

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA

**SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA E/OU LISINA EM RAÇÕES COM
NÍVEIS DECRESCENTES DOS TEORES DE PROTEÍNA PARA JUVENIS DE
TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*.**

LIAN VALENTE BRANDÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

MANAUS – AM

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS –UFAM
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA

SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA E/OU LISINA EM RAÇÕES COM NÍVEIS
DECRESCENTES DOS TEORES DE PROTEÍNA PARA JUVENIS DE TAMBAQUI,

Colossoma macropomum.

LIAN VALENTE BRANDÃO

ORIENTADOR: Dr. MANOEL PEREIRA FILHO

CO-ORIENTADOR: Dr. RODRIGO ROUBACH

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

Fonte financiadora: FAPEAM (PIPTI) - Projeto “Alguns aspectos da nutrição e alimentação do pirarucu e do tambaqui”.

MANAUS – AM

2006

B817 Brandão, Lian Valente

Reforço com metionina e/ou lisina em rações com níveis decrescentes dos teores de proteína: uma tentativa de diminuição do impacto ambiental provocado por rações de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* / Lian Valente Brandão. – 2006.

46 f.

Dissertação (mestrado) – INPA/ UFAM, Manaus, 2006.

1. Tambaqui – alimentação e rações 2. Metionina 3. Lisina. 4. Proteína 5. Impacto ambiental

CDD 19 ed. 639. 209811

SINOPSE

Para obter os efeitos da redução de níveis protéicos e suplementação de metionina e/ou lisina sobre o desempenho e excreção de amônia por juvenis de tambaqui, 336 peixes com $64,5 \pm 1,06g$ (media \pm DP) foram estocados em 24 tanques com 120L cada. Alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente, com rações contendo 2 níveis protéicos e 4 níveis de suplementação de aminoácidos ((a) 0% de suplementação, b) DL-Metionina (3% da PB), c) L-lisina (5% da PB) e d) DL-Metionina (3% da PB) + L-lisina (5% da PB)). Os resultados obtidos revelaram não haver diferença significativa ($p > 0,05$) dos níveis protéicos sobre o ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico e utilização líquida de proteína. Apenas os tratamentos suplementados com lisina apresentaram melhor desempenho ($p < 0,05$). A excreção de amônia reduziu 28,4% com a redução do teor protéico. Estes resultados sugerem uma estratégia alternativa para diminuição do impacto ambiental em sistemas de cultivo intensivo desta espécie.

Palavras-chave: 1. Metionina 2. Lisina 3. Amônia 4. Níveis protéicos 5. Impacto Ambiental

Key-words: 1. Methionine 2. Lysine. 3. Ammonia 4. Protein levels 5. Environmental impact

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me acompanhar.

Agradeço a meus pais, pelos ensinamentos e minha formação, obrigado, serei para sempre grato;

Agradecimento especial ao Dr. Manoel Pereira Filho, que desde o início foi orientador, conselheiro, professor e amigo de todas as horas;

Ao Dr. Rodrigo Roubach pela atenção na resolução dos problemas e amizade;

Ao Dr. Sérgio Guimarães, pela colaboração direta nas incansáveis análises de amônia.

Ao amigo Msc. Flávio Augusto (Guto) pelas sugestões e auxílio direto para a realização deste trabalho, obrigado.

Ao amigo Msc. Daniel Ituassú, pela ajuda nas tarefas realizadas e colaboração direta para a realização deste trabalho, obrigado.

À Senhora Maria Inês de Oliveira Pereira, pelos conselhos, colaboração nos trabalhos de análises bromatológicas;

À Senhora Suzana Kawashima, pela ajuda na parte prática e pela sua boa vontade em ajudar em todos os momentos, obrigado;

Ao Dr. Carlos Edwar, pela ajuda e atenção na parte estatística;

Ao colega Jackson, pela atenção especial dada a meu trabalho;

Ao colega Fábio pela ajuda direta para a realização deste trabalho

À senhorita Elenice Brasil pela ajuda nos demais trabalhos desenvolvidos;

A coordenadora do curso Dr^a Ângela Varella pelos incentivos;

A minha turma de mestrado (2004) com os quais pude dividir bons momentos nestes dois anos, em especial ao companheirismo do amigo Michel Machado;

Ao senhor Atílio Storti Filho, pela sua boa vontade e ajuda quando solicitado;

Ao senhor Simão, pela ajuda nos problemas hidráulicos e arrumação do local de trabalho;

A minha esposa Verúcia Brandão, pelo apoio e companheirismo;

Ao meu sogro, Mauro Marques pelos conselhos na hora certa;

Ao Dr. Alexandre Honczaryk pela doação dos animais experimentais, obrigado;

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas, FAPEAM, pela concessão da minha bolsa de estudo e apoio às pesquisas;

Em fim, a todos que direta e indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1. Parâmetros físico-químicos da água.....	7
2.1.1 Análise de amônia total (NH ₄ ⁺).....	7
2.2. Desenho experimental.....	8
2.3. Formulação das rações.....	8
2.4. Processamento.....	10
2.5. Métodos analíticos.....	10
2.5.1. Umidade.....	10
2.5.2. Proteína bruta (PB)	11
2.5.3. Extrato etéreo (EE)	11
2.5.4. Fibra bruta (FB).....	11
2.5.5. Cinza	12
2.5.6. Extrato não-nitrogenado (ENN).....	12
2.5.7. Energia bruta	12
2.6. Variáveis de desempenho	12
2.6.1. Ganho de Peso (GP):.....	12
2.6.2. Conversão Alimentar Aparente (CAA):.....	13
2.6.3. Taxa de Crescimento Específico (TCE):.....	13
2.6.4. Utilização Líquida de Proteína (ULP):.....	13
2.6.5. Taxa de Eficiência Protéica (TEP):.....	13
2.7 Composição centesimal dos peixes.....	13
2.8. Análises estatísticas.....	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
3.1. Desempenho	15
3.2. Amônia.....	23
4. CONCLUSÃO	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ganho de peso dos juvenis de tambaqui em relação aos níveis de suplementação de aminoácidos.....	16
Figura 2. Ganho de peso dos juvenis de tambaqui em relação aos níveis protéicos (25% e 20% de PB)	16
Figura 3. Conversão alimentar aparente em relação aos níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui	18
Figura 4. Relação da Taxa de Crescimento Específico com os níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui	19
Figura 5. Relação Taxa de Eficiência Protéica com os níveis protéicos testados em rações de juvenis de tambaqui	20
Figura 6. Relação: Taxa de Eficiência Protéica com os níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui	21
Figura 7. Relação: Utilização Líquida de Proteína com os níveis de proteína testados em rações de juvenis de tambaqui	22
Figura 8. Interação: Taxas médias de amônia total mg/l x Níveis protéicos x Horário de amostragem	24
Figura 9. Relação: Taxas médias de amônia total mg/l x Níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação das rações experimentais.....	9
Tabela 2. Composição centesimal das rações experimentais.....	9
Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros de qualidade da água, durante	

período experimental.....	14
Tabela 4. Parâmetros de desempenho dos juvenis de tambaqui entre os diferentes tratamentos após 55 dias de experimento	15
Tabela 5. Análise centesimal das carcaças de juvenis de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> submetidos aos oito tratamentos (Valores médios \pm desvio padrão)	23

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da redução de níveis protéicos e da suplementação de lisina e metionina, sobre o desempenho e excreção de amônia por juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Trezentos e trinta e seis peixes ($64,5 \pm 1,06$ g), foram distribuídos uniformemente em 24 tanques (120L) em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial de duas entradas: 2 níveis protéicos (25% e 20%) e 4 níveis de inclusão de aminoácidos ((a) 0% de suplementação, b) DL-Metionina (3% da PB), c) L-lisina (5% da PB) e d) DL-Metionina (3% da PB) + L-lisina (5% da PB). Todas as dietas foram isocalóricas (300 kcal EB/100g) e administradas manualmente duas vezes ao dia até a saciedade aparente por um período de 55 dias. Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos parâmetros de qualidade de água. Não foram observados efeitos significativos ($p > 0,05$) dos níveis protéicos sobre o ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico e utilização líquida de proteína, com exceção da taxa de eficiência protéica, que apresentou melhora nos tratamentos com 20% de PB. Os tratamentos suplementados com lisina apresentaram melhores resultados ($p < 0,05$) para todos os índices zootécnicos testados. A inclusão de metionina não proporcionou melhora para estes parâmetros. A excreção de amônia total diminuiu 28,4% quando o teor protéico foi reduzido de 25% para 20%, porém a suplementação de lisina e/ou metionina não influenciaram este fator.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of the reduction crude protein level (CP), and lysine and methionine supplementation on fish performance and total ammonia nitrogen excretion in tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). Three hundred and thirty six fish ($64,5 \pm 1,06$ g) were uniformly distributed in 24 tanks (120 L), and in a complete randomized design with two levels of protein content (20% and 25% CP) and four levels of amino acid supplementation: a) DL-methionine (0% of CP) and L-lysine (0% of CP), b) DL-methionine (3% of CP), c) L-lysine (5% of CP), d) DL-methionine (3% of CP) + L-lysine (5% of CP) were evaluated by a two-way ANOVA ($p > 0,05$). All diets were isocalorics (300kcal/100g) and hand-fed twice a day for tambaqui juveniles to apparent satiety for 55 days. No differences were observed on water quality parameters. No effects ($p > 0,05$) of protein levels were observed in weight gain, feed conversion ratio, specific growth rate and net protein utilization with exception of protein efficiency ratio, which showed best results with 20% CP. Lysine supplementation treatments did show better results on fish performance. Methionine supplementation did not improve fish performance. Total ammonia excretion decreased 28,4% when protein levels were reduced from 25% to 20%, however, the lysine and methionine supplementation did not influence this factor.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é considerada como o setor de produção de alimentos de origem animal que mais cresce mundialmente (FAO, 2004). Considerando-se as qualidades nutritivas do pescado, o potencial de geração de empregos, o baixo custo de produção, a depleção dos estoques pesqueiros naturais e o aumento da demanda de alimentos, esta atividade torna-se altamente viável economicamente. (Oliveira *et al.*, 2004).

