

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

SAMUEL DE ASSIS PRADO

**EXIGÊNCIA DE LISINA DE JUVENIS DE SURUBIM (*Pseudoplatystoma
spp*)**

BELO HORIZONTE
2011

SAMUEL DE ASSIS PRADO

EXIGÊNCIA DE LISINA DE JUVENIS DE SURUBIM (*Pseudoplatystoma spp*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Prof. Orientador: Edgar de A. Teixeira

Coorientador: Alexandre B. de Sousa

**BELO HORIZONTE
2011**

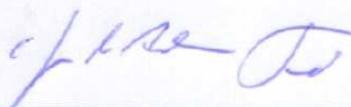
P896e Prado, Samuel de Assis, 1984-
Exigência de lisina de juvenis de surubim (*Pseudoplatystoma spp*) / Samuel de Assis Prado. – 2011.
38 p. : il.

Orientador: Edgar de Alencar Teixeira
Co-orientador: Alexandre Benvindo de Sousa
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

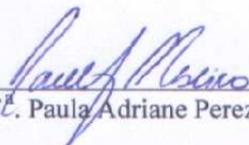
1. Surubim (Peixe) – Alimentação e rações – Teses. 2. Lisina na nutrição animal – Teses. 3. Aminoácidos na nutrição animal – Teses. 4. Produção animal – Teses.
I. Teixeira, Edgar de Alencar. II. Sousa, Alexandre Benvindo de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – 639.3

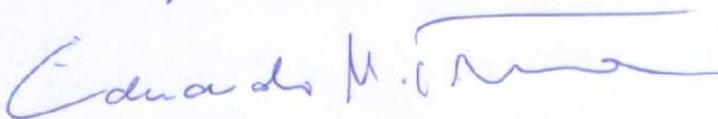
Dissertação defendida e aprovada em 29 de janeiro de 2011 pela Comissão Examinadora composta por:



Prof. Edgar de Alencar Teixeira
(Orientador)



Prof. Paula Adriane Perez Ribeiro



Prof. Eduardo Maldonado Turra

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Prado e Mariinha, que sempre foram meus exemplos.
Aos meus irmãos Tiago e Sara, pelo apoio.
Aos meus amigos, pela paciência e confiança.

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade da realização de um sonho, que me fez crescer como pessoa e profissional.

Ao Professor Edgar de Alencar Teixeira, pelos ensinamentos, apoio, dedicação, confiança durante estes dois anos.

Aos Professores Alexandre Benvindo de Sousa, Eduardo Maldonado Turra e Paula Adriane Perez Ribeiro, pela orientação e apoio quando precisei.

Ao professor Lincoln Pimentel Ribeiro, pela luta e dedicação ao longo dos anos que resultaram no LAQUA, o mais completo laboratório de pesquisa em aquicultura do país

À CAPES/REUNI pela bolsa de Mestrado.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Aos membros da banca examinadora, pela importante contribuição nesse trabalho e pelas sugestões apresentadas.

Aos funcionários e alunos de graduação e pós-graduação que estão ou estiveram no LAQUA durante os meus dois anos de mestrado.

À equipe do Colegiado de Pós-graduação, pela prestabilidade e atenção.

À todos os colegas de pós-graduação que sempre se dispuseram a servir.

Expresso meu agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram na realização desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 O SURUBIM.....	12
2.2. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE PEIXES.....	13
2.2.1. EXIGÊNCIAS DE PROTEÍNA.....	14
2.2.2. Exigências de aminoácidos.....	14
2.3. METODOLOGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE EXIGÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS.....	16
2.3.1. MÉTODO DOSE-RESPOSTA.....	16
2.3.2. UTILIZAÇÃO DOS DADOS DE CARCAÇA – RELAÇÃO ENTRE OS AMINOÁCIDOS E O CONCEITO DA PROTEÍNA IDEAL.....	16
2.4. FORMULAÇÃO DE DIETAS EXPERIMENTAIS.....	17
2.4.1. DIETAS PURIFICADAS E SEMIPURIFICADAS.....	18
2.4.2. DIETAS PRÁTICAS.....	19
2.5. NUTRIÇÃO E ESTRESSE.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	20
3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	21
3.3. DIETAS EXPERIMENTAIS.....	21
3.4. VARIÁVEIS AVALIADAS.....	23
3.5. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	23
3.6. ANÁLISES DE QUALIDADE DE ÁGUA.....	24
3.7. AVALIAÇÃO DOS DADOS.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÕES.....	32
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Inclusão de ingredientes em dietas referência purificadas (%).....	11
Tabela 2 -	Formulação e composição bromatológica das dietas experimentais, na matéria natural.....	15
Tabela 3 -	Valores médios de Ganho de Peso (GP), Ganho de Peso Médio (GPM), Consumo, Conversão Alimentar (CA), Taxa de Eficiência Protéica (TEP) e sobrevivência e seus desvios obtidos com as diferentes dietas.....	18
Tabela 4 -	Proteína Bruta (PB), Energia Bruta (EB), Extrato Etéreo (EE) e Cinzas, com seus respectivos desvios, obtidos com as diferentes dietas.....	22
Tabela 5 -	Valores obtidos de proteína total sérica e glicose sanguínea de surubins alimentados com diferentes níveis de lisina na dieta.....	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ganho de peso de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	27
Figura 2 -	Ganho de peso de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	27
Figura 3 -	Consumo de ração de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	28
Figura 4 -	Conversão alimentar de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	28
Figura 5 -	Taxa de eficiência protéica de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	28
Figura 6 -	% de Proteína bruta na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	30
Figura 7 -	Energia bruta na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	30
Figura 8 -	% de Extrato etéreo na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	31
Figura 9 -	% de Cinzas na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	31
Figura 10 -	Nível de glicose no sangue de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	32

RESUMO

Na piscicultura, o conhecimento das exigências nutricionais, sobretudo exigências de aminoácidos, é vital para o sucesso econômico da atividade. O objetivo deste trabalho foi determinar a exigência de lisina para juvenis de surubim (*Pseudoplatystoma* spp), utilizando o conceito das relações entre os aminoácidos. Foram utilizados 600 juvenis de surubim pesando em média $38,2 \pm 1,53$ distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de polipropileno de 400 litros de capacidade. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (níveis de lisina) e quatro repetições, sendo considerada uma unidade experimental um tanque de 400 litros, com 30 peixes. Os dados coletados foram submetidos à ANOVA para verificar a significância dos modelos propostos. A partir dos resultados de ganho de peso, ganho de peso médio, consumo, conversão alimentar, taxa de eficiência protéica e sobrevivência, além dos níveis de proteína bruta, extrato etéreo, energia bruta, cinzas na carcaça, proteína total e glicose sanguínea, foram geradas equações de regressão para estimar a exigência de lisina. Com exceção do ganho de peso médio e proteína total sérica, todas as variáveis, tanto as de desempenho, quanto as de composição de carcaça, tiveram efeito linear, indicando o nível mais alto testado (2,75% de lisina), como o que proporciona os melhores resultados. O aumento dos níveis de lisina interferiu significativamente e de forma linear nas variáveis testadas. O nível mais alto foi o que promoveu os melhores resultados.

Palavras chave: surubim, *Pseudoplatystoma* spp, exigências de aminoácidos, nutrição de peixes, lisina, sistema de recirculação de água.

ABSTRACT

*The determination of nutritional requirements, especially the amino acids requirements, is capital to the economical success of modern aquaculture. The aim of this study was determinate the lysine requirement of surubim (*Pseudoplatystoma* spp) juvenile. Six hundred surubim juvenile weighting $38,2 \pm 1,53$ was randomly placed in twenty 400 liters tanks. The experimental design was entirely randomized with five lysine levels and four replicates. Each tank containing 30 fish was considered an experimental unit. Data was submitted to ANOVA to verify the significance of the regression models suggested using the statistical software SAEG (Universidade Federal de Viçosa). In the attempt to determinate the lysine requirement, results of weight gain, average weight gain, feed consumption, feed conversion, protein efficiency rate, beyond the levels of crude protein, fat, crude energy and ash on the carcass, where used to obtain regression equations. Except for the average weight gain all the analyzed parameters where significant for the linear effect, indicating the higher level as the one that gives the best results. Tested parameters where significantly affected by increasing dietary lysine levels. The best results where promoted by the higher lysine diet.*

Keywords: surubim, *Pseudoplatystoma* spp, amino acid requirement, fish nutrition, lysine, recirculation aquaculture system.

