (*O. niloticus*), observaram o aumento de lipídios corporais com aumento de lisina na dieta. Dairiki *et al.* (2013) não observaram diferenças significativas para a composição corporal em juvenis de dourado (*Salminus brasiliense*) alimentados com níveis crescentes de lisina. Alguns estudos relatam o aumento da proteína e uma redução de lipídios corporais em dietas com níveis crescentes de lisina (Ruchimat *et al.*, 1997; Zarate e Lovell 1997; Rodehutsord *et al.*, 2000; Mai *et al.*, 2006; Bicudo *et al.*, 2009). Porém, este padrão não foi observado para o tambaqui. Os valores observados para o índice hepatossomático (Tabela 5), apresentaram o mesmo efeito observado para lipídios, com tendência a reduzir com aumento dos níveis de lisina, sendo corroborados pelos resultados observados por Bicudo *et al.* (2009) para o pacu. Segundo Abimorad *et al.* (2010) uma dieta equilibrada em aminoácidos reduz o seu catabolismo, conseqüentemente, aumenta a síntese de proteína e diminui o acúmulo de reservas de lipídios. Segundo estes autores, a redução de lipídios pode estar relacionada a L-carnitina, que é uma substância sintetizada a partir da lisina e metionina, desempenhando um papel importante na queima de gordura corporal. Corroboram com estes resultados os valores de colesterol e triglicerídeos obtidos do plasma sanguíneo com maiores valores observados para a dieta com menor nível de lisina (Figuras 7 e 8), sugerindo que o menor nível de lisina, implica em maior acúmulo de gordura corporal.

Mesmo não havendo diferenças significativas entres os tratamentos sobre os parâmetros de desempenho zootécnicos, a dieta com 1,8% de lisina, apresentou os maiores valores entre os tratamentos para os parâmetros zootécnicos avaliados. De acordo com a NRC (2011), o intervalo de exigências nutricionais de lisina para diferentes espécies varia entre 1,2 a 3,3% de lisina na dieta. Todavia, apenas com base na dieta de 1,8% e o perfil corporal do tambaqui estimou-se a exigência de lisina para a espécie, utilizando os métodos propostos por Arai, (1981) e Abimorad e Castellani (2011), nos quais foram obtidos os valores de 6,0 e 6,2% lisina na proteína (Tabela 9) respectivamente.

Oliveira *et al.* (2011), utilizando apenas o perfil corporal do tambaqui estudado por Van Der Meer (1997) e a metodologia proposta por Meyer e Fracalossi, (2005), estimaram o perfil de aminoácidos para o tambaqui e obtiveram 7,2% de lisina na proteína. Azevedo *et al.* (2012), também utilizando apenas o perfil corporal da espécie e com base no conceito de proteína ideal, estimaram a exigência de lisina para o tambaqui em 5,3% de lisina na proteína.

Bicudo *et al.* (2009), utilizando modelo de regressão segmentada, determinaram a exigência para o pacu (*P. mesopotamicus*) em 1,4-1,5% de lisina na dieta ou 4,34-4,68% de lisina na proteína. Abimorad *et al.* (2010) estimaram a exigência em 1,64% de lisina na dieta ou 7,3% da proteína dietética para a mesma espécie, utilizando o mesmo modelo de regressão. Os valores estimados por Bicudo *et al.* (2009) e Abimorad *et al.* (2010) estão próximos aos obtidos no presente estudo para tambaqui, levando em consideração a proximidade filogenética entre as duas espécies e os valores preconizados de exigência de lisina pela NRC, (2011), entre 1,2 a 3,3% de lisina na dieta. Montes-Girao e Fracalossi (2006) estimaram a exigência de lisina para o jundiá (*R. quelem*) em 1,36% de lisina na dieta ou 4,5% da proteína dietética. Bomfim *et al.* (2010) estimaram a exigência para tilápia do Nilo em 1,8% lisina na dieta ou 6,18% de lisina na proteína, utilizando dieta suplementada com aminoácidos livres e 29,12% de proteína bruta. Dairiki *et al.* (2013) obtiveram a exigência de 5% de lisina na proteína para dourado (*S. brasilienses*). Dairiki *et al.* (2007) estimaram a exigência de lisina para o carnívoro “black bass” (*Micropterus salmoides*) em 1,69% de lisina na dieta ou 3,9% da proteína e Furuya *et al.* (2013) determinaram a exigência de lisina digestível para tilápia do Nilo em 1,31% de lisina na dieta, mantendo constante a relação arginina:lisina.