Segundo Saint-Paul (1986), a América do Sul possui a ictiofauna mais rica de todos os continentes, daí a necessidade de desenvolver tecnologias que viabilizem e otimizem a criação de algumas dessas espécies nativas.

A primeira espécie de peixe amazônico que atraiu a atenção de um número grande de pesquisadores e aquicultores foi o tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier 1818) pertencente à família Characidae e subfamília Serrasalminae (Araújo - Lima & Goulding, 1998). É um peixe que possui alto valor comercial e tem a carne bastante apreciada, apresenta hábito alimentar onívoro, crescimento rápido, rusticidade, tolerando baixos teores de oxigênio dissolvido na água, além de fácil adaptação à alimentação artificial e técnicas de reprodução induzida já conhecidas (Graef, 1995).

Atualmente, já apresenta uma significativa produção em confinamento, sendo responsável por 73,5% do pescado cultivado no Estado do Amazonas, por 30% na Região Norte e por 11,5% na produção nacional (IBAMA, 2000).

Em piscicultura intensiva, grande parte dos problemas de qualidade da água está relacionada com o uso de alimentos de má qualidade e estratégias de alimentação inadequadas (Kubitza, 2003). A alimentação representa uma parte importante nos custos dos cultivos aquícolas, contribuindo com 40 a 60% dos custos operacionais nesta

atividade (Cheng *et al.*, 2003). Esse percentual, entretanto, pode ser maior, dependendo da região, do sistema aplicado ou da espécie cultivada.

Segundo Jobling *et al.* (2001), devido aos elevados custos ligados à nutrição na piscicultura, o aproveitamento adequado dos alimentos tem grande importância no sucesso da atividade e na redução do impacto ao meio ambiente. De acordo com Thoman *et al.* (1999), a otimização dos níveis protéicos da dieta juntamente com o aumento da retenção de nutrientes pelos peixes, poderia diminuir as perdas de nitrogênio e os custos de produção.

No efluente de piscicultura, o nitrogênio é considerado a principal fonte de poluição, podendo resultar em elevada eutrofização (Richie & Brown, 1996), produzindo compostos tóxicos aos peixes (English *et al.*, 1993) e, no caso de predomínio de cianobactérias, pode prejudicar as características organolépticas da carcaça dos peixes por provocar “off flavor” (Van Der Ploeg & Tucker, 1994). Dos compostos nitrogenados, a amônia (NH_3) é o principal produto de excreção dos peixes (Westers, 2001) e no caso do tambaqui, representa aproximadamente 93,7% do nitrogênio excretado (Ismiño-Orbe *et al.*, 2003).

Na maioria dos sistemas de aquicultura, os peixes retêm apenas 20 a 30% do nitrogênio (N) contido na ração (Green & Boyd, 1995). O nitrogênio inorgânico, amônia não ionizada (NH_3) e nitrito (NO_3) podem trazer problemas de saúde para os peixes, especialmente em sistemas de criação intensiva (Hargreaves, 1995), podendo causar degeneração na pele e danificação das brânquias e rins (Soderberg, 1994), além de retardar o crescimento e ter conseqüências negativas na sobrevivência (Jobling, 1994).

A toxidez da amônia em organismos aquáticos é atribuída, principalmente, à forma não-ionizada (Tomasso, 1994). O nitrogênio não retido pelos peixes vai se acumulando na coluna d'água e nos sedimentos, quando pequenas frações são perdidas junto com a descarga de água (drenagem, infiltração) ou perdidas através da volatilização de amônia e gás nitrogênio. Vários trabalhos relatam que 30 a 95% do nitrogênio adicionado à água se acumulam no sedimento (Avnimelech & Lacher, 1979; Schroeder 1987; Oláh *et al.*, 1994).

Estudos sobre exigências nutricionais das espécies aquáticas que visam diminuir os impactos ambientais e o custo dos alimentos têm se tornado indispensáveis para o desenvolvimento da aqüicultura (Muñoz-Ramirez & Carneiro, 2002).

A proteína tem sido o nutriente mais estudado em dietas para produção de peixes. O valor biológico de uma proteína varia com a composição dos aminoácidos e suas respectivas disponibilidades (Ahmed & Khan, 2004). A deficiência ou a baixa disponibilidade de aminoácidos essenciais leva à baixa utilização da proteína e, conseqüentemente, menor crescimento e diminuição da eficiência alimentar dos peixes (Pezzato, 1997). A maioria dos peixes requer os mesmos 10 aminoácidos essenciais para o crescimento: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, e valina (Encarnação & Bureau, 2001).

No mundo, a principal fonte de proteína em aqüicultura é a farinha de peixe, e as rações formuladas podem conter acima de 60 % deste ingrediente (Lovell, 1989). A qualidade deste ingrediente oscila dependendo da espécie e estado de conservação do pescado utilizado, apresentando variação quanto aos componentes nutricionais, presença de agentes patógenos e toxinas (Naylor *et al.*, 2000). As rações elaboradas com base em

proteína da farinha de peixe possuem teor de fósforo (P) acima das exigências estabelecidas pelo NRC (1993). Com isso, a parte não assimilada pelo peixe será excretada na água, comprometendo a qualidade dos efluentes e podendo levar a alterações nas características organolépticas da carcaça (Van Der Ploeg & Tucker, 1994).

Diversos estudos têm estimulado pesquisas sobre fontes alternativas de proteínas, basicamente ingredientes vegetais (Carter *et al.*, 1999; Alceste & Jory, 2000). Os ingredientes de origem vegetal têm sido utilizados em substituição à farinha de peixe, pelo menor custo e disponibilidade no mercado.

Resultados de estudos realizados com tambaqui demonstram a possibilidade de substituição total de alimentos de origem animal, notadamente a farinha de peixe, por ingredientes de origem vegetal sem grandes prejuízos ao desempenho dos peixes (Van der Meer *et al.*, 1996, 1997).

Entre os ingredientes de origem vegetal, o farelo de soja é a fonte mais utilizada para a elaboração de rações para organismos aquáticos, pelo baixo custo e elevado valor nutricional (Furuya *et al.*, 2004a), pois é um produto rico em lipídeos e possui quase todos os ácidos graxos necessários para espécies de peixe de água doce (Francis *et al.*, 2001). Porém podem apresentar fatores antinutricionais e limitação em aminoácidos, especialmente a metionina (Storebakken *et al.*, 2000), geralmente necessitando de suplementação quando utilizados em rações para organismos aquáticos (Furuya *et al.*, 2004b).

Para adequada suplementação de aminoácidos, faz-se necessário o conhecimento das suas exigências. De acordo com o NRC (1993), em rações para peixes onívoros, os aminoácidos sulfurados, como por exemplo, a metionina, devem estar presentes na

proporção de 3% da proteína da ração. Segundo Ruchimat *et al.* (1997), a metionina é um aminoácido essencial, sendo imprescindível para o crescimento normal do organismo, já que ela não pode ser sintetizada no corpo, sendo requerida para síntese protéica e vários outros processos metabólicos. Neste mesmo artigo, trabalhando com yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) os autores obtiveram resultados positivos com relação à retenção de nitrogênio quando o nível de metionina suplementado alcançou 1,20% da dieta. Quando os peixes foram alimentados com dietas contendo baixos níveis de metionina, após 20 dias foi observada perda de apetite, que levou à redução de crescimento, eficiência alimentar, e retenção de nitrogênio. Estes peixes também apresentaram a ocorrência de cataratas bilaterais. Poston (1986) e Cowey *et al.* (1992), também observaram cataratas bilaterais em truta arco-íris alimentadas com dietas com déficits de metionina.

Outro aminoácido essencial é a lisina, que está presente em elevados níveis no tecido muscular dos peixes, sendo exigida em grande quantidade na ração (Furuya *et al.*, 2004b), tendo em vista que esta é usualmente limitada em fontes de proteína vegetal, como por exemplo, fubá de milho, farelo de gergelim e gergelim. A lisina junto com a metionina é a precursora da carnitina que é requerida para o transporte intracelular de ácidos graxos de cadeia longa no interior da célula. (Walton *et al.* 1984).