1. INTRODUÇÃO:

A nutrição possui grande importância econômica na aquicultura, pois os custos de alimentação representam mais de 60% dos custos totais de produção. O objetivo principal da nutrição na aquicultura é formular dietas que sustentem uma máxima produção no menor custo possível. (HARDY E BARROWS, 2002; ÁRNASON *et al.*, 2010).

Com um crescimento anual médio de 8,7%, a aquicultura é o setor de produção animal que mais cresce no mundo (SOFIA, 2008).

Para que a aquicultura sustente altas taxas anuais de crescimento e se estabeleça como importante setor do agronegócio mundial, pesquisas nas áreas da nutrição, sanidade, melhoramento genético e limnologia, são indispensáveis.

O conhecimento das exigências nutricionais de cada espécie é fundamental para a formulação de dietas de custo mínimo e que promovam o desempenho produtivo máximo.

Existem diversos estudos avaliando as exigências nutricionais de vários nutrientes para várias espécies de peixes cultivados no mundo. Para espécies nativas do Brasil este tipo de informação ainda é escasso e as dietas comerciais existentes para estas espécies são formuladas utilizando dados de outras espécies (PEZZATO, 1995).

Esta realidade se aplica aos surubins (*Pseudoplatystoma spp.*) espécies de alto valor comercial que vem sendo cultivadas em alguns lugares do Brasil, porém muito poucas informações a respeito de sua fisiologia e exigências nutricionais estão disponíveis (CAMPOS *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho foi determinar a exigência de lisina para juvenis de surubim, através de variáveis de desempenho, utilizando o conceito da relação entre os aminoácidos composição de carcaça e da bioquímica sanguínea.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O SURUBIM

O gênero *Pseudoplatystoma* compreende os maiores peixes da família Pimelodidae, da ordem dos Siluriformes, e estes podem ser encontrados nas principais bacias hidrográficas sul-americanas, regionalmente conhecidos como “surubins” (ROMAGOSA *et al.*, 2003).

Acreditava-se que este gênero era composto por três espécies: *Pseudoplatystoma coruscans* originário das bacias do rio São Francisco e do rio da Prata; *Pseudoplatystoma fasciatum* da bacia do rio do Prata e da bacia Amazônica e o *Pseudoplatystoma tigrinum*, da bacia Amazônica.

Estudos taxonômicos realizados por Buitrago-Suárez e Burr (2007) concluíram que o gênero é composto por oito espécies. Este estudo demonstrou que o peixe conhecido como *P. fasciatum* na verdade é composto por cinco espécies: *P. fasciatum*, *P. punctifer*, *P. orinocoense*, *P. magdaleniatum* e *P. reticulatum*. O *P. tigrinum* foi dividido em *P. tigrinum* e *P. metaense*. Ficou também demonstrado que os *P. coruscans*, das Bacias do Prata e do São Francisco, fazem parte de mesma população.

Os “surubins” são peixes de alto valor comercial devido ao seu sabor agradável, carne de cor branca, baixo teor de lipídios e ausência de espinhas intramusculares (MARTINO *et al.*, 2003; ROMAGOSA *et al.*, 2003).

A produção pesqueira e conseqüentemente a oferta de espécies do gênero *Pseudoplatystoma* no mercado vêm sendo reduzida a cada ano, apesar do aumento do esforço de pesca indicando uma sobre-exploração da mesma. A degradação do seu ambiente nativo causado pela construção de represas hidrelétricas, assoreamento e poluição, aliada à intensificação da pesca extrativista são os principais fatores que contribuem para o declínio das populações naturais das espécies do gênero (CAMPOS, 2010).

Com essa queda de oferta originada pela pesca, o setor produtivo vem buscando formas de produzir comercialmente essas espécies. Para Ribeiro *et al.* (1996), uma espécie pode ser explorada comercialmente somente após ter seu sistema de produção testado biologicamente e economicamente. Além das características de qualidade de carne citadas anteriormente, o surubim apresenta índices zootécnicos que sugerem seu grande potencial para a produção comercial (RIBEIRO E MIRANDA, 1997).

Segundo Campos (2010) o surubim se adapta a praticamente todos os sistemas de produção normalmente utilizados para a criação de peixes, existindo exemplos de cultivos bem sucedidos em viveiros, tanques rede e até *raceways*. Dados de conversão alimentar e ganho de peso obtidos por Faria (2010) em sistema de recirculação de água mostram que o surubim também se adapta bem a este sistema de cultivo.

Apesar de suas características de qualidade de carne e adaptabilidade a diversos sistemas de cultivo, apenas em meados da década de 1990 começaram a surgir os primeiros estudos a respeito da produção desta espécie em cativeiro (ROMAGOSA *et al.*, 2003).

Surubins são peixes de importância na produção comercial no Peru, Colômbia e Brasil (ARSLAN *et al.*, 2009). Atualmente híbridos de *P. coruscans* e *P. fasciatus* vêm sendo produzidos comercialmente em algumas regiões do Brasil (CARVALHO *et al.*, 2008).

Ainda não existem no mercado dietas comerciais formuladas a partir das exigências nutricionais do surubim. Isto ocorre devido ao pequeno volume de informações sobre os aspectos nutricionais da espécie, sobretudo suas exigências nutricionais (MARTINO *et al.*, 2005).

Somente há alguns trabalhos sobre avaliação da digestibilidade de alimentos protéicos e energéticos, avaliando seu potencial na utilização em dietas para surubim (GONÇALVES E CARNEIRO, 2003; TEIXEIRA *et al.*, 2010).

Martino *et al.* (2002), ao avaliarem o efeito de níveis crescentes de inclusão de lipídios na dieta para surubim em várias características de desempenho. Neste trabalho, que teve duração de 64 dias, os animais ganharam em média 400 gramas e a conversão alimentar média foi de 0,75. Os resultados encontrados em todos os tratamentos foram considerados como muito satisfatórios pelos autores.

No ano de 2003, Martino *et al.*, estudaram o efeito da substituição de lipídios altamente insaturados por lipídios saturados no desempenho de surubins. Este mesmo grupo de pesquisadores, em 2005, avaliou o desempenho de surubins alimentados com dietas contendo altos níveis de carboidratos e com a substituição destes por lipídios, em dietas isoenergéticas, não havendo diferenças significativas no desempenho dos animais.

Não existem trabalhos de determinação das exigências de aminoácidos para surubim, somente trabalhos realizados por Campos *et al.* (2005) e Furuya e Furuya (2003), que avaliam o perfil de aminoácidos essenciais na carcaça.

2.2. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE PEIXES

Sakomura e Rostagno (2007) definem a exigência de um nutriente como a quantidade deste mesmo nutriente a ser fornecida para atender as necessidades de um animal em um ambiente compatível com a boa saúde. Segundo os mesmos autores, estas necessidades do animal podem ser interpretadas como a quantidade de um nutriente para atender determinado nível de produção.

A grande maioria dos dados sobre exigências nutricionais em peixes são gerados a partir de ensaios dose-resposta (WILSON, 2002). Neste método, a exigência é determinada baseando-se na resposta do desempenho do animal, quando alimentado com níveis crescentes do nutriente testado (SAKOMURA E ROSTAGNO, 2007).

2.2.1. EXIGÊNCIAS DE PROTEÍNA

As proteínas são os componentes orgânicos encontrados em maior abundância nos tecidos de peixes, de 65 a 75% da matéria seca. Os peixes consomem proteína para obter aminoácidos. Esta proteína é digerida pelas proteases do trato gastrointestinal, liberando seus aminoácidos. Estes são absorvidos e distribuídos na corrente sanguínea, podendo ser usados em vários tecidos para síntese de proteínas (WILSON, 2002).