O perfil de aminoácidos essenciais estimados para o tambaqui (Figura 9) foi similar aos observados para outras espécies, assim como para aquelas encontradas na literatura para o tambaqui (Furuya *et al.*, 2004; Montes-Girao e Fracalossi, 2006; Bicudo *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Azevedo *et al.*, 2012). Porém, é necessário futuros estudos com a lisina e outros aminoácidos para a consolidação dos dados de exigência nutricional para o tambaqui.

De uma maneira geral, as estimativas de lisina, sugeridas neste estudo, estão de acordo com os valores encontrados para diferentes espécies descritas na literatura, podendo ser utilizadas como referência para novos estudos em nutrição do tambaqui. Porém, esse é um dos primeiros estudos de exigência de aminoácido para o tambaqui com uso de dieta semipurificada, sendo necessário aprofundar os conhecimentos sobre esse tema, considerando diferentes dietas e níveis de lisina, para maior precisão nas informações sobre a demanda de aminoácidos essenciais para o tambaqui. Segundo Fracalossi *et al.* (2011) é necessária a condução de mais de um experimento para a obtenção da estimativa da exigência nutricional e, em geral, as concentrações testadas devem ultrapassar a porção ascendente da curva de dose-resposta para garantir uma resposta máxima.

**Tabela 9.** Exigência dos aminoácidos essenciais para o tabaqui, estimados pelos métodos propostos por Arai (1981) e Abimorad e Castellani (2011), baseados no perfil de aminoácidos corporais do tabaqui e a exigência nutricional de outras espécies.

Composição de AAE corporais do Tabaqui		¹Exigência nutricional (%proteína)					Exigência do tabaqui (% Proteína)	
		<i>O. niloticus</i>	<i>I. punctatus</i>	<i>C. Carpio</i>	<i>R. quelen</i>	<i>P. mesopotamicus</i>	Relação A/E Arai, (1981)	Abimorad e Castellani (2011)²
Arginina	7,36	4,2	4,3	4,3	4,7	4,01	5,2	5,34
Histidina	2,72	1,7	1,5	2,1	1,7	1,52	1,9	1,97
Isoleucina	3,60	3,1	2,6	2,5	4,7	2,49	2,5	2,61
Leucina	7,42	3,4	3,5	3,3	7,8	5,05	5,2	5,39
Lisina	8,54	5,1	5,1	5,7	4,5	5,67	6,0	6,20
Metionina	2,68	3,2	2,3	2,1	3,7	1,72	1,9	1,94
fenilalanina	3,86	5,5	5,3	4,4	5,3	4,57	2,7	2,80
Treonina	4,70	3,8	2,2	3,9	4,3	2,84	3,3	3,41
Triptofano	1,18	1,0	0,5	3,6	0,9	-	0,8	0,86
Valina	4,66	2,8	3,0	0,8	4,6	2,73	3,3	3,39
<i>Soma AAE</i>	46,72	33,8	30,3	32,7	42,2	30,6	32,8	33,9

¹ Valores obtidos Abimorad e Castellani, (2011); Oliveira et al., 2011; Abimorad et al., (2010); Montes-Girao e Fracalossi (2006); NRC (1993).

² Adaptado de Meyer e Fracalossi (2005)

## Conclusão

Com os resultados obtidos neste estudo, não foi possível determinar a exigência de lisina, pelo método dose-resposta, entre o intervalo de 0,9 a 2,4% de lisina na dieta com uso de dieta semipurificada. As estimativas de lisina pelos métodos propostos utilizando o conceito de proteína ideal foram similares aos observados para outras espécies. O tambaqui apresentou baixo consumo alimentar com uso de dieta semipurificada. A dieta semipurificada, com níveis crescentes de lisina, alterou os parâmetros hematológicos, porém estes não apresentaram um padrão específico relacionado com a lisina. O acúmulo de lipídios corporais observados para os menores níveis de lisina, sugerem uma relação entre a lisina e lipídios, provavelmente, relacionados à produção de L-carnitina, responsável pela queima de gordura nos tecidos. Este estudo servirá como referência para a adequação e formulação de uma dieta capaz de proporcionar melhor desempenho e que permita a determinação de exigências nutricionais de aminoácidos para o tambaqui.