Para espécies herbívoras e onívoras, o teor de lisina na ração é de aproximadamente 1,5% ou aproximadamente 5% da proteína da ração (NRC, 1993). Resultados semelhantes foram encontrados para *Cirrhinus mrigala* (5,75%, Ahmed & Khan, 2004), carpa capim, *Ctenopharyngodon idella* (5,89%, Wang *et al.*, 2005), e seabass japonês, *Lateolabrax japonicus* (5,80%, Mai, no prelo). Cheng *et al.* (2003)

trabalhando com truta arco-íris, concluíram que diminuindo a quantidade de proteína bruta de 42% para 37%, a excreção total de amônia decaiu 12%. Substituindo a proteína animal por vegetal, o nível de amônia total diminuiu em 28%. Neste mesmo trabalho, foi testada também a suplementação de lisina de 1,5% para 2,25% na dieta contendo proteína vegetal, onde se pode observar um decréscimo de descarga total de amônia em 26%.

O fornecimento de dietas com teores de proteína menores que os usados na atualidade, com suplementação de aminoácidos limitantes, deve ser investigado, com o objetivo de se obter o ponto máximo de crescimento com benefícios ambientais e econômicos. Deste modo, este trabalho verifica a possibilidade de se diminuir o teor de proteína das rações, através de um reforço compensatório, nos níveis de metionina e/ou lisina, sobre a excreção de nitrogênio (NH_4^+) e desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui cultivados em sistema de recirculação de água, no qual o acúmulo de resíduos nitrogenados pode deteriorar a qualidade da água.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, nas dependências da Coordenação de Pesquisas em Aqüicultura – CPAQ, Manaus, Amazonas. Foram utilizados juvenis de tambaqui, com peso médio de $64,5\text{g} \pm 1,06$, procedentes de produtor particular. Os animais experimentais foram medidos (cm), pesados (g) e posteriormente distribuídos em 24 cones com capacidade de 120 litros equipados com sistema de aeração constante e taxa de renovação de água de 1 L/min, na densidade de 14 indivíduos por unidade experimental, totalizando 336 exemplares.

O experimento teve duração de 55 dias. Os peixes foram alimentados manualmente, duas vezes ao dia (09:00 e às 16:00 horas), até saciedade aparente. Neste trabalho considerou-se saciedade aparente quando não eram mais observadas capturas e regurgitação dos grânulos, evitando-se sobras, de forma que a quantidade oferecida pudesse ser considerada como consumida. Após a alimentação, era feita uma descarga de água em cada unidade experimental, a fim de retirar quaisquer sobras de ração que viessem a ter ocorrido.

2.1. Parâmetros físico-químicos da água

A qualidade da água foi monitorada diariamente às 08:00 e às 17:00 horas, medindo-se o oxigênio dissolvido (mg/L), a temperatura (°C), o pH e a condutividade através de 2 aparelhos multiparâmetros marca YSI pHmetro/Termômetro Modelo 60-10 e Oxímetro/Condutímetro Modelo 85-25.

2.1.1 Análise de amônia total (NH_4^+)

Durante os 55 dias de experimento, foram pré-determinadas 3 datas para a coleta de água das unidades experimentais (1^o dia, 27^o dia e 55^o dia). Nestes dias, 3 coletas no centro de cada tanque, a meia profundidade, foram realizadas no decorrer do tempo (08:00 , 14:00 e 20:00 horas), enquanto a alimentação permanecia constante (duas vezes ao dia: 09:00 e 16:00 horas, até saciedade aparente).

A aeração permanecia contínua, porém a renovação de água era interrompida e religada somente após o término da última coleta do dia. As análises para determinação da amônia total das amostras foram realizadas imediatamente após cada coleta. Para

obtenção destes dados foi utilizado o método da fotometria, com uso de um fotômetro MERCK, modelo NOVA 60.

2.2. Desenho experimental

Neste experimento foi avaliada a influência da suplementação de aminoácidos essenciais (metionina e lisina) em dois diferentes níveis de proteína na ração, sobre o desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui.

O experimento foi conduzido em um esquema fatorial 2 x 4, perfazendo um total de 8 tratamentos, com 3 réplicas (unidades experimentais) por tratamento. Foram testados dois níveis decrescentes de proteína bruta na ração (25%, 20%), combinados com quatro níveis de inclusão de aminoácidos essenciais a) SS: metionina (0% da PB da ração) + lisina (0% da PB da ração); b) Met: metionina (3% da PB da ração) + lisina (0% da PB da ração); c) Lis: metionina (0% da PB da ração) + lisina (5% da PB da ração) e d) M + L: metionina (3% da PB da ração) + lisina (5% da PB da ração). Estes níveis de metionina e lisina estão em acordo com recomendações do NRC (1993).

2.3. Formulação das rações

As fontes protéicas de origem vegetal escolhidas para compor as rações foram o farelo de soja e a farinha de glúten de milho. Os ingredientes utilizados na elaboração das rações deste experimento são disponíveis no comércio de Manaus, AM (Tabela 1).

Foram formuladas no total oito rações isocalóricas, das quais, quatro rações continham 25% PB e outras quatro rações, 20% PB (Tabela 2).

Tabela 1. Formulação das rações experimentais.

Ingredientes	Tratamentos							
	25% PB				20% PB			
	SS	Met	Lis	M + L	SS	Met	Lis	M + L
Farelo de Soja	19	18,6	18,6	16,3	17,2	13,8	13,8	13,1
Fubá de milho	42,7	42,9	43,2	43,5	46,9	48,1	48,1	48,7
Farelo de Trigo	20,5	20,9	20,9	21,8	28	28,5	28,5	28,5
Protenose	13	12	11,1	11,4	3,1	3,7	3,7	3,1
Premix*	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
DI – Metionina	-	0,8	-	0,8	-	0,8	-	0,8
L - Lisina	-	-	1,4	1,4	-	-	1,4	1,4
Fibra de soja	4	4	4	4	4	4	4	4

Composição do premix vitamínico e mineral por kg: fósforo 0,5%; cobre 2,66mg; ferro 16,66mg; iodo 0,25mg; manganês 25mg; zinco 16,6mg; vit. A 3,33UI; vit. E 2UI; vit. C 1,000 ppm, vit. D3 800UI; vit B10,46mg; vit. B12 3,33mg; vit B2 1,66mg; vit K 0,52mg. L-lisina (99%). DI-metionina (99%)

Tabela 2. Composição centesimal das rações experimentais

Composição centesimal (%)	Tratamentos							
	25% PB				20% PB			
	SS	Met	Lis	M + L	SS	Met	Lis	M + L
Umidade	7,1	7,1	5,6	10,1	6,8	8,6	6,8	7,7
Proteína bruta	20,2	20,0	20,0	20,2	25,8	25,5	25,0	25,1
Extrato etéreo	2,3	2,3	2,6	2,6	2,9	2,8	2,7	2,9
Fibra bruta	5,4	5,4	5,4	5,3	5,9	5,7	5,7	5,7
Extratos não nitrogenados	61,2	61	62,5	58,1	54,9	53,7	54,5	55,3
Cinzas	3,8	3,5	3,9	3,7	3,7	3,7	5,3	3,3
Energia Bruta* (kcal/100g)	302,4	299,8	298,1	297	300,3	301	299,7	297,7
EB : PB	14,97	14,98	14,90	14,7	11,63	11,80	11,98	11,86

* Energia bruta estimada com base nos valores calculados de energia para proteína (5,64 kcal/g), extrato etéreo (9,44 kcal/g) e carboidratos (4,11 kcal/g) (NRC, 1993).

2.4. Processamento

Os ingredientes utilizados na composição das rações foram pesados em balança METTLER modelo P-1200 com a capacidade de 1,2kg e 0,01g de precisão. Após a pesagem os ingredientes foram misturados, umedecidos, e em seguida processados em moedor de carne marca C.A.F. modelo 22-S, com matriz de 6 mm, para a formação de peletes. Para secagem dos peletes utilizou-se uma estufa com circulação forçada de ar marca Marconi, modelo MA 035 à temperatura constante de 35 °C. As rações experimentais foram acondicionadas em sacos plásticos de 5 kg e armazenadas em freezer.

2.5. Métodos analíticos

A análise da composição centesimal das amostras de cada uma das rações experimentais correspondentes aos 8 tratamentos foi realizada segundo a metodologia descrita pela *Association of Official Agricultural Chemists* – AOAC, (1995). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Peixes/CPAQ /INPA.

2.5.1. Umidade

A determinação de umidade foi realizada em duas etapas para as análises de composição corporal, constando de uma pré-secagem em que foi feita a liofilização das amostras por sublimação do gelo a -40°C e posterior equilíbrio com a umidade ambiente.

Matéria seca (MS) – foi baseada na determinação da perda de peso das amostras submetidas a aquecimento em estufa a 105°C até atingir peso constante.

A umidade total foi obtida através da somatória da umidade resultante na liofilização e na determinação da matéria seca.

Para a determinação da umidade dos ingredientes e rações, com baixo teor de umidade, não foi necessária a liofilização, determinando-se diretamente a matéria seca a 105 °C.