A proteína é a porção mais cara das dietas para peixes (SMALL E SOARES, 2000; ÁRNASON *et al.*, 2010, ZHOU *et al.*, 2010). Além de ser o nutriente mais caro, é o que mais afeta o crescimento, o custo da dieta e a poluição ambiental, devido à excreção de nitrogênio (SMALL E SOARES, 1998).

De maneira geral, peixes exigem dietas contendo níveis de proteína mais elevados quando comparados com animais terrestres utilizados na produção animal. Estas altas exigências levaram muitos pesquisadores a pensar que os peixes eram menos eficientes em utilizar a proteína que os mamíferos e aves.

Tacon e Cowey (1985, citados por WILSON, 2002) foram os primeiros a perceber que a exigência de proteína dos peixes não difere tanto dos animais terrestres, quando esta é expressa em consumo relativo de alimento (gramas de proteína ingerida / quilograma de peso vivo / dia) e eficiência protéica (gramas de proteína ingerida / quilograma de ganho de peso vivo).

Além de uma concentração protéica tida como ótima, a quantidade e o perfil de aminoácidos da dieta também contribuem para o crescimento máximo (ZHOU *et al.*, 2010).

2.2.2. EXIGÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS

Nutricionalmente, os aminoácidos podem ser divididos em aminoácidos essenciais e não essenciais. Os aminoácidos tidos como essenciais são aqueles que não são sintetizados no organismo, ou quando o são, a síntese é insuficiente para atender as necessidades fisiológicas e de crescimento (TACON, 1987).

Peixes, assim como outras espécies, não possuem exigências nutricionais de proteína, mas sim, exigências por uma mistura, balanceada de aminoácidos essenciais e não essenciais (WILSON, 2002).

Qualitativamente, os peixes não diferem de outros monogástricos no que diz respeito aos aminoácidos essenciais. Os mesmos dez aminoácidos considerados essenciais para monogástricos também o são para todas as espécies de peixes já estudadas (WILSON, 2002; BICUDO *et al.*, 2009).

O crescimento e a eficiência alimentar podem ser maximizados com a manipulação da composição de aminoácidos da dieta, porém, para a formulação de dietas balanceadas são necessárias informações precisas sobre as exigências de aminoácidos da espécie (ZHANG *et al.* 2008).

Devido ao alto custo da proteína, a determinação das exigências de aminoácidos essenciais da espécie trabalhada é de extrema importância para o sucesso econômico da atividade (SMALL E SOARES, 2000).

As farinhas de origem animal são boas fontes de aminoácidos, já que sua composição se assemelha a do ovo, o alimento padrão no que diz respeito à qualidade da proteína (HARDY E BARROWS, 2002). Porém, o custo destes ingredientes limita, ou até inviabiliza sua utilização em dietas comerciais para peixes.

A farinha de peixe é o ingrediente protéico mais importante utilizado nas dietas de salmonídeos, camarões e peixes marinhos. Para Peres e Oliva-Teles (2005), a produção de dietas para turbot (*Scophthalmus maximus*) é totalmente dependente da farinha de peixe.

Cada vez mais, especialistas em nutrição peixes vêm tentando se esquivar desta dependência da farinha de peixe incorporando proteínas vegetais nas dietas, por se tratarem de fontes protéicas mais baratas (THIESSEN *et al.*, 2003). Contudo, as proteínas de origem vegetal frequentemente apresentam-se deficientes em alguns dos aminoácidos essenciais, tais como lisina, metionina e arginina (HARDY E BARROWS, 2002; ESPE, 2006 *et al.*).

Para que seja possível a substituição, parcial ou total, das proteínas de origem animal por proteínas vegetais é necessária a inclusão de outras fontes protéicas ou a adição de aminoácidos sintéticos, nas quantidades que o animal necessita (ESPE *et al.*, 2006).

O fato é que dietas com níveis de proteína e aminoácidos essenciais que atendam exatamente as exigências do animal são fatores chave para potencializar a utilização da proteína no crescimento, conseqüentemente, reduzindo o desperdício de nitrogênio (PERES E OLIVA-TELES, 2005).

Em peixes, a exemplo do que ocorre com outros vertebrados, a lisina é considerada o primeiro aminoácido limitante na síntese protéica (FORSTER E OGATA, 1998; SMALL E SOARES, 2000, ABBOUDI *et al.*, 2006). A maioria das espécies de peixes estudadas apresentam exigências semelhantes de lisina, cerca de 4-5% da proteína da dieta (WILSON, 2002).

Além de sua importância na síntese protéica, a lisina, junto com a metionina, serve como precursor da carnitina, que está envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para o interior das mitocôndrias para a β -oxidação (WALTON *et al.*, 1984; citado por ZHANG *et al.*, 2008).

Visando aumentar a eficiência alimentar, diversos trabalhos de exigências de aminoácidos essenciais vem sendo realizados para muitas espécies de peixes de água doce e marinhos. Com exceção do jundiá, *Rhamdia quelen* (MONTES-GIRAO E FRACALOSSO, 2006) e do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (BICUDO *et al.*, 2009; ABIMORAD *et al.*, 2010) informações de exigência

de lisina para peixes nativos do Brasil não estão disponíveis ou não são encontradas facilmente na literatura.

Como citado anteriormente, existem trabalhos que estimaram o perfil de aminoácidos essenciais do surubim (FURUYA E FURUYA, 2003; CAMPOS *et al.*, 2006). Estes valores podem ser utilizados para a estimativa das exigências nutricionais de aminoácidos, quando esta exigência é baseada no conceito da relação entre os aminoácidos essenciais (relação A/E) (CAMPOS *et al.*, 2006) ou o da proteína ideal (FURUYA E FURUYA, 2003).

O conceito da proteína ideal é definido como o balanceamento exato de aminoácidos, de forma a atender às exigências de todos os aminoácidos para a manutenção e produção, a partir da proposta de que cada aminoácido essencial seja expresso em relação a um aminoácido de referência (FURUYA *et al.*, 2005).

2.3. METODOLOGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE EXIGÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS

Diferentes metodologias podem ser utilizadas para a determinação da exigência de aminoácidos em peixes. A mensuração da taxa de crescimento do peixe, quando alimentado com níveis crescentes de aminoácidos (método dose-resposta), avaliação da composição do ovo do peixe e a determinação da composição de aminoácidos da carcaça do peixe, como indicativo da utilização dos aminoácidos, são os métodos mais utilizados (CAMPOS *et al.*, 2006).

2.3.1. MÉTODO DOSE-RESPOSTA

O dose-resposta é o método escolhido pela maioria dos pesquisadores em trabalhos de determinação de exigências de aminoácidos em peixes (SMALL E SOARES, 2000). Este método se baseia na resposta do animal ao aumento da ingestão de um determinado alimento ou nutriente (SAKOMURA E ROSTAGNO, 2007).

Para Small e Soares (2000), a determinação das exigências de aminoácidos pelo método tradicional dose-resposta demanda muito tempo e recursos financeiros para ser realizada, pois é necessária a condução de um experimento para avaliar a exigência de cada aminoácido.

2.3.2. UTILIZAÇÃO DOS DADOS DE CARÇAÇA – RELAÇÃO ENTRE OS AMINOÁCIDOS E O CONCEITO DA PROTEÍNA IDEAL

Arai (1981), percebeu que juvenis de salmão prateado (*Oncorhynchus kisutch*), alimentados com dietas formuladas de forma que as relações entre os aminoácidos essenciais (relação A/E) fossem as mesmas relações encontradas na carcaça, apresentaram desempenho superior ao dos animais alimentados com dietas que não respeitavam estas relações.

Estas relações são obtidas a partir da seguinte equação: Relação A/E = (aminoácido essencial / total de aminoácidos essenciais incluindo cistina e tirosina) X 1000 (ARAI, 1981). Estas relações estão sendo utilizadas como meio de se determinar as exigências de aminoácidos essenciais de uma espécie quando a exigência de apenas um aminoácido é conhecida (WILSON, 2002).