## Referências Bibliográficas

- Abimorad, E.G.; Castellani, D. 2011. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambarido-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 37(1): 31-38.
- Abimorad, E.G.; Favero, G.C.; Squassoni, G.H.; Carneiro, D.J. 2010 Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, Oxford, 16: 370-377.
- Affonso, E. G.; Ferreira, M. B.; Brasil, E.M.; Pereira-Filho, Manoel; Roubach, R.; Ono, E.A. 2012. Hematological responses as indicators of the pond culture of tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), with and without water exchange. *Adapatation of Aquatic Biota*, 10: 21-27.
- Affonso, E. G., Polez, V. L. P., Corrêa, C. F., Mazon, A. F., Araújo, M. R. R., Moraes, G. e Rantin, F. T. 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology*, 133(3): 375-82.

- Affonso, E. G.; Oliveira, S. R.; Paula, A. A.; Souza, R. T. Y. B.; Waichman, A. V.; Fim, J. D. I.; Ono, E. A. 2006. Caracterização fisiológica de Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Characidae) em duas densidades de estocagem. *Comunicación Científica*. P. 996-1003.
- Affonso, E.G.; Silva, E.C.; Tavares-Dias, M.; Menezes, G.C.; Carvalho, C.S.M.; Nunus, E.S.S.; Ituassu, D.R.; Roubach, R.; Ono, E.A.; Fim, J.D.I.; Marcon, J.L. 2007. Effect of high levels of vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 147: 383-388.
- Almeida-Val; V. M. F.; Chippari-Gomes, A. R.; Lopes, N. P. 2006. Metabolic and physiological adjustments to low oxygen and high temperature in fishes of the Amazon (Ed.). In: Val; A.; Almeida-Val, V. M. F.; Randall, D. 2006. *Fish physiology: The physiology of tropical fishes*. v21. p.443-499.
- Arai, S. 1981 A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, Tokyo 47: 547-550.
- Araújo-Lima, C. A. R. M.; Gomes, L.C. 2005. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Ed). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. v.2. Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, p.67-104.
- Aride, P.H.R.; Roubach, R.; Val, A.L. 2007. Tolerance response of tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*. 38:588-594.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1999. *Official Methods of Analysis of AOAC*. Washington, 16 Ed. 1141 pp.
- Azevedo, K.S.P.; Almeida, R.G.S.; Santos, M.C.; Resende, A.M.; Bicudo, A.J.A. 2012. Valores da exigência de aminoácidos essenciais do tambaqui *Colossoma macropomum* estimados pelo perfil de aminoácidos corporais. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática*, 5., Palmas, 1-5/jul./2012. Anais... Palmas: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática.
- Barton, B. A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 517-525.
- Berge, G. E.; Sveier, H.; Lied, E. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*); the requirement and metabolic effect of lysine. *Comparative Biochemistry and Physiology*, New York, 120(3): 477-485.
- Bicudo, A.J.A.; Cyrino, J.E.P. 2009. Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40: 318-823.