2.5.2. Proteína bruta (PB)

Foi calculada a quantidade de proteína presente nas amostras através da determinação do nitrogênio total, pelo método de Micro-Kjeldahl. As concentrações de proteína bruta das amostras foram obtidas multiplicando-se os valores de nitrogênio total pelo fator de conversão desses valores em proteína bruta (x 6,25), expressos em base seca.

2.5.3. Extrato etéreo (EE)

Os teores de extrato etéreo (fração lipídica) foram determinados por extração contínua com o solvente éter de petróleo em extrator intermitente (aparelho Soxhlet).

2.5.4. Fibra bruta (FB)

Foi utilizado o material oriundo do processo de determinação do extrato etéreo. Essa amostra previamente desengordurada, foi submetida à digestão em solução ácida (ácido sulfúrico, H₂SO₄ – 0,25N) e alcalina (hidróxido de sódio, NaOH – 0,25N) em bloco digestor. A determinação do resíduo orgânico foi feita após filtragem em um

sistema de vácuo, seguida de secagem em estufa a 105°C por 3 horas, e então a amostra foi incinerada a 550°C em mufla por uma hora, de acordo com o método de Weende.

2.5.5. Cinza

A fração cinza compreende o resíduo mineral fixo que não é destruído pela queima da amostra analisada. As concentrações de cinza total foram determinadas em amostras incineradas em mufla a 550°C durante 3 horas.

2.5.6. Extrato não-nitrogenado (ENN)

Os valores do extrato não-nitrogenado (carboidratos) das amostras foram obtidos pelo cálculo da diferença, segundo as equações:

Cálculo das amostras das rações:

$$\text{ENN, \%} = 100 - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ PB} + \% \text{ EE} + \% \text{ FB} + \% \text{ cinza})$$

2.5.7. Energia bruta

A energia bruta foi estimada com base nos valores de energia para proteína= 5,64 kcal/g, extrato etéreo= 9,44 kcal/g e carboidratos= 4,11 kcal/g (NRC 1993).

2.6. Variáveis de desempenho

A pesagem dos indivíduos foi feita no início e no final do experimento e posteriormente foram determinadas as seguintes variáveis:

2.6.1. Ganho de Peso (GP):

$$\text{GP} = \text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}$$

2.6.2. Conversão Alimentar Aparente (CAA):

$$CAA = \text{Quantidade de ração (g)} / \text{Ganho de Peso}$$

2.6.3. Taxa de Crescimento Específico (TCE):

$$TCE = 100 * [(\ln Pf - \ln Pi) / t]$$

Onde: Pf = Peso final (g) Pi = Peso inicial t = dias de experimento

$\ln Pi$ = logaritmo natural do peso inicial

$\ln Pf$ = logaritmo natural do peso final

2.6.4 Utilização Líquida de Proteína (ULP):

$$ULP = \text{PB ganho de peso} / \text{PB consumida}$$

2.6.5. Taxa de Eficiência Protéica (TEP):

$$TEP = \text{Ganho de peso (g)} / \text{PB ingerida (g)}$$

2.7 Composição centesimal dos peixes

Foram escolhidos aleatoriamente 2 peixes no início do experimento, e 2 peixes de cada tratamento no final do experimento para análise centesimal. Estes peixes foram identificados, congelados, triturados, liofilizados e postos em equilíbrio com a umidade ambiente.

A matéria seca (MS) foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até peso constante. As análises para determinação do conteúdo protéico seguiram o método de micro Kjeldahl; o extrato etéreo das amostras foi determinado por extração contínua com éter de petróleo. O teor de cinzas foi determinado pela queima do material em mufla a 550 °C por 12 horas. Todas as análises estiveram em conformidade com AOAC (1995).

2.8. Análises estatísticas

Ao início do experimento, a homogeneidade dos tratamentos foi testada pelo teste de Cochran ao nível de 5% de significância. Os dados de desempenho foram analisados por uma ANOVA de duas entradas ao nível de 5% de significância. As médias de cada tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey também ao nível de 5%.

Os dados de excreção de amônia foram analisados por uma ANOVA com medidas repetidas no tempo, também ao nível de 5% de significância. Para determinação do princípio da esfericidade foi utilizado o teste de Mauchley. Para o caso desta condição não ser aceita, foi utilizado o teste multivariado de Greenhouse & Geisser, (1959), o qual ajusta e corrige os graus de liberdade e os valores de p.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios para as variáveis físico-químicas da água não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros de qualidade da água, durante o período experimental.

Tratamentos	O ₂ D (mg/L)*	T (°C)*	pH*	Condutividade* μ S / cm
28% SS	5,3 ± 0,42	27,89 ± 0,97	5,4 ± 0,19	26,29 ± 2,03
28% Met	5,72 ± 0,37	28,07 ± 0,62	5,6 ± 0,25	25,41 ± 1,90
28% Lis	5,23 ± 0,65	27,82 ± 0,91	5,24 ± 0,32	26,92 ± 1,70
28% M + L	5,80 ± 0,48	28,33 ± 0,53	5,30 ± 0,13	25,96 ± 1,63
22% SS	5,01 ± 0,23	28,50 ± 0,66	5,25 ± 0,28	25,34 ± 1,82
22% Met	6,03 ± 0,58	28,37 ± 0,39	5,45 ± 0,34	26,32 ± 1,60
22% Lis	5,46 ± 0,12	27,92 ± 0,41	5,39 ± 0,21	25,94 ± 1,23
22% M + L	5,13 ± 0,61	27,71 ± 0,52	5,29 ± 0,26	26,12 ± 1,78

* Não houve diferença significativa ($p > 0,05$)

3.1. Desempenho

Ao analisar os resultados dos parâmetros de desempenho (Tabela 4), no que diz respeito ao ganho de peso, constatou-se que a suplementação das dietas com lisina, resultou em aumento significativo ($p < 0,05$) no ganho de peso (Figura 1), porém ao suplementar as rações com metionina não foi observada diferença em relação à dieta sem suplementação. Os dois níveis protéicos testados (20% e 25%) também não influenciaram neste parâmetro (Figura 2).

Tabela 4. Parâmetros de desempenho dos juvenis de tambaqui entre os diferentes tratamentos após 55 dias de experimento.

Tratamento	Variáveis de Desempenho				
	GP* (g)	CAA	TCE* %	TEP %	ULP*
28% SS	28,07 ± 0,74	2,54 ± 0,04ab	0,66 ± 0,03	1,58 ± 0,03ab	1,86 ± 0,0
28% Met	25,63 ± 1,27	2,78 ± 0,22b	0,61 ± 0,02	1,44 ± 0,12a	1,65 ± 0,03
28% Lis	31,47 ± 1,42	2,22 ± 0,11a	0,73 ± 0,03	1,8 ± 0,09abc	2,23 ± 0,31
28% M + L	32,33 ± 4,85	2,11 ± 0,12a	0,74 ± 0,08	1,9 ± 0,1bcd	2,36 ± 0,08
22% SS	28,5 ± 2,88	2,52 ± 0,28ab	0,66 ± 0,05	2,00 ± 0,22cd	2,48 ± 0,35
22% Met	26,00 ± 2,94	2,59 ± 0,23ab	0,61 ± 0,07	1,94 ± 0,17bcd	2,37 ± 0,19
22% Lis	28,30 ± 3,20	2,23 ± 0,15a	0,65 ± 0,06	2,25 ± 0,16d	2,83 ± 0,21
22% M + L	28,03 ± 1,86	2,47 ± 0,13ab	0,66 ± 0,04	2,02 ± 0,10cd	2,50 ± 0,22

GP: ganho de peso; CAA: conversão alimentar aparente; TCE: taxa de crescimento específico; TEP: taxa de eficiência protéica; ULP: utilização líquida de proteína. (ns*) – não significativo. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($p < 0,05$). * Não apresentam diferenças significativas.

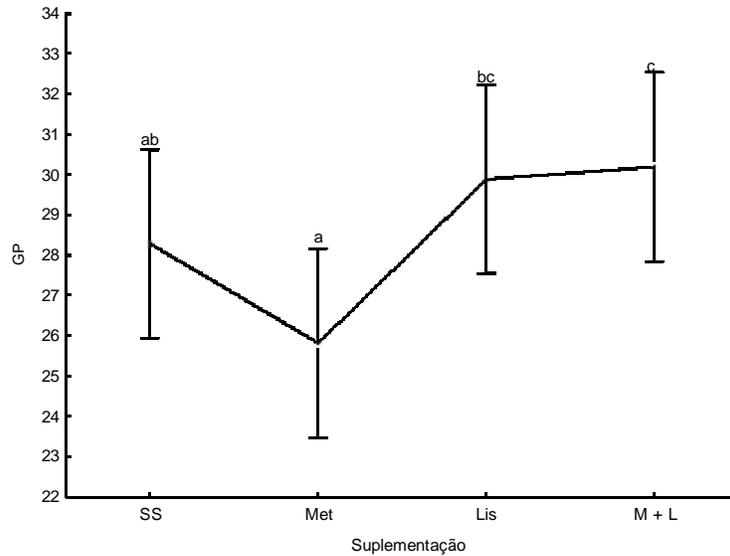


Figura 1. Ganho de peso dos juvenis de tambaqui em relação aos níveis de suplementação de aminoácidos.