Forster e Ogata (1998) determinaram as exigências de aminoácidos essenciais do linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) e red seabream (*Pargus major*), utilizando a metodologia proposta por Arai (1981). Neste trabalho, estes autores determinaram a exigência de lisina através de um ensaio dose-resposta. A exigência dos outros aminoácidos essenciais foi obtida das relações A/E, utilizando os dados de exigência de lisina. A mesma estratégia foi utilizada por Small e Soares (1998), na determinação das exigências de aminoácidos de juvenis de perca listrada (*Morone saxatilis*), por Montes-Girão e Fracalossi (2006), para determinar as necessidades de jundiá (*Rhamdia quelen*).

A relação entre a composição de aminoácidos da carcaça e as exigências nutricionais é muito similar ao conceito da proteína ideal, amplamente utilizado na determinação de exigências de aminoácidos em outras espécies de monogástricos.

Por ser o primeiro aminoácido limitante na maioria dos ingredientes utilizados em dietas para peixes, as exigências dos outros aminoácidos essenciais são expressas em relação à lisina (WILSON, 2002). O fato deste aminoácido poder ser encontrado facilmente na forma sintética, o grande número de informações sobre suas exigências, em várias espécies de peixe, e rapidez de sua análise fazem deste aminoácido a melhor opção para a realização de trabalhos desta natureza (FURUYA *et al.*, 2005).

2.4. FORMULAÇÃO DE DIETAS EXPERIMENTAIS

Todas as dietas experimentais devem ser iguais em todos os aspectos, exceto na variável a ser testada, isto inclui a composição nutricional, níveis de proteína, energia, solubilidade em água e tamanho de partícula (NRC, 1993).

A formulação das dietas experimentais é um importante fator que pode interferir na acurácia da determinação de exigências nutricionais (MARCOULI *et al.*, 2006). Geralmente, baixas taxas de ganho de peso estão associadas com fatores antinutricionais presentes nas fontes protéicas utilizadas nas dietas experimentais, baixa digestibilidade destas proteínas ou baixa palatabilidade resultando em baixo consumo (ESPE *et al.*, 2006).

Trabalhos de determinação de exigências de aminoácidos são realizados utilizando dietas formuladas com ingredientes normalmente encontrados em dietas comerciais para peixes ou com dietas semipurificadas, nas quais, em sua maioria, são formuladas utilizando ingredientes de composição química simples e bem conhecida (NRC, 1993).

2.4.1. DIETAS PURIFICADAS E SEMIPURIFICADAS

A idéia de se trabalhar com dietas purificadas e semipurificadas surgiu com a necessidade de reduzir, ou eliminar, o efeito da interação entre os ingredientes de uma dieta.

O NRC (1993) recomenda, na elaboração de dietas experimentais purificadas, a utilização de ingredientes que possuam composição química bem definida. Assim sendo, esta mesma publicação recomenda a utilização de ingredientes como: Caseína e gelatina como fontes de proteína, caseína com baixo teor de vitaminas, para a realização de experimentos com vitamina; dextrose como fonte de carboidratos, óleos vegetais como fonte de lipídeos, etc. A tabela 1 apresenta dietas experimentais sugeridas para três espécies de peixe.

Tabela 1- Inclusão de ingredientes em dietas referência purificadas (%)

Ingredientes	Salmonídeos	Salmão do pacífico	<i>Bagre do canal</i>
	Inclusão (%)		
Caseína	40,0	40,8	32,0
Gelatina	4,0	8,0	8,0
Amido	11,5	—	—
Dextrina	9,0	16,0	33,0
D-glicose	5,0	—	—
α -celulose	3,0	4,7	14,0
Carboximetil-celulose	—	—	2,0
DL-metionina	0,5	—	—
L-arginina	1,0	—	—
Mistura de aminoácidos	—	4,4	—
Premix vitamínico	3,0	3,1	1,0
Premix mineral	8,0	8,0	4,0
Óleo de peixe marinho	15,0	15,0	3,0
Óleo vegetal	—	—	3,0

Adaptado de NRC (1993).

Dietas purificadas na maioria das vezes são pouco palatáveis para peixes, reduzindo o consumo e o ganho de peso. Quando há problemas no consumo das dietas experimentais, recomenda-se a adição de algum ingrediente como a farinha de peixe, óleo de peixe ou ração comercial (NRC, 1993). Estas dietas acrescidas de ingredientes menos padronizados são chamadas de semipurificadas, que por serem mais bem aceitas pelos animais são mais comumente utilizadas em experimentos com aminoácidos.

Espe *et al.* (1999) comentaram que diferenças entre os picos de absorção existentes entre os aminoácidos cristalinos e os aminoácidos obtidos a partir de proteína verdadeira, podem

comprometer a utilização destes aminoácidos na síntese protéica. Uma forma de reduzir este efeito seria aumentar a frequência alimentar.

2.2. DIETAS PRÁTICAS

Neste segmento, serão chamadas de dietas práticas aquelas formuladas a partir de ingredientes normalmente utilizados na formulação de dietas para peixes. Estes ingredientes fornecem a maior parte dos aminoácidos na forma de proteína verdadeira (WILSON, 2002). Os níveis crescentes de aminoácidos são obtidos pela inclusão de aminoácidos cristalinos nas dietas.

Nas dietas práticas são utilizados ingredientes como farinha de peixe e farelo de soja, como fontes de proteína e milho, sorgo, farelo de trigo, quirera de arroz e óleos vegetais, como fontes de energia.

Nas dietas utilizadas em trabalhos de exigências de aminoácidos, é necessária a utilização de ingredientes protéicos que sejam pobres no aminoácido testado. Como exemplo, em experimentos de determinação de exigência de lisina, os glutens, tanto de trigo quanto de milho, são bastante utilizados, por se tratarem de ingredientes pobres em lisina, permitindo a obtenção de dietas com concentrações sub-ótimas do mesmo.

2.5. NUTRIÇÃO E ESTRESSE

Durante o período de cultivo os peixes são expostos a uma série de fatores estressantes, com consequências prejudiciais ao organismo animal. Altas densidades de estocagem, mudanças climáticas, manipulação, são considerados os principais fatores estressantes na piscicultura (LIM *et al.*, 2002).

Segundo Barton (2002), 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 extrínsecos, denominados estressores. A ação dos estressores é dupla: eles produzem efeitos que ameaçam ou perturbam o equilíbrio homeostático e também provocam um conjunto de respostas comportamentais e fisiológicas, como ação compensatória e/ou adaptativa, habilitando o animal para superar as ameaças (CHROUSOS, 1998).

Baixa resistência ao estresse é decorrência de condições fisiológicas sub ótimas causada por doenças infecciosas, baixa qualidade de água e fatores nutricionais (LIM *et al.*, 2002).

Os mecanismos pelos quais o estresse afeta o crescimento de peso ainda estão longe de ser totalmente compreendidos, mas a supressão do ganho de peso representa um entrave na produção (LIMA, 2006).

As respostas fisiológicas a agentes estressores têm sido agrupadas em resposta primária e secundária. A resposta primária, que envolve respostas neuroendócrinas iniciais, culmina na

liberação de hormônios corticosteróides na circulação. A resposta secundária inclui mudanças em íons plasmáticos e tissulares, parâmetros hematológicos, proteínas indicadoras de estresse, todos eles relacionados com ajustes do metabolismo, respiração, equilíbrio ácido-básico, equilíbrio hidromineral, função imune (BARTON, 2002)

Elevações das concentrações plasmáticas de cortisol e glicose são reconhecidas como indicadores de estresse em peixes (SANTOS E PACHECO, 1996). Peixes quando estressados, liberam hormônios como as catecolaminas e cortisol. Estes dois hormônios, em conjunto, aumentam a concentração de glicose sanguínea nos peixes, que é uma fonte de energia importante para vários tecidos. Este aumento na concentração de glicose, conseqüentemente do aporte de energia para os tecidos, pode ajudar o animal a fugir de uma situação de perigo (MATHILAKATH *et al.*, 1997).