- Bicudo, A.J.A.; Sado, R.Y.; Cyrino, J.E.P. 2009. Dietary lysine requeriment of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Aquaculture*, 297: 151-156.
- Bodin, Noelie; Mambrini, M.; Wauters, J. B. Abboudi, T.; Ooghe, W.; Boulenge, E. L.; Larondelle, Y.; Rollin, X. 2007. Threonine requirements for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. *Aquaculture* 274: 353-365.
- Boisen, S. 2003. Ideal dietary amino acid profiles for pigs. *In: Amino acid in farm animal nutrition*. Wallingford: CAB International, p.157-168.
- Bomfim, M. A. D.; E. A. T. Lanna; J.L. Donzele; M. Quadros; F. B. Ribeiro; e M. P. Souza. 2010. Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, 39: 1-8.
- Bomfim, M.A.D.; Lanna, E.A.T.; Donzele, J.L.; Abreu, M.L.T.; Ribeiro, F.B.; e Quadros, M. 2008. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, 37: 1713-1720.
- Boyd, C.E.; Tucker, C.S. 1992. *Water quality and pond soil analyses for aquaculture*. Auburn: Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University. p.183.
- Brandão, R. F.; Gomes, L. de C.; Chagas, E. C.; Araújo, L. D. de. 2004. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. *Pesq. agropec. bras.*, 39(4): 357-362.
- Bureau, D.P. and C.Y. Cho. 1999. Nutrition and feeding of fish. *OMNR Fish Culture Course*, University of Guelph, Guelph, Ontario, 21-25 June 1999.
- Bureau, D.P.; Encarnação, P.M. 2006. Adequately defining the amino acid requirements of fish: the case example of lysine. *In: Simposium Internacional de Nutrición Acuicola; Avances en Nutrición Acuicola*, 8, Monterrey. Anais... Monterrey, 2006. p.29-54.
- Chagas, E. C.; Araújo, L. D.; Silva, A. L. F.; Gomes, L. C.; Brandão, F. R. 2006. Respostas fisiológicas de tambaqui a banhos terapêuticos com mebendazol. *Notas Científicas. Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, 41(4): 713-716.
- Chagas, E. C.; Araujo, L.D.; Gomes, L.D.; Malta, J.C.; Varella, A.M.B. 2012. Efeito do cloreto de sódio sobre as respostas fisiológicas e controle de helmintos monogenóides em tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Acta Amazonica*, Manaus, 42(3): 439-444.
- Chagas, E. C.; Val, A. L. 2003. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38: 397-402.

- Chagas, E.C.; Lourenço, J.N.P.; Gomes, L.C.; Val, A.L. 2003. Desempenho e estado de saúde de tambaquis cultivados em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. In: Urbinati, E.C.; Cyrino, J.E.P. *Simpósio Brasileiro de Aqüicultura*, 12., 2003, Jaboticabal, SP. Anais... Jaboticabal: AQUABIO, 2003. p.83-93.
- Costa, O.T.F.; Ferreira, D.J.S.; Mendonça, F.P.; Fernandes, M.N. 2004. Susceptibility of Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasaminae) to short-term exposure to nitrite. *Aquaculture*, 232: 627-636.
- Cowey, C. B. 1994. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture* 124: 1-11
- Crab, R.; Yoram Avnimelech, Y.; Defoirdt, T.; Bossier, P.; Verstraete, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270: 1-14
- Cunha, V.V; Júnior, A.S. 2011. Crescimento de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (cuvier, 1818), em tanques-rede com diferentes densidades populacionais em Ji-Paraná, RO. *Amazônia: Ci. & Desenv.*, 6(12): 185-193.
- Dairiki, J. K.; Silva, T. B. 2011. Revisão de literatura: exigências nutricionais do tambaqui – compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus, *Embrapa Amazônia Ocidental - Documentos 91*. 44p.
- Dairiki, J. K.; Correa, R. B.; Inoue, L. A.K. A.; Morais, I. S. 2013a. Feijão-caupi autoclavado na nutrição de juvenis de tambaqui. *Pesq. agropec. bras.*, 48(4): 450-453.
- Dairiki, Jony K.; Borghesi, Ricardo; Dias, C. T. S.; Cyrino, José E. P. 2013b. Lysine and arginine requirements of *Salminus brasiliensis*. *Pesq. agropec. bras.* [online], 48(8): 1012-1020.
- Dairiki, Jony K.; Dias, Carlos T. S.; Cyrino, José E. P. 2007. Lysine Requirements of Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*: A Comparison of Methods of Analysis of Dose-Response Trials Data. *Journal of Applied Aquaculture*, 19(4): 1-27.
- Encarnação, P., de Lange, C., Bureau, D.P. 2006. Diet energy source affects lysine utilization for protein deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 261: 1371-1381.
- Encarnação, P.; Lange, C.; Rodehutsord, M.; Hoehler, D., Bureau, W. e 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*, 235: 569-586.