$p = 0,04$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DI-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DI-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração).

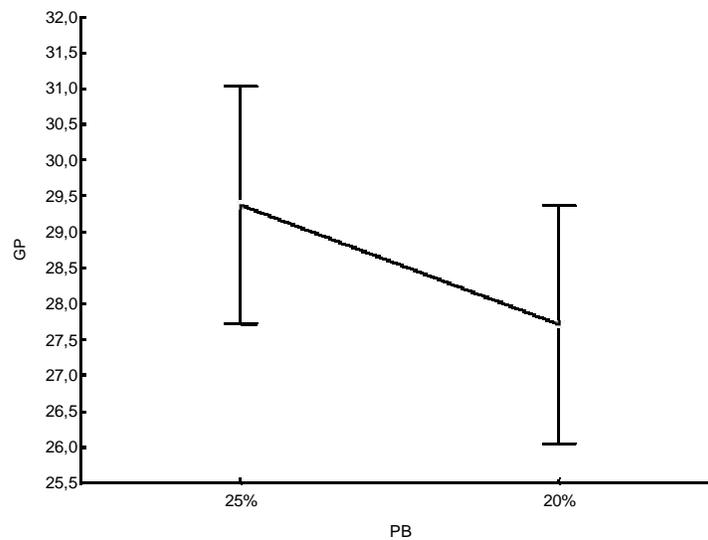


Figura 2. Ganho de peso dos juvenis de tambaqui em relação aos níveis protéicos (25% e 20% de PB)

$p = 0,15$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DI-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DI-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração).

Resultados semelhantes foram encontrados por Furuya *et al* (2004a), ao trabalharem com tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação ($117,9 \pm 0,67$ g), onde foi observado efeito quadrático ($p < 0,05$) sobre o ganho de peso, quando os teores de lisina corresponderam a 5,7% da proteína bruta, resultando em maior valor para esta variável.

Neste trabalho não se confirmou a afirmação de Furuya, *et al* (2004b), em estudo com alevinos de tilápia-do-nilo, os quais, relataram que o aumento na suplementação de aminoácidos sulfurados, resultou em efeito quadrático ($p < 0,05$) sobre o ganho de peso, sendo estimado o valor de 1,22% (1,20% de metionina + cistina), correspondendo a 4,32% de metionina + cistina em relação à proteína bruta como o valor que proporcionou o maior ganho de peso.

As conversões alimentares aparentes (CAA) não apresentaram diferenças significativas diante dos níveis protéicos testados ($p > 0,05$). No que diz respeito à suplementação, as dietas suplementadas com DL-metionina também não apresentaram diferença em relação à dieta sem suplementação. Porém, nos tratamentos submetidos à suplementação com L-lisina e L-lisina + DL – metionina foi observada melhora na conversão alimentar ($p < 0,05$) (Figura 3).

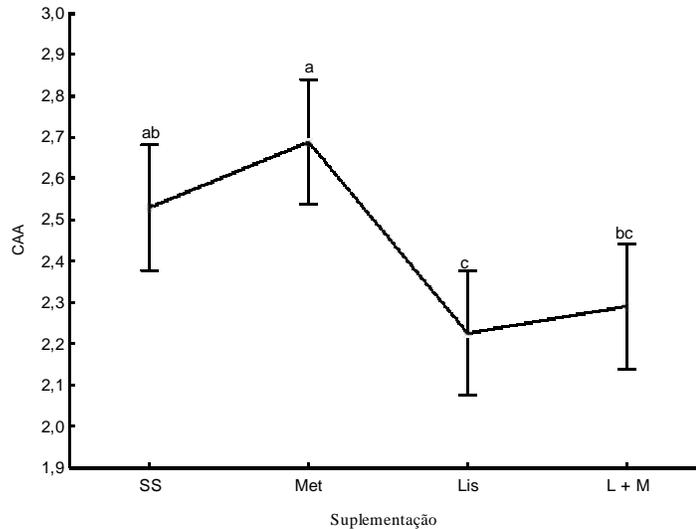


Figura 3. Relação: Conversão alimentar aparente em relação com os níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui.

$p = 0,001$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DI-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DI-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração).

Muñoz-Ramirez & Carneiro (2002), ao trabalharem com suplementação de lisina e metionina em dietas com baixo nível protéico (22%) para pacu, *Piaractus mesopotamicus*, não observaram diferenças significativas ($p > 0,05$), para os resultados de conversão alimentar, taxa de crescimento específico e índice de consumo entre os tratamentos. Porém, as médias de ganho em peso, consumo diário de proteína bruta e consumo de lisina obtidas no tratamento com 26% de PB, foram significativamente maiores ($p < 0,05$) que os demais que continham 22%.

Lazo *et al.* (1998) atribuem às fracas conversões alimentares do pampo da Flórida, *Trachinotus carolinus*, a uma alta demanda metabólica ou a baixa digestibilidade da ração. Tanto os juvenis de pampo da Flórida quanto os juvenis de tambaqui estão em uma fase de desenvolvimento onde a síntese de tecidos é intensa, o crescimento é acelerado e a necessidade por nutrientes e energia é normalmente alta, diminuindo à

medida que crescem (Lovell, 1989). Entretanto é provável que a digestibilidade das rações tenha influenciado os resultados encontrados para o tambaqui, tendo em vista que os hábitos alimentares das duas espécies são diferentes, mas esta é uma suposição que necessita ser testada.

As taxas de crescimento específico (TCE) não sofreram influência dos níveis protéicos ($p > 0,05$). Porém, quando os níveis de suplementação foram testados, foi observada diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) que continham lisina suplementar e lisina + metionina, os quais apresentaram uma tendência para valores mais altos deste parâmetro.

Por outro lado, as dietas contendo somente suplementação de metionina não diferiram das dietas sem suplementação, sugerindo que a quantidade de metionina suplementada (3 % da PB) deverá ser testada em outros percentuais para o tambaqui ($p < 0,05$) (Figura 4).

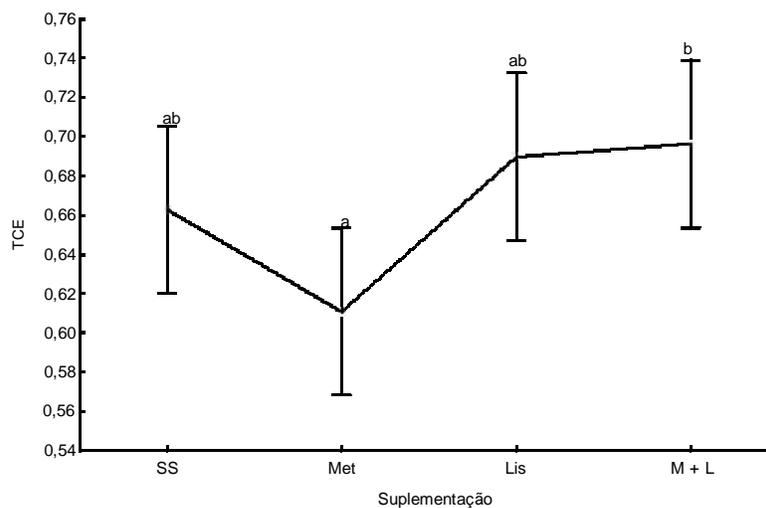


Figura 4. Relação da Taxa de Crescimento Específico com os níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui.

$p = 0,03$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DI-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DI-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração)

A taxa de eficiência protéica (TEP) diferiu significativamente ($p < 0,05$), tanto para os níveis protéicos, quanto para a suplementação de aminoácidos. Em relação ao nível protéico os valores médios mais altos ocorreram nas dietas contendo 20% de PB (Figura 5). Para a suplementação de aminoácidos, foram observados valores médios mais altos nas dietas contendo lisina e metionina + lisina. No entanto, a dieta suplementada com metionina, não diferiu significativamente das dietas sem suplementação (Figura 6).

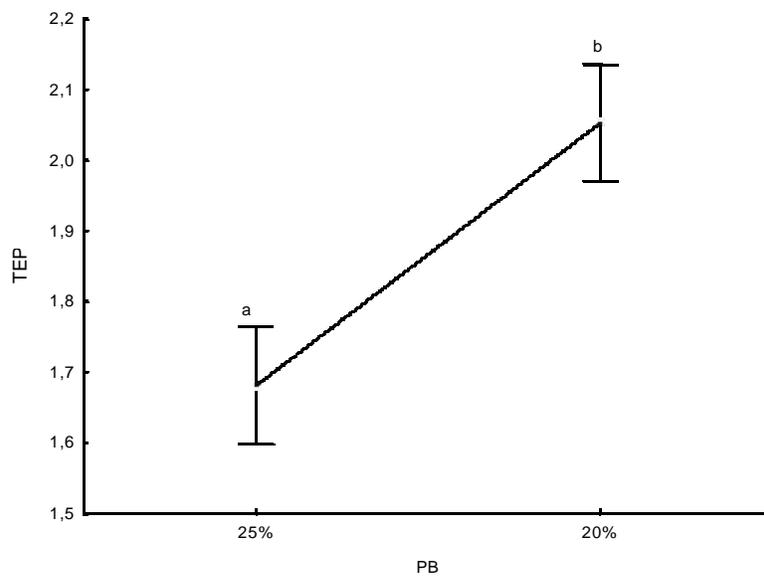


Figura 5. Relação Taxa de Eficiência Protéica com os níveis protéicos testados em rações de juvenis de tambaqui.