Em peixes teleósteos, principalmente os carnívoros, a capacidade de utilizar alimentos de origem vegetal é uma habilidade secundária. Os carboidratos, que são alimentos hiperglicemiantes, tendem a manter animais que se alimentam de dietas ricas em grãos em hiperglicemia persistente (ANDOH, 2007).

Alguns nutrientes como, ácidos graxos, vitaminas e aminoácidos vêm sido estudados a respeito de sua influência no aumento da resistência de peixes a agentes estressores (LIM *et al.*, 2002; VAN ANHOLT *et al.*, 2004; LOCHMANN *et al.*, 2002; TEJPAL, 2009).

Tejpal *et al.* (2009), avaliando o efeito da inclusão de L-triptofano em indicadores de estresse para carpas indianas (*Cirrhinus mrigala*) cultivadas em diferentes densidades de estocagem, observaram que nas duas densidades de estocagem avaliadas a inclusão deste aminoácido reduziu significativamente as concentrações de cortisol e glicose no sangue dos animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Para esse experimento foram adquiridos 1.500 alevinos de surubim (*Pseudoplatystoma spp.*) de um produtor comercial localizado na cidade de Curvelo, Minas Gerais – Brasil. Os animais foram mantidos em sistema de recirculação de água no Laboratório de Aquacultura (LAQUA) da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Antes do início do experimento os animais passaram por um período de 15 dias de adaptação às instalações e condições experimentais. Neste período os peixes foram mantidos em tanques de polipropileno, com volume útil de 400 litros de ligados a um sistema de recirculação de água composto por filtro mecânico, filtro biológico, sistema de aeração e aquecimento. Ainda no período de adaptação, nos sete primeiros dias os animais foram alimentados seis vezes ao dia, até a saciedade, com ração comercial para peixes carnívoros, contendo 40% de proteína bruta. Durante o restante deste período a ração comercial foi gradualmente substituída por uma ração extrusada, contendo 42% de proteína bruta, formulada com os mesmos

ingredientes utilizados nas dietas experimentais, sendo a frequência de alimentação reduzida para três vezes ao dia.

Após o período de adaptação os peixes foram submetidos a jejum de 24 horas, selecionados aleatoriamente, estocados nos mesmos tanques de polipropileno numa densidade de 30 peixes por tanque e estes pesados em conjunto. O peso médio inicial e a biomassa média inicial foram de $38,2 \pm 1,53\text{g}$ e $1147,57 \pm 45,97\text{g}$, respectivamente. Durante o período experimental os animais foram alimentados três vezes ao dia (7:00, 12:00 e 18:00h), até a saciedade. Após cada alimentação as sobras de ração foram recolhidas, armazenadas e congeladas a -18°C para posterior secagem em estufa ventilada, a 55°C , pesagem e obtenção do consumo e conversão alimentar. Uma vez ao dia, todos os tanques foram sifonados para a retirada da matéria orgânica depositada no fundo.

O fluxo de água dos tanques foi mantido em 480 litros por hora (1,2 trocas por hora). O fotoperíodo foi mantido em 9 horas de luz e 15 de escuro. Ao final de 50 dias de experimento, todos os peixes de cada unidade experimental, foram pesados em conjunto.

3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (níveis de lisina) e quatro repetições, sendo considerada uma unidade experimental um tanque de 400 litros com 30 peixes.

3.3. DIETAS EXPERIMENTAIS

Antes da formulação das dietas experimentais a composição proximal de todos ingredientes utilizados foi determinada. Os resultados destas análises foram utilizados como base para a formulação das dietas.

Uma dieta basal foi formulada contendo 42% de proteína bruta (PB) e 4000 kcal/kg de energia bruta (EB). A partir desta dieta basal, cinco dietas isoenergéticas e isoprotéicas, com níveis crescentes de lisina (1,75 a 2,75%) foram formuladas. A elevação dos níveis de lisina foi realizada utilizando L-lisina-HCL.

A relação mínima entre a lisina e os outros aminoácidos essenciais foi mantida, a medida em que os níveis de lisina nas dietas aumentavam. Para isto, foram utilizados aminoácidos cristalinos quando necessário.

Para que a adição de L-lisina-HCL e dos outros aminoácidos cristalinos não incorresse em aumento dos níveis de proteína das dietas, foram adicionados 3% de L-glutamina na dieta basal, assim como realizado por Small e Soares, (1998). A medida em que os níveis de lisina das dietas aumentavam, a L-glutamina foi substituída pelos aminoácidos sintéticos. A Tabela 2 apresenta a formulação e composição bromatológica das dietas experimentais.

Tabela 2- Formulação e composição bromatológica das dietas experimentais, na matéria natural

Ingrediente (%)	Níveis de lisina (%)									
	1,75		2,00		2,25		2,50		2,75	
Farinha des Salmão	27,53		27,53		27,53		27,53		27,53	
Glúten de trigo	25,57		25,57		25,57		25,57		25,57	
Quirera de arroz	27,40		27,40		27,40		27,40		27,40	
Óleo de soja	4,02		4,02		4,02		4,02		4,02	
Caulin	7,07		7,01		6,94		6,85		6,80	
Celulose	1,78		1,78		1,78		1,78		1,78	
Fosfato bicalcio	1,76		1,76		1,76		1,76		1,76	
Calcário	0,27		0,27		0,27		0,27		0,27	
Sal (NaCl)	0,60		0,60		0,60		0,60		0,60	
Suplemento (Vit. Min.)	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00	
L-glutamina	3,00		2,75		2,44		2,05		1,54	
L-lisina	-		0,32		0,64		0,96		1,27	
L-treonina	-		-		0,05		0,19		0,33	
L-arginina	-		-		-		-		0,10	
Composição calculada (%)	Calc.	Analís.*	Calc.	Analís.*	Calc.	Analís.*	Calc.	Analís.*	Calc.	Analís.*
Proteína bruta	42,00	43,30	42,00	42,20	42,00	43,50	42,00	44,30	42,00	41,35
Energia bruta (kcal/kg)	4000,00	4576,00	4000,00	4620,00	4000,00	4600,00	4000,00	4620,00	4000,00	4750,00
Amido	20,00		20,00		20,00		20,00		20,00	
Cálcio	1,80		1,80		1,80		1,80		1,80	
Fósforo total	1,08		1,08		1,08		1,08		1,08	
Fósforo disponível	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00	
Gordura	8,14	8,10	8,14	7,90	8,14	8,70	8,14	7,40	8,14	8,00
Fibra bruta	2,00		2,00		2,00		2,00		2,00	
Lisina	1,75		2,00		2,25		2,50		2,75	
Metionina+cistina	1,78		1,78		1,78		1,78		1,78	
Treonina	1,19		1,19		1,24		1,38		1,52	
Triptofano	0,37		0,37		0,37		0,37		0,37	
Valina	1,81		1,81		1,81		1,81		1,81	
Arginina	1,99		1,99		1,99		1,99		2,10	
Leucina	2,43		2,43		2,43		2,43		2,43	
Isoleucina	1,47		1,47		1,47		1,47		1,47	
Histidina	0,84		0,84		0,84		0,84		0,84	
Fenilalanina+tirosina	3,04		3,04		3,04		3,04		3,04	

* Na base da matéria seca

As dietas foram extrusadas em pellets de 4-5mm de diâmetro, na unidade de processamento de dietas experimentais do LAQUA e armazenadas em câmara fria, a 0 °C, durante o período experimental até o momento da utilização.

Como não há na literatura nenhum valor de exigência de aminoácidos para surubim, foi utilizada a metodologia sugerida por Tacon (1987), para determinar os níveis de lisina das dietas utilizadas no experimento. Esta metodologia considera a composição de aminoácidos da carcaça como base para estimar as exigências de aminoácidos. Para esta estimativa este autor sugere a seguinte equação:

$$\frac{\%PB \text{ da dieta} \times Q \times Z}{1000}$$

1000

- onde:
- %PB da dieta = considerou-se 40%;
 - Q = % de aminoácidos essenciais + cistina e tirosina perfazendo 35% da proteína bruta;
 - Z = composição corporal do aminoácido que se quer estimar a exigência, em relação à todos os aminoácidos essenciais + cistina + tirosina

Os valores de composição de aminoácidos na carcaça de surubim utilizados foram os encontrados por Campos *et al.* (2005).