- 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: 646-653.
- FAO. 2012. *El estado mundial de la pesca y acuicultura 2012*. Roma. 231p.
- 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.
- Fracalossi, D. M.; Rodrigues, A. P. O.; Silva, T. S. C.; Cyrino, E. P. 2011. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: Cyrino, J.E.P e Fracalossi, D.M. 2011. *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*.
- Furuya, W. M. e Furuya, V. R. B. 2010. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. *Revista Bras. Zootec.*, 39: 88-94 (supl. Especial).
- Furuya, W. M.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E.; Cyrino, J. E. P. 2011. Exigências nutricionais e alimentação de tilápia. In: Cyrino, J.E.P e Fracalossi, D.M. 2011. *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*.
- Furuya, W. M.; Graciano, T. S.; Vidal, L. V. O.; Xavier, T. O.; Gongora, L. D.; Righetti, J. S.; Furuya, V. R. B. 2012. Digestible lysine requirement of Nile tilapia fingerlings fed arginine-tolysine-balanced diets. *R. Bras. Zootec.*, 41(3): 485-490.
- Furuya, W. M.; Michelato, M.; Sakaguti T. G.; Vidal, L. V. O.; Xavier, T.O.; Furuya, V. R. B.; Moura, L. B. 2013. Exigência de lisina digestível para a tilápia-do-Nilo de 87 a 226 g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina:lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina-PR, 34(4): 1945-1954.
- Furuya, W.M.; Botaro, D.; Macedo, R.M.G. et al. 2005. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34(5): 1433-1441.
- Furuya, W.M.; Botaro, D.; Neves, P.R. et al. 2004. Exigência de lisina pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na terminação. *Ciência Rural*, 34(5): 1571-1577.
- Furuya, W.M.; Botaro, D.; Santos, V.G. et al. 2006. Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *R. Bras. Zootec.*, 35(3): 937-942 (supl.).
- Gomes, L. C.; Chagas, E. C.; Martins-Junior, H.; Roubach, R.; Ono, E. A.; Lourenço, J. N. P. 2006. Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. *Aquaculture*, 253: 374-384.



- Gomes, L. G.; Brandão, F. B.; Chagas, E. C.; Ferreira, M. F. B.; Lourenço, J. N. P. 2004. Efeito do volume do tanque-rede na produtividade de tambaqui (*Colossoma macropomum*) durante a recria. *Acta Amazonica*, 34(1): 11-113.
- Gomes, L.C.; Araujo-Lima, C.A.R.M.; Roubach, R., Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P. 2003. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34: 76-84.
- Green, J.A. e Hardy, R.W. 2002. The optimum dietary essential amino acid pattern for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to maximize nitrogen retention and minimize nitrogen excretion. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 97-108.
- Grisdale-Helland, 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.
- Hauler, R. e Carter, C. 2001. Reevaluation of the quantitative dietary lysine requirement of fish. *Review in Fisheries Science*, 9: 133-163.
- Helland, S. J. e Grisdale-Helland, Barbara. 2011. Dietary threonine requirement of Atlantic salmon smolts. *Aquaculture*, 321: 230–236.
- Inoue, Luis A. K.A.; Boijink, Cheila B.; Ribeiro, Patrizia R.; Silva, Ana M. D.; Affonso, Elizabeth G. 2011. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. *Acta Amazonica*. 41(2): 327-332.
- Ituassú, D.R; Santos, G.R.R.; Roubach, R.; Pereira-filho, M. 2004. Desenvolvimento de tambaqui submetido a períodos de privação alimentar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 39: 1199-1203.
- Izel, A.C.U.; Melo, L.A.S. 2004. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em tanques escavados no Estado do Amazonas. Manaus: *Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos* 32. 20p.
- Keembiyehetty, C.N.; Gatlin, D.M. 1992. Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 104(3/4): 271-277.
- Kim, J.D. e Lall, S.P. 2000. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellow-tail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 187: 367-373.
- Kubitza, F. 2003. *Water quality in the cultivation of fish and shrimp*. Jundiaí, 229p.
- Lall, S.P., 2000. Nutrition and health of fish. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición*