$p = 0$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DL-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DL-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração)

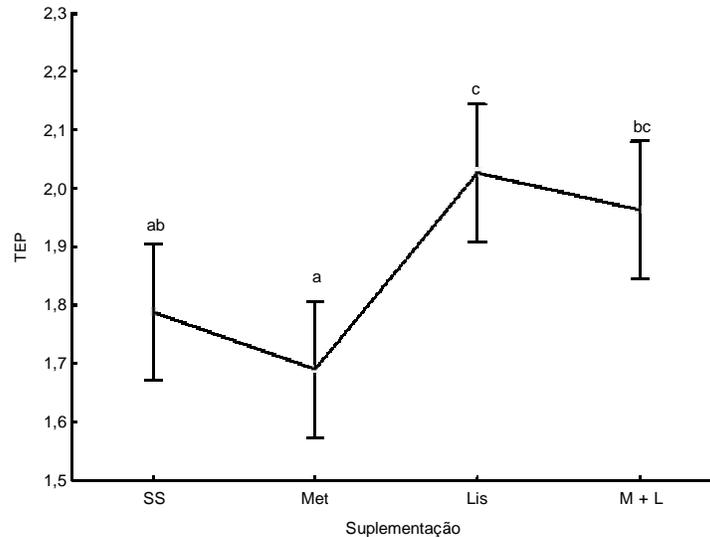


Figura 6. Relação: Taxa de Eficiência Protéica com os níveis de suplementação de aminoácidos em rações de juvenis de tambaqui..

$p = 0,001$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DL-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DL-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração).

Resultados semelhantes foram encontrados por Furuya *et al.* (1996, 2005), ao trabalharem com exigências de proteína bruta para juvenis de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, os quais, relatam que o aumento no conteúdo de proteína bruta resulta em diminuição linear na taxa de eficiência protéica (TEP). Esses resultados corroboram o estudo de Chou *et al.* (2001), que encontraram resultados similares trabalhando com cobia, *Rachycentron canadum*. Os resultados da TEP encontrados neste estudo permitem inferir que o tambaqui otimiza este parâmetro ao suplementar a ração com lisina.

A utilização líquida de proteína (ULP) não apresentou diferença ($p < 0,05$) quanto aos níveis de proteína na dieta e aos níveis de suplementação testados. No entanto, pode-se observar uma tendência à redução deste parâmetro quando o teor protéico aumenta (Figura 7).

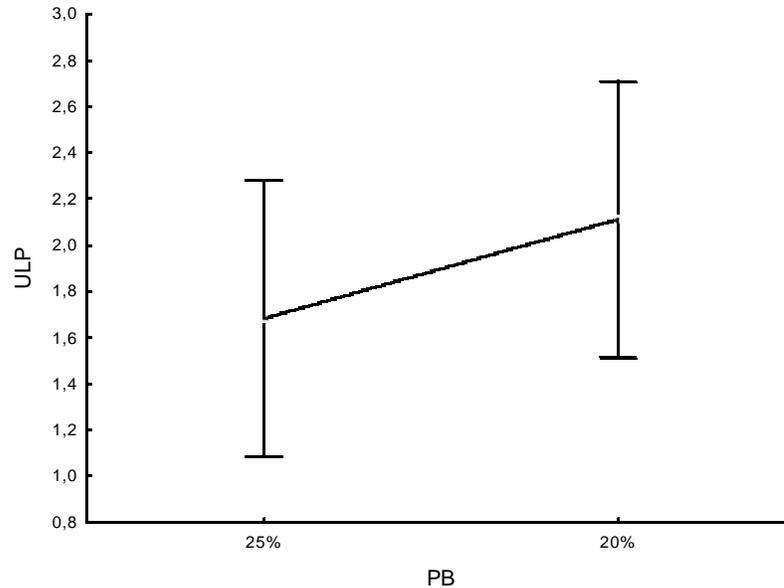


Figura 7. Relação: Utilização Líquida de Proteína com os níveis de proteína testados em rações de juvenis de tambaqui.

$p=0,29$ As barras denotam um intervalo de confiança de 95%. SS – sem suplementação (0% da PB da ração) ; Met – DL-metionina (3% da PB da ração) ; Lis – L-lisina (5% da PB da ração) ; M + L – DL-metionina (3% da PB da ração) + L-lisina (5% da PB da ração)

De acordo com Forster (2000), respostas fisiológicas como crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência necessitam de tempo para serem expressas pelos diferentes tratamentos a que os peixes são expostos, e provavelmente, diferenças poderiam ser encontradas em um intervalo de tempo mais longo.

As análises de carcaça de peixes dos 8 tratamentos não revelaram diferenças significativas ($P>0,05$) para os teores de cinzas (CZ), umidade (UM), lipídios (LP), proteína (PB) tanto para os níveis protéicos quanto para suplementação de aminoácidos.. Contudo pode-se observar uma tendência de valores médios mais altos de proteína na carcaça, nos tratamentos de 20% de PB e suplementados com lisina e metionina + lisina (Tabela 5).

Tabela 5. Análise centesimal das carcaças de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, submetidos aos oito tratamentos (Valores médios \pm desvio padrão)

Tratamentos	CZ*	EE*	PB*
Inicial	2,60 \pm 0,21	5,68 \pm 0,3	13,89 \pm 0,12
28% SS	2,91 \pm 0,30	9,46 \pm 1,49	11,65 \pm 0,07
28% Met	2,51 \pm 1,03	7,95 \pm 0,92	11,42 \pm 0,91
28% Lis	2,69 \pm 0,37	9,48 \pm 0,79	12,15 \pm 0,92
28% M + L	2,16 \pm 0,65	8,26 \pm 0,91	12,37 \pm 0,55
22% SS	2,39 \pm 0,55	9,24 \pm 1,41	12,33 \pm 0,42
22% Met	3,11 \pm 0,17	10,36 \pm 0,88	12,65 \pm 0,07
22% Lis	2,78 \pm 0,06	8,84 \pm 0,54	13,05 \pm 0,64
22% M + L	2,19 \pm 0,48	9,26 \pm 0,49	12,83 \pm 1,00

* Dados calculados em peso úmido. Inicial = Análise centesimal dos tambaquês no início do experimento. CZ = Cinzas; EE = Extrato etéreo; PB = Proteína bruta;

3.2. Amônia

Segundo Cole & Boyd (1986), é possível que níveis críticos de amônia não ionizada interfiram negativamente no apetite e no crescimento dos peixes, o que não foi observado neste trabalho.

Os resultados de amônia total (mg/l) não obedeceram ao princípio da esfericidade proposto pelo teste de Mauchly. Deste modo, foi utilizado o teste multivariado de Greenhouse & Geisser (1959), o qual ajustou e corrigiu os graus de liberdade e os valores de p.

As taxas médias de amônia total apresentaram diferença ($p < 0,05$) para os dois níveis de proteína e para a interação destes níveis protéicos com o horário (Figura 8). Pode-se observar que após 12 horas, os valores de excreção de amônia total nos tratamentos contendo 25% de proteína bruta eram de 0,88 mg/l, enquanto que para os

tratamentos contendo 20% de proteína bruta os valores de excreção de amônia total eram de 0,63 mg/l, ou seja, uma redução de 28,40 %.

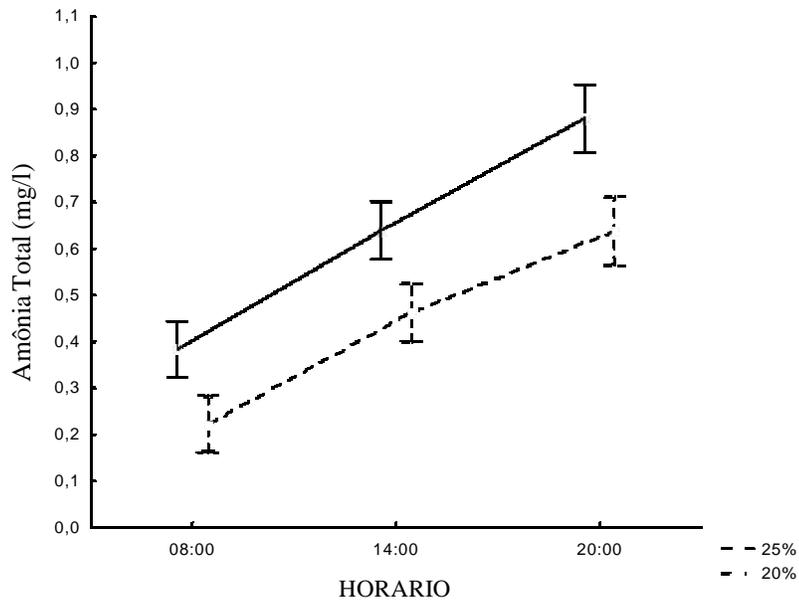


Figura 8. Interação: Taxas médias de amônia total mg/l x Níveis protéicos x Horário de amostragem.