3.4. VARIÁVEIS AVALIADAS

As variáveis de desempenho avaliadas foram calculadas de acordo com as seguintes expressões:

Ganho de peso (GP) = Peso final – Peso inicial;

Ganho de peso médio (GPM) = Ganho de peso / Número final de indivíduos;

Consumo = Alimento fornecido – Alimento recolhido;

Conversão alimentar (CA) = Ganho de peso* / Consumo;

Taxa de eficiência protéica (TEP) = Ganho de peso / proteína bruta consumida.

Sobrevivência = N° inicial de indivíduos - N° de indivíduos encontrados mortos

Para obter o Ganho de peso*, utilizado no cálculo da CA, foi adicionado ao Ganho de peso, o peso dos animais encontrados mortos durante o experimento.

As amostras de carcaça foram submetidas a análises de matéria seca (MS), cinzas, extrato etéreo (EE), de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (2005). As análises de proteína bruta (PB) foram realizadas de acordo com a metodologia de Dumas, num sistema LECO FP-528 enquanto as de energia bruta (EB) foram realizadas utilizando bomba calorimétrica, Valores de glicose sanguínea, utilizando glicosímetro digital Accu-Chek (Roche®), e proteína total sérica, utilizando o método do biureto, também foram analisadas.

3.5. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Ao final do experimento, os animais de cada unidade experimental foram capturados e pesados em conjunto. Cinco animais de cada unidade experimental foram selecionados

aleatoriamente, sedados com eugenol (60 mg/l), sendo três animais destinados à colheita de sangue, por punção da aorta caudal e dois abatidos por em gelo para análises de carcaça.

Os animais destinados à análise de carcaça foram cortados em pedaços de aproximadamente 2 cm de espessura, congelados a -40°C , por 48 horas e liofilizados por 96, horas para a completa eliminação da umidade das amostras.

Após a liofilização as amostras foram desintegradas em um processador de alimentos, em seguida em um moinho de facas com peneira de 1 mm. Nas amostras de carcaça foram realizadas análises de matéria seca (MS), cinzas, extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB).

Do sangue coletado, uma gota de cada animal foi utilizada para a dosagem individual de glicose. O restante do volume foi centrifugado a 7000 rpm para a separação do soro da fração sólida. O soro foi então coletado sendo retiradas alíquotas para a realização das análises de proteína sérica total.

3.6. ANÁLISES DE QUALIDADE DE ÁGUA

As variáveis de qualidade de água oxigênio dissolvido, temperatura e pH foram mensuradas duas vezes por semana, utilizando uma sonda multiparâmetro YSI 6520 V2[®]. As variáveis da série nitrogenada, amônia e nitrito, foram mensuradas uma vez por semana, por colorimetria utilizando kits comerciais da Alfakit[®].

3.7. AVALIAÇÃO DOS DADOS

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância pelo programa SAEG (Sistema para análises estatísticas e genéticas, Universidade Federal de Viçosa, 2003), para verificar a significância dos modelos propostos. Através dos resultados de desempenho tais como, ganho de peso, conversão alimentar, consumo, taxa de eficiência protéica e sobrevivência; dos dados de composição bromatológica das carcaças; proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo e cinzas; e de parâmetros sanguíneos; glicose sanguínea e proteína total sérica; foram obtidas equações de regressão para verificar a exigência de lisina do surubim. A mortalidade foi sendo computada diariamente e os dados de sobrevivência foram analisados em tabela de contingência e submetidos ao teste do qui-quadrado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura da água durante os 50 dias de experimento foi mantida em $28\pm 1^{\circ}\text{C}$. Os valores de oxigênio dissolvido mantiveram-se acima de 6,00 mg/L, enquanto o pH se manteve

levemente alcalino, entre 7,1 e 7,4. Os valores de amônia total e nitrito se mantiveram abaixo de 0,1 mg/L, mesmo ao final do experimento, quando já havia diferenças de densidade de estocagem entre os tratamentos.

Os resultados médios das variáveis de desempenho, em relação aos tratamentos, estão representados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores médios de Ganho de Peso (GP), Ganho de Peso Médio (GPM), Consumo, Conversão Alimentar (CA), Taxa de Eficiência Protéica (TEP) e sobrevivência e seus desvios obtidos com as diferentes dietas

	Níveis de Lisina (%)					CV
	1,75	2,00	2,25	2,50	2,75	
Ganho de Peso	696,6±199,9	1476,8±110,5	2288,5±346,5	2905,0±662,9	3763,5±509,1	18,75
Ganho de Peso Médio	34,98±7,92	72,44±9,43	99,18±8,53	122,60±16,34	143,22±14,88	10,55
Consumo	1788,7±88,9	2026,7±163,0	2632,5±157,7	3223,4±513,2	3544,3±401,8	11,78
Conversão Alimentar	1,6±0,25	0,98±0,03	0,98±0,11	0,94±0,05	0,87±0,09	12,21
Taxa de eficiência protéica	0,896±0,24	1,73±0,09	1,99±0,20	2,02±0,23	2,37±0,23	12,00
Sobrevivência (%)	65,8 a	68,3 ab	76,7 ab	78,3 bc	87,5 c	

As variáveis ganho de peso (GP), ganho de peso médio (GPM), consumo, conversão alimentar (CA) e taxa de eficiência protéica (TEP) foram afetadas significativamente pelos níveis de lisina ($p > 0,05$). Com exceção do GPM, todas as variáveis tiveram efeito linear, indicando o nível mais alto testado (2,75% de lisina), como o que proporciona os melhores resultados de desempenho. A equação do GPM teve efeito quadrático e sua derivação aponta 3,51% como a exigência de lisina para estes animais. A seguir estão representadas as equações de regressão das variáveis de desempenho testadas assim como seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).

$$GP \rightarrow y = 3025,18x - 4580,30; R^2 = 0,99 (p < 0,001)$$

$$GPM \rightarrow y = -42,2669x^2 + 296,85x - 354,179; R^2 = 0,99 (p < 0,01)$$

$$C \rightarrow y = 1885,49x - 1599,83; R^2 = 0,98 (p < 0,001)$$

$$CA \rightarrow y = -0,613797x + 2,452; R^2 = 0,64 (p < 0,05)$$

$$TEP \rightarrow y = 1,2957x + 1,1143; R^2 = 0,85 (p < 0,02)$$

Os coeficientes de determinação obtidos para as equações que consideram as variáveis GP, GPM, Consumo e TEP foram de 0,99; 0,99; 0,98 e 0,85, respectivamente, enquanto o que considera a variável CA foi de 0,64. O coeficiente de determinação da CA (0,64) foi o mais baixo das características de desempenho. Este menor coeficiente pode ser devido a problemas de mensuração de consumo. Mesmo que este experimento tenha sido realizado com dietas extrusadas,

não foi possível coletar todos os pellets não consumidos pelos animais, pois existem diferenças de fluabilidade de um pellet para o outro e os próprios animais têm por hábito regurgitar parte do alimento ingerido. Pellets que afundaram e os que foram regurgitados acabaram por não ser coletados e foram computados como se tivessem sido ingeridos.

O aumento do GP, acompanhado do aumento da TEP, em função do aumento dos níveis de lisina na dieta está de acordo com o encontrado por Zhang *et al.* (2008).

Ao analisar a variável GPM, nota-se que, ao derivar a equação proposta para o modelo quadrático temos um valor de exigência de lisina de 3,51%, valor que excede os limites testados neste experimento. Este fato reduz a confiabilidade da resposta.

A TEP foi significativa ($p < 0,02$) para o efeito linear, porém, quando observa-se a significância desta característica para o efeito quadrático nota-se que esta foi significativa apenas a 6%. Derivando a equação proposta pelo modelo quadrático para esta característica obtém-se uma exigência de 2,749% de lisina.