- Acuícola V. *Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22. Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.
- Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., Wan, J., Liufu, Z., 2006. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateobrax japonicus*. *Aquaculture*, 258: 535–542.
- Marcon, J.L.; Moreira, S.S.; Fim, J.D.I. 2004. Median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) for unionized ammonia in two Amazonian fish species, *Colossoma macropomum* and *Astronotus ocellatus*. In: VI International Congress on the Biology of Fish. Manaus. 1:105-116.
- Melo, L.A.S.; Izel, A.C.U.; Rodrigues, F.M, 2001. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas. Manaus: *Embrapa Amazônia Ocidental*. Brasil. 30pp.
- Mendonça, P. P.; Ferreira, R. A.; Vidal Junior, M.V.; Andrade, D.R.; Santos, M.V.B.; Ferreira, A.V.; Rezende, F.P. 2009. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Archivos de Zootec.*, 58(223): 324.
- Meyer, G. e Fracalossi, D.M. 2005 Estimation of jundiá (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirement based on muscle amino acid composition. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 62: 401-405.
- Minchán, E. L. S.; Chu-Koo, F. W.; Bocanegra, F. A. 2007. Parámetros hematológicos, crecimiento e composición corporal de juveniles de gamitana *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) cultivados em tres densidades. Instituto de investigaciones de la Amazonía Peruana. *Folia Amazónica*. 16(1-2): 35-45.
- Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA, 2013. *Boletim Estatístico de Aquicultura e Pesca, Brasil 2011*. Brasília - DF. 60p.
- Montes-Girao, P. J.; Fracalossi, D. M. Dietary Lysine Requirement as Basis to Estimate the Essential Dietary Amino Acid Profile for Jundiá', *Rhamdia quelen*. *Journal Of The World Aquaculture Society*, 37(4): 388-396.
- National Research Council - NRC. 1993. *Nutrient requirement of fish*, Washington, D.C.: National Academy of Science. 105p.
- National Research Council - NRC. 2011. *Nutrient requirement of fish and shrimp*. Washington, D.C.: National Academy of Science.
- Oliva-Teles A. 2000. Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. *Aquacult Int*, 8: 477-492.

- Oliveira, A.C.B; Miranda, E.C.; Correa, R. 2011. Exigências nutricionais e alimentação do tambaqui. In: Cyrino, J.E.P e Fracalossi, D.M. (Ed.). 2011. *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p.217-229.
- Ovie, S.O.; Eze, S. S. 2013. Lysine requirement and its effect on the body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8(1): 94-100.
- Padua, S. B.; Pilarski, F.; Sakabe, R.; Dias-Neto, J.; Chagas, E. C.; Ishikawa, M. M. 2012. Heparina e K3EDTA como anticoagulantes para tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1816). *Acta Amazonica*, 42(2): 293-298.
- Pastore, Silvia C. G.; Gaiotto, Juliane R.; Ribeiro, Felipe A. S.; Nunes, Alberto J.P. 2011. Boas práticas de fabricação e formulação de rações para peixes. In: Cyrino, J.E.P e Fracalossi, D.M. 2011. *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p.217-229.
- Pereira Junior, G.; Pereira, E. M. O; Pereira-Filho, M., Barbosa, P. S.; Himoda, E.; Brandão, L. V. 2013. Desempenho produtivo de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818) alimentados com rações contendo farinha de crueira de mandioca (*Manihot esculenta*, CRANTZ) em substituição ao milho (*Zea mays*). *Acta Amazonica*, 43(2): 217-226.
- Peres, H.; Olivia-Teles, A. 2008. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, 275: 283-290.
- Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Fracalossi, D.M.; Cyrino, J.E.P. 2004. Nutrição de peixes. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. (Ed). *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: TecArt. p. 75-169.
- Pohlenz, C.; Gatlin III, Delbert M. 2014. Interrelationships between fish nutrition and health. *Aquaculture*. (2014).
- Portz, L. e Cyrino, J.E.P. (2003) Comparison of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass *Micropterus salmoides* (Laceoe´de, 1802). *Aquaculture Res.*, 34: 585-592.
- Portz, Leandro e Furuya, W. M.. 2011. Energia, Proteína e Aminoácidos. In: Cyrino, J.E.P e Fracalossi, D.M. 2011. *NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse*