* $p = 0,004$ (valor ajustado por GG). As barras denotam um intervalo de confiança de 95%

No presente estudo, dietas com nível mais alto de proteína bruta resultaram em maiores taxas de amônia total na água, o que está de acordo com trabalhos de outros autores (Rychly, 1980; Chakraborty et al. 1992).

Por outro lado, as taxa médias de amônia total não apresentaram diferença ($p > 0,05$) quando a ração foi suplementada ou não com lisina e/ou metionina (Figura 9).

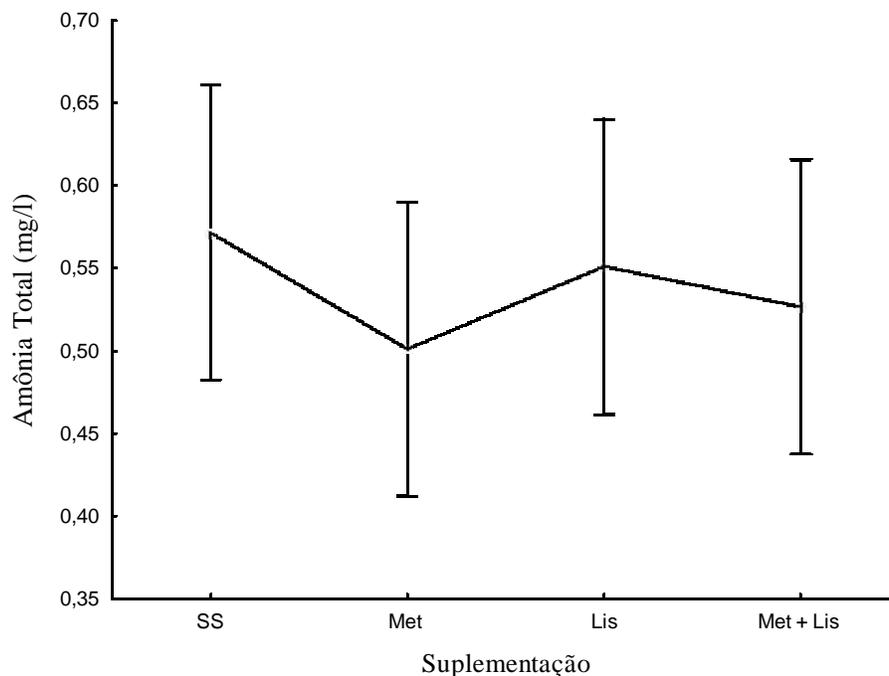


Figura 9. Relação: Taxas médias de amônia total mg/l x Níveis de suplementação de aminoácidos em rações e juvenis de tambaqui.

$p = 0,58$. As barras denotam um intervalo de confiança de 95% (SS – sem suplementação (0% da PB); Met – DI-metionina (3% da PB) ; Lis – L-lisina (5% da PB) ; M + L – DI-metionina (3% da PB) + L-lisina (5% da PB)

Analisando-se estes resultados pode-se observar que os mesmos foram similares aos encontrados por Cheng *et al.* (2003) trabalhando com truta arco-íris, concluindo que ao diminuir a quantidade de proteína bruta de 42% para 37%, a excreção total de amônia decaiu em 12%, o que corrobora a afirmação de que as taxas de excreção de amônia em teleósteos estão diretamente relacionadas à ingestão de proteína e nitrogênio contidos na dieta. (Kaushik & Cowey, 1990).

Viola & Lahav (1991) reportam que ao alimentar carpa comum com dietas contendo 25% de PB suplementada com 0,5% de lisina, obtiveram reduções de excreção

de amônia e fósforo total por unidade de ganho de peso de 20% e 10% respectivamente, quando comparado com os peixes alimentados com ração contendo 30% de PB.

Viola *et al.* (1992) enfatizam que a redução da proteína bruta da dieta de 30% para 25% suplementada com 0,5% de lisina mais 0,3% de metionina, para carpa comum, reduz a excreção de nitrogênio em 20%.

Furuya *et al.* (2005), ao trabalhar com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) observaram que o incremento dos níveis de proteína na dieta resultou em um aumento linear ($p < 0,05$) nos níveis de nitrogênio excretado pelos peixes. Porém, neste mesmo estudo, de acordo com os dados obtidos de retenção de carcaça, foi possível inferir que a utilização de aminoácidos sintéticos possibilitou uma redução na excreção de nitrogênio, o que difere dos resultados obtidos neste trabalho.

Em geral, neste estudo a menor utilização dos aminoácidos suplementares pode ser explicada pela adoção de apenas dois arraçoamentos diários. O aumento da frequência alimentar diária poderia ter proporcionado a melhor utilização dos aminoácidos necessários para a síntese protéica. De acordo com Tantikitti & March (1995) e Rodehutschord *et al.* (2000), o fornecimento restrito de ração e aumento da frequência alimentar diária (e.g. intervalos de 3 horas) evita a rápida elevação nos níveis plasmáticos de aminoácidos livres, proporcionando melhor eficiência da retenção protéica.

Tibaldi *et al.*, (1994) relataram que os níveis de aminoácidos no sangue de alevinos de seabass, *Dicentrarchus labrax*, permaneceram estáveis quando oito refeições diárias foram fornecidas, o que resultou em melhor utilização dos aminoácidos cristalinos e crescimento dos alevinos. Zarate & Lovell (1997) constataram perda de 13% da lisina sintética da ração após 15 segundos de contato do grânulo com a água, enquanto foram

perdidos apenas 2% da lisina ligada à proteína. Para evitar a lixiviação de aminoácidos cristalinos, Tibaldi *et al.* (1991), Berge *et al.* (1997) e Rollin *et al.* (2003) recomendam o uso de caseína ou ágar como revestimento, retardando assim a absorção dos aminoácidos cristalinos no sistema digestivo dos peixes.

A redução dos níveis de proteína em rações para peixes é de extrema importância para minimizar a quantidade de nitrogênio na água. Isso ocorre principalmente em sistemas intensivos de criação que trabalham com altas densidades e conseqüentemente dependem de dietas balanceadas. Os resultados obtidos neste estudo demonstram ser possível utilizar uma ração com menor impacto ambiental, com um nível protéico de 20% para juvenis de tambaqui, por outro lado, não se pode afirmar que os níveis de suplementação influenciaram nos valores médios de excreção de amônia total. Todavia, para os índices de desempenho, os juvenis de tambaqui alimentados com dieta suplementada com L-lisina (5% da PB) apresentaram melhores resultados.

4. CONCLUSÃO

A diminuição do teor de proteína bruta, de 25 para 20%, nas rações de juvenis de tambaqui resultou em diminuição da excreção de resíduos nitrogenados na água sem, contudo, afetar significativamente o desempenho dos peixes que apresentaram melhores índices apenas com a suplementação das rações com L-lisina (5% da PB), indicando que esta estratégia pode ser uma alternativa para diminuir o impacto ambiental dos sistemas de criação intensiva desta espécie.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, I.; Khan, M.A., 2004. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture*, 235: 499-511.
- Alceste, C.C.; Jory, D.E. 2000. Tilápia – Alternative protein sources in tilapia feed formulation. *Aquaculture Management*, 26 (4).
- A.O.A.C. 1995. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 17^a. ed. 1141p.
- Araújo-Lima, C.; Goulding, M. 1998. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Sociedade Civil Mamirauá/CNPq. Tefé, AM. 187 p.
- Avnimelech, Y.; Lacher, M. 1979. A tentative nutrient balance for intensive fish ponds. *Bamidgeh* 31: 3-8.
- Berge, G.E.; Lied, E.; Sveier, H. 1997. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*), the requirement and metabolism of arginine. *Comparative Biochemistry and Physiology*. v.117, p. 501-509.
- Carter, C. G., Hauler, R. C. 1999. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. School of Aquaculture, Univ. Of Tasmania, Launceston, Australia.
- Chakraborty, S.C., Ross, L.G., Ross, B. 1992. The effect of dietary protein level and ration level on excretion of ammonia in common carp. *Comp. Biochem. Physiol.* 103A, 801-808.
- Cheng, Z.J.; Hardy, R. W.; Ursy, J. L. 2003. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

- diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. *Aquaculture*, 218: 553-565.
- Chou, R. L.; Su, M. S. & Chen, H. Y. 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 193: 81-89.
- Cole, B.A.; Boyd, C.E. 1986. Feeding rate, water quality, and channel catfish production in ponds. *Prog. Fish Cult.*, 48: 25-29.
- Cowey, C.B.; Cho, C.Y.; Sivak, J.G.; Weerheim, J.A.; Suar, D.D. 1992. Methionine intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), relationship to cataract formation and the metabolism of methionine. *J. Nutr.*, 122: 1154-1163.
- Encarnação, P.; Bureau, D.P. 2001. Essential amino acids requirements of fish: a matter of controversy. *Internacional Aqua Feed*. Issue 1.
- English, W.R.; Schwedler, T.E.; Dyck, L.A. 1993. *Aphanizomenon flos-aquae*, a toxic blue green alga in commercial channel catfish, *Ictalurus punctatus*, ponds: a case history. *Journal of applied Aquaculture*, 3: 195-209.
- FAO. 2004. *El Estado Mundial de la pesca y la acuicultura*. Parte 1. Examen mundial de la pesca y la acuicultura.
- Forster, I. 2000. Nutrient Requirements. *In*: Stickney, R.R. (Ed.) *Encyclopedia aquaculture*. John Wiley & Sons Inc. New York, NY, USA. p. 592-600.
- Francis, G.; Makkar, H.P.S.; Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199: 197-227.