Como o resultado obtido com GPM está fora dos limites testados e os obtidos com a TEP, quando analisada pelo modelo quadrático, foi significativa a 6% ($p < 0,06$), não é possível definir a exigência de lisina a partir destas duas variáveis. Mas com estes dados é possível sugerir que a exigência de lisina para surubins nesta classe de peso está entre 2,75 e 3,5%.

Como os melhores resultados de desempenho foram obtidos com o nível mais alto de lisina, a partir deste trabalho não foi possível definir a exigência de lisina para surubins nesta classe de peso, porém estes dados podem ser comparados com outros dados existentes na literatura. Zhou *et al.* (2007) e Marcouli *et al.* (2006), demonstraram que juvenis de bejupirá (*Rachycentron canadum*) e dourada (*Sparus aurata*) responderam positivamente ao incremento de lisina na dieta até o valor de 2,38% e 2,15%, respectivamente. A partir destes valores, o aumento do nível de lisina na dieta não resultou em melhora no ganho de peso. A comparação dos dados encontrados neste experimento com os de Zhou *et al.* (2007) e Marcouli *et al.* (2006) nos permite inferir que o bijupirá e a dourada, que assim como o surubim se tratam de espécies carnívoras e com altas taxas de ganho de peso, possuem exigência de lisina menores que a do surubim.

Vale salientar que estes dois trabalhos foram realizados com metodologias nas quais o aumento dos níveis de lisina não é acompanhado pelos outros aminoácidos essenciais, não preservando a mesma relação aminoacídica. Com este tipo de metodologia, aminoácidos que, na dieta basal, não eram limitantes para o crescimento, nas dietas com níveis mais elevados de lisina, passam a limitar o ganho de peso. O resultado disto é uma estabilização precoce da curva de ganho de peso e consequente subestimação dos valores de exigência de lisina.

Como pôde ser observado na Tabela 3, a sobrevivência foi significativamente afetada ($p < 0,05$) pelo nível de lisina na dieta, sendo que a maior sobrevivência foi encontrada no tratamento com mais lisina.

Dos animais encontrados mortos nos tanques de cultivo, a grande maioria apresentava algum tipo de lesão na pele, sugestivas de predação ou comportamento canibal. Durante o experimento foi possível presenciar este comportamento predatório, onde um, ou mais animais maiores, atacavam, normalmente a região da nadadeira caudal de outro animal menor, levando este a óbito.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que correlacionam a deficiência de aminoácidos com comportamento canibal em peixes, principalmente naqueles que já estão em fase de engorda. Porém, é importante considerar o fato de que o surubim é uma espécie de peixe estritamente carnívora, e que os animais dos tratamentos contendo níveis inferiores de lisina estavam em privação nutricional. Portanto, é plausível que animais subnutridos pratiquem o canibalismo como tentativa de obter os nutrientes faltantes.

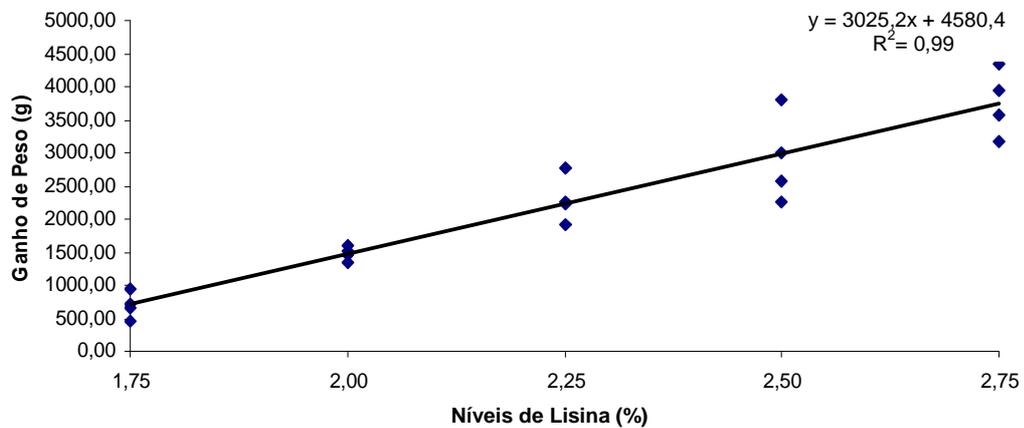


Figura 1: Ganho de peso de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

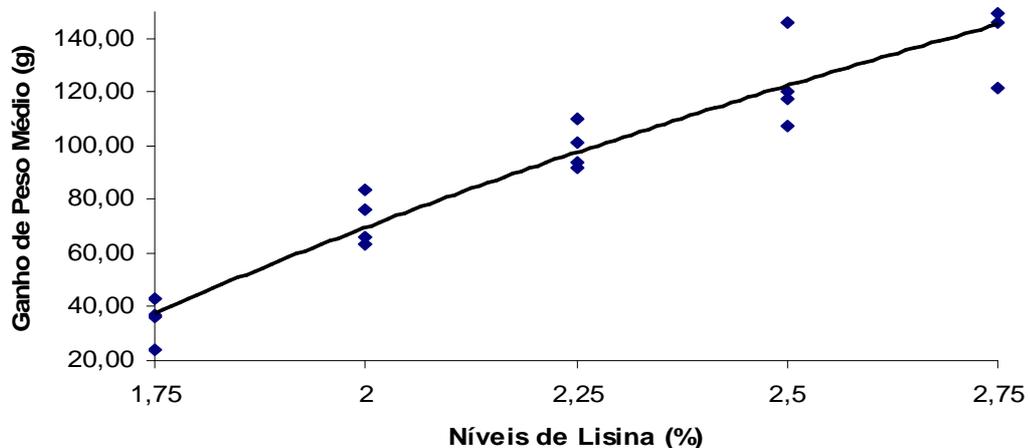


Figura 2: Ganho de peso médio de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

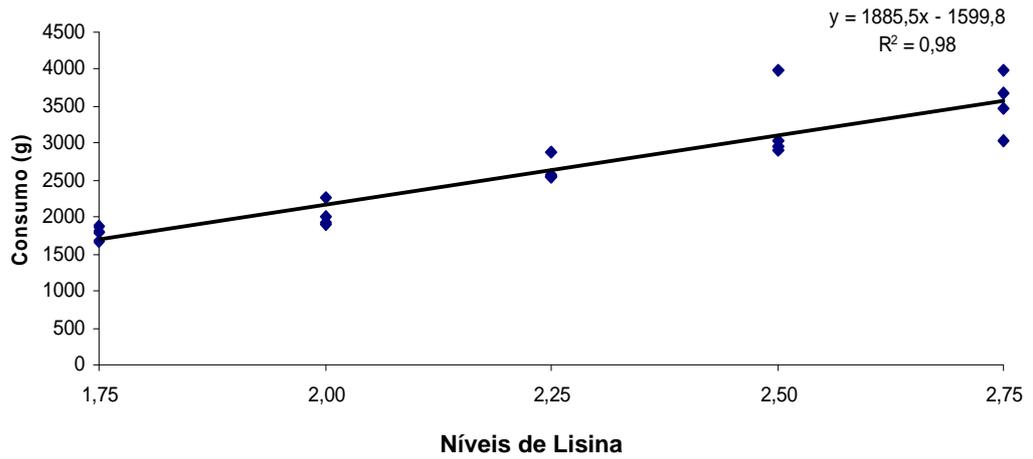


Figura 3: Consumo de ração de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