- para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p.217-229.
- Prado, Samuel A. 2011. *Exigência de Lisina de Juvenis de Surubim (Pseudoplatystoma spp)*. Dissertação de Mestrado. Pós-graduação em Zootecnia. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais. 38p.
- Ranzani-Paiva, MJ.T.; Godinho, H.M. 1988. Características do plasma sanguíneo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887 (*Colossoma mitrei* Berg, 1895) em condições experimentais de criação. *B. Inst. Pesca*, 15(2): 169-177.
- Rodehutsord, M.; Borchert, F.; Gregus, Z.; Pack, M.; Pfeffer, E. 2000. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. 1. Effect of dietary crude protein level. *Aquaculture*, 187: 163-176.
- Rollin, X.; Mambrini, M.; Abboudi, T. *et al.* 2003. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *British Journal of Nutrition*, 90: 865-876.
- Rotta, M. A. 2002. Utilização da energia e da proteína pelos peixes. *Embrapa Corumbá, Corumbá. 24p. Documento, 40.*
- Roubach, R.; Gomes, L.C.; Fonseca, F.A.L.; Val, A.L. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, Oxford, 36(11): 1056-1061.
- Salze, G.; Quinton, M. and Bureau, D.P. 2011. Challenges associated with carrying out a meta-analysis of essential amino acid requirements of fish. *International AquaFeed*. 4p.
- Santos, F.; Pereira-Filho, M.; Sobreira, C.; Ituassú, D.; Fonseca, F. A. L. 2010b. Exigência proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. *Acta Amazonica*, 40(3): 597-604.
- Santos, G. M.; Ferreira, E. J. G.; Zuanon, J. A. S. 2006. *Peixes comerciais de Manaus*. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea. 144p.
- Santos, M.Q.C.; Oishi, C.A.; Pereira-Filho, M.; Lima, M.A.C.; Ono, E.A.; Affonso, E.G. 2010a. Physiological response and performance of tambaqui fed with diets supplemented with Amazonian nut. *Ciência Rural*, 40: 2181-2185.
- Santos, Marcio Q. C.; Lima, M. A. C.; Santos, L.; Pereira-Filho, Manoel; Ono, E. A.; Affonso, E. G. 2013. Feeding strategies and energy to protein ratio on tambaqui performance and physiology. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* (1977. Impressa), 48: 955-961.

- Saint-Paul, U. 1986. Potential for aquaculture of south American freshwater fishes; a review. *Aquaculture Amsterdam*. 54: 205-240.
- SAS - Statistical Analyses System. Statistical Analysis System user's guide. Version 9.2. Cary: Statistical Analyses System Institute, 2008.
- Small, B. C.; Soares, J. H. 2000. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture Nutrition*, 6: 207-212.
- Tavares-Dias, M. e Sandrim, E.F.S. 1998 Características hematológicas de teleósteos brasileiros. I. Série vermelha e dosagens de cortisol e glicose do plasma sanguíneo de espécimes de *Colossoma macropomum* em condições de cultivo. *Acta Scientiarum*, 20: 157-160.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto, São Paulo. 144p.
- Tavares-Dias, M.; Sandrim, E.F.S.; Moraes, F.R.; Falanghe, P.C. 2001. Physiological responses of "Tambaqui" *Colossoma macropomum* (CHARACIDAE) to acute stress. *Boletim do Instituto de Pesca*, 27: 43-48.
- Teixeira, E. de A.; Crepaldi, D.V.; Faria, P.M.C.; Ribeiro, L. P.; Melo, D. C.; Euler, A. C. C.; Sousa, A. B.; Saliba, E.de O. S. 2006. Métodos para determinação das necessidades de aminoácidos para peixes. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, 30(3/4): 126-133.
- Van der Meer, M.B., 1997. *Feeds and feeding strategies for Colossoma macropomum (Cuvier 1818). Fish Growth as related to dietary protein*. Ph.D. Dissertation. Wageningen Agricultural University. Printed by Ponsen and Looijen, Wageningen, Netherlands.
- Verdouw, H.; Van Eched, C.J.A.; Dekkers, E.M.J. 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium silicylate. *Water Research*, 12: 397-402.
- Vidal Jr, M.V.; Donzele, J.L.; Camargo, A.C.S.; Andrade, D.R.; Santos, L.C. 1998. Níveis de proteína bruta para tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. 1. Desempenho dos tambaquis. *R. Bras. Zootec.*, 37: 421-426.
- Wilson, R. P. 2002. Amino acids and proteins. In: Halver, J. E. e Hardy, R. W.(Ed). *Fish Nutrition*. Orlando: Academic Press, p.144-179.
- Wintrobe, M.M. 1934. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *Folia Haematologica*, 51: 32-49.
- Zarate, D. D.; R. T. Lovell. 1997. Free lysine (L-lysine) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 159: 87-100.