- Furuya, W.M.; Hayashi, C.; Furuya, V.R.B. et al. 1996. Exigência de proteína para machos revertidos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase juvenil. Revista Unimar, v.18, n.2, p. 307-319.
- Furuya, W.M.; Botaro, D.; Neves, P.R.; Silva, L.C.R.; Hayashi, C. 2004a. Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. Ciência Rural, 34 (5): 1571-1577.
- Furuya, W. M. Silva L.C.; Neves, P.R.; Botaro, D.; Hayashi C.; Sakaguti, E. S.; Furuya, V.R.B. 2004b. Exigência de metionina + cistina para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Ciência Rural, Santa Maria, 34 (6): 1933-1937.
- Furuya, W.M.; Botaro, D.; Macedo, R.M.; Dos Santos, V.G.; Silva, L.C.; Silva, T.; Furuya, V.R.; Sales, P.J. 2005. Aplicação do Conceito de Proteína Ideal para Redução dos Níveis de Proteína e Dietas para tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). R. Bras. Zootc., v.34, n.5, p. 1433-1441.
- Graef, E.W. 1995. As espécies de peixes com potencial para criação no Amazonas. In: Val, A.L.; Honczaryk, A. (Eds.). Criando peixes na Amazônia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Manaus, AM. p. 29-43.
- Green B. W.; Boyd, C. E. 1995. Chemical budgets for organically fertilized ponds in the dry tropic. *Journal of the world Aquaculture Society*, 26: 284-296.
- Greenhouse, S.W. & Geisser, S. 1959. On methods in the analysis of profile data. *Psychometrika* 24 (2): 95-112.
- Hargreaves, J. A. 1995. A simulation model of ammonia dynamics in commercial catfish ponds in the southeastern United States. *Aquacultural Engineering*, 16: 27-43.

- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. 2000. Estatística da Pesca 1998 Brasil: Grandes Regiões e Unidades da Federação. Tamandaré: Centro de Pesquisa e Extensão Pesqueira do Nordeste – CEPENE, 96 p.
- Ismirño-Orbe, R.A.; Araújo-Lima, C.A.R.M.; Gomes, L.C. 2003. Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.38, n.10, p. 1243-1247.
- Jobling, M. 1994. Fish bioenergetics. London: Chapman & Hall, 294 p.
- Jobling, M.; Gomes, E.; Dias, J. 2001. Feed types, manufacture and ingredients. In: Houlihan, D.; Boujard, T.; Jobling, M. (Ed.). Food intake in fish. Oxford: Blackwell Science, p. 25-48.
- Kaushik, S. J., Cowey, C. B., 1990. Dietary factors affecting nitrogen excretion by fish. In: Cowey, C. B., Cho, C. Y. (Eds.), Nutritional Strategies and Aquaculture Waste, Ontario, 5-8 June, University of Guelf, Canada. p. 3-19.
- Kubitza, F. 2003. Qualidade do alimento e qualidade da água. In: Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões / Fernando Kubitza. Jundiaí. 229p.
- Lazo, J.P.; Davis, D.A. & Arnold, C.R. 1998. The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *Aquaculture*, 169: 225-232.
- Lovell, T. 1989. Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold. New York, USA. 260 p.
- Mai, K.; Zhang, L.; Ai, Q.; Duan, Q.; Zhang, C.; Li, H.; Wan, J.; Liufu, Z. 2006. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* (no prelo).

- Munoz-Ramirez, A. P. M.; Carneiro, D. J. 2002. Suplementação de Lisina e Metionina em Dietas com Baixo nível Protéico para o Crescimento Inicial do Pacu, *Piaractus mesopotamicus*. *Acta Scientiarum*, 24 (4): 909-916.
- Naylor, R. L.; Goldberg, R. J.; Primavera, J. H.; Kautsky, N.; Beveridge, M. C. M.; Clay, J.; Folks, C.; Lubchenco, J.; Mooney, H.; Troell, M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405(6790):1017-1024.
- NRC - National Research Council. 1993. Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes. Washington: National Academy, 102p.
- Oláh, J.; Pekar, E & Szabo. 1994. Nitrogen cycling and retention in fish-cum-livestock ponds. *Journal of Applied Ichthyology*, 10: 341-348.
- Oliveira, A.M.B.M.S.; Conte, L.; Cyrino, J.E.P. 2004. Produção de Characiformes autóctones. In: Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva / Ed. José Eurico Possebon Cyrino. *et al.* São Paulo: TecArt.
- Pezzato, L. E. 1997. O Estabelecimento das Exigências Nutricionais das Espécies de Peixes Cultivadas. Anais do Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Peixes. Piracicaba, SP.
- Poston, H. A. 1986. Response of rainbow trout to source and level of supplemental dietary methionine. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83A: 739-744.
- Richie, M.; Brown, P.B. 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 142: 269-282.
- Rodehutschord, M.; Borchert, F.; Gregus, Z.; Pack, M.; Pfeffer, E. 2000. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Effect of dietary crude protein level. *Aquaculture*, 187: 163-176.

- Rollin, X.; Mambrini, M.; Abboudi, T.; Larondelle, Y.; Kaushik, S.J. 2003. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *British Journal of Nutrition*, 90: 865-876.
- Ruchimat, T.; Masumoto, T.; Hosokawa, H.; Shimeno, S. 1997. Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 150: 113-122.
- Rychly, J., 1980. Nitrogen balance in trout: II. Nitrogen excretion and retention after feeding diets with varying protein and carbohydrate levels. *Aquaculture*, 20, 343-350.
- Saint-Paul, U. 1986. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, 54: 205-240.
- Schroeder, G. L. 1987. Carbon and nitrogen budgets in manured fish ponds on Israel's coastal plain. *Aquaculture*, 62: 259-279.
- Soderberg, R. W. 1994. *Flowing water fish culture*. Boca Raton: CRC Press, 147 p.
- Storebakken, T.; Refstie, S.; Ruyter, B. 2000. Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. IN: Drackley, J.K. (Ed), *Soy in Animal Nutrition*. Fed Anim. Sci. Sco., Savoy, II, USA, p. 127-170.
- Tantikitti, C.; March, B.E. 1995. Dynamics of plasma free amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under variety of dietary conditions. *Fish Physiology Biochemistry*, 14: 179-194.
- Thoman, E.S.; Davis, D.A.; Arnold, C.R. 1999. Evaluation of growout diets with varying protein and energy levels for red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 176: 343-353.

- Tibaldi, E.; Lanai, D. 1991. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed semipurified diets. *Aquaculture*, 95: 297-304.
- Tibaldi, E. Tulli, F.; Lanari, D. 1994. Arginine requirement and effect of different dietary arginine and lysine levels for fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) *Aquaculture*, 127: 207-218.
- Tomasso, J. R. 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. Reviews in Fisheries Science, 2 (1): 291-314.
- Van Der Meer, M. B.; Huisman, E. A.; Verdegem, M. C. J. 1996. Feed consumption, growth and protein utilization of *Colossoma macropomum* (Cuvier) at different dietary soya meal/ fish meal ratios. *Aquaculture Research*, 27: 531-538.
- Van Der Meer, M. B.; Faber, R.; Zamora, J. E.; Verdegem, M. C. J. 1997. Effect of feeding level on feed losses and feed utilization of soya and fish meal diets in *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, 28: 391-403.
- Van Der Ploeg, M.; Tucker, C. S. 1994. Seasonal trends in flavor quality of channel catfish. *Ictalurus punctatus*, from commercial ponds in Mississippi. *Journal of Applied Aquaculture*, 3: 121-140.
- Viola, S., Lahav, E., 1991. Effects of lysine supplementation in practical carp feeds on total protein sparing and reduction of pollution. *Isr. J. Aquac.-Bamidgeh* 43, 112-118.
- Viola, S., Lahav, E., Angeoni, H., 1992. Reduction of feed protein levels and of nitrogenous N-excretions by lysine supplementation in intensive carp culture. *Aquat. Living Resour.*, 5: 277-285.

- Walton, M.J.; Cowey, C.B.; Adron, J.W., 1984. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Br. J. Nutr., 52: 115-122.
- Wang, S.; Liu, Y.J.; Tian, L.X.; Xie, M.Q.; Yang, H.J.; Wang, Y.; Liang, G.Y. 2005. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, 249: 419-429.
- Westers, H. 2001. Production. In: Wedemeyer, G. A. (Ed.). Fish hatchery management. 2nd ed. Bethesda: American fisheries Society, 31-90.
- Zarate, D.D.; Lovell, R.T. 1997. Free lysine (L-lysin – HCl) 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.