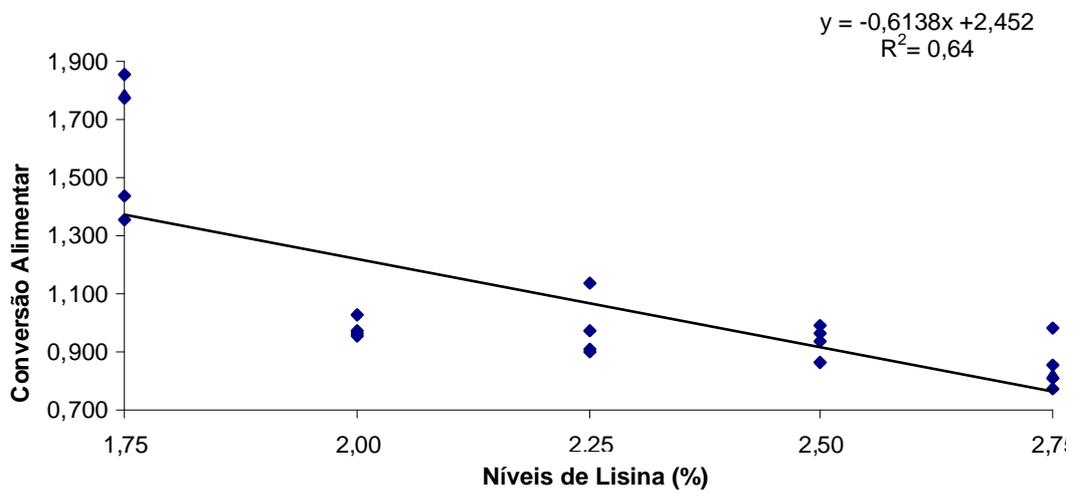


Figura 4: Conversão alimentar de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

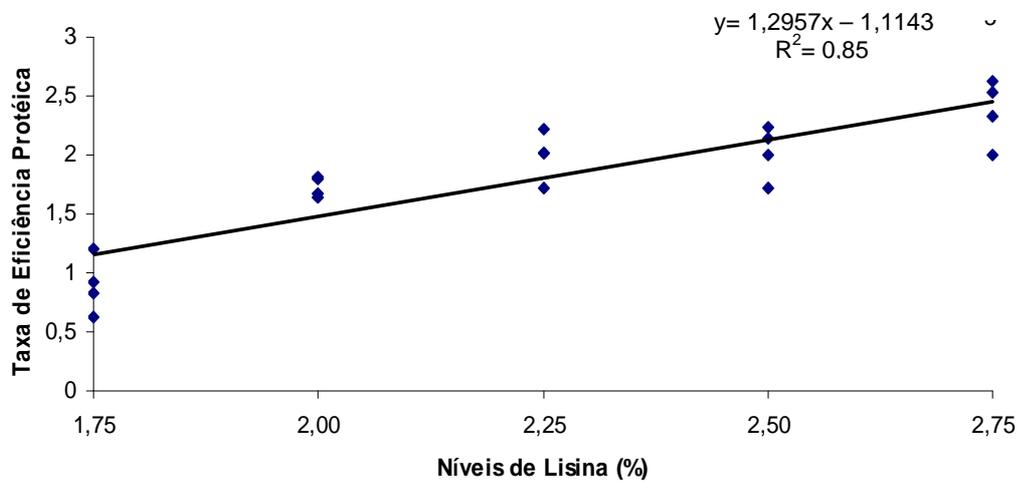


Figura 5: Taxa de eficiência protéica de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

Os valores médios das variáveis relacionadas à composição de carcaça proteína bruta (PB), energia bruta (EB), extrato etéreo (EE) e cinzas estão expostos na tabela 4.

Tabela 4: Proteína Bruta (PB), Energia Bruta (EB), Extrato Etéreo (EE) e Cinzas, com seus respectivos desvios, obtidos com as diferentes dietas.

	Níveis de Lisina (%)					cv
	1,75	2,00	2,25	2,50	2,75	
PB	59,89±0,52	61,7±1,06	61,45±1,73	63,84±0,78	67,48±3,52	2,96
EB	5857,70±192,0	5805,9±190,1	6283,90±206,6	6372,9312,9	6606,0±115,4	3,44
EE	22,6±2,41	21,36±1,62	26,51±1,70	26,75±2,80	26,82±2,32	8,93
CINZAS	13,12±0,52	13,16±1,25	12,03±0,81	11,92±0,72	11,14±1,32	7,95

Todas as características de composição de carcaça tiveram efeito linear e as equações geradas para as características PB, EB, EE e cinzas apresentaram coeficientes de determinação de 0,87; 0,90; 0,70 e 0,91 respectivamente, sendo apresentadas abaixo;

$$PB \rightarrow y = 6,9283 x + 47,283; R^2 = 0,87 (p < 0,02)$$

$$EB \rightarrow y = 825,47 x + 4328; R^2 = 0,90 (p < 0,01)$$

$$EE \rightarrow y = 5,5256 x + 12,379; R^2 = 0,70 (p < 0,04)$$

$$CINZAS \rightarrow y = -2,0769 + 16,949; R^2 = 0,91 (p < 0,01)$$

De forma geral, os dados de composição de carcaça mostram que a elevação dos níveis de lisina na dieta fez com que os animais fossem mais eficientes em depositar mais músculo e gordura na carcaça, em detrimento à matéria mineral (CINZAS). A elevação dos níveis de EB é resultado da elevação da PB e EE.

Não existe um padrão para respostas de características de composição de carcaça em experimentos de exigência de aminoácidos. Em alguns trabalhos há uma elevação dos níveis de proteína bruta acompanhada de uma redução dos níveis de gordura (ZHOU *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2008; BICUDO *et al.*, 2009), já em outros há um aumento dos níveis de proteína sem redução da gordura (MARCOULI *et al.*, 2006; MONTES-GIRAO E FRACALOSSI, 2006; ZHOU *et al.*, 2007). Redução da gordura sem o aumento da proteína (ABIMORAD *et al.*, 2010) e manutenção de todas as características de composição de carcaça (PERES E OLIVA-TELES, 2008) também pode ocorrer.

É provável que estas características de carcaça sejam decorrência não só do nível de lisina das dietas experimentais, mas também pelos níveis de energia, proteína e relação energia/proteína destas dietas.

O acúmulo de gordura na carcaça é um fenômeno indesejado na piscicultura. A alta concentração de ácidos graxos insaturados, presente na gordura dos peixes, faz com que esta gordura sofra rancificação mais precocemente, o que confere sabor desagradável à carne.

Levando-se em conta que este experimento foi realizado com peixes de 30 a 150 gramas, ou seja, animais que estão em fase inicial de produção, e que os animais do tratamento com mais lisina (2,75%) foram os mais eficientes em todas as variáveis de desempenho, este acúmulo de gordura na carcaça passa a não ter tanta importância, principalmente porque essa variação foi discreta. Dietas de terminação, com níveis adequados de energia, podem amenizar o problema no final do período de cultivo.

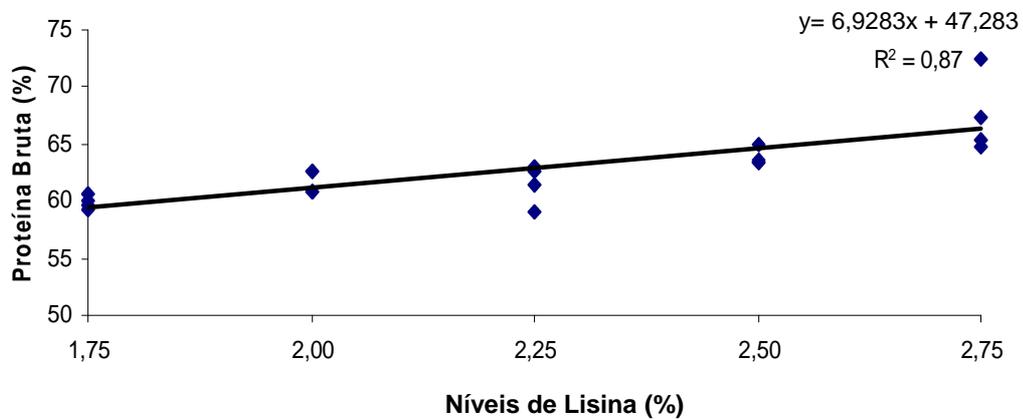


Figura 6: % de Proteína bruta na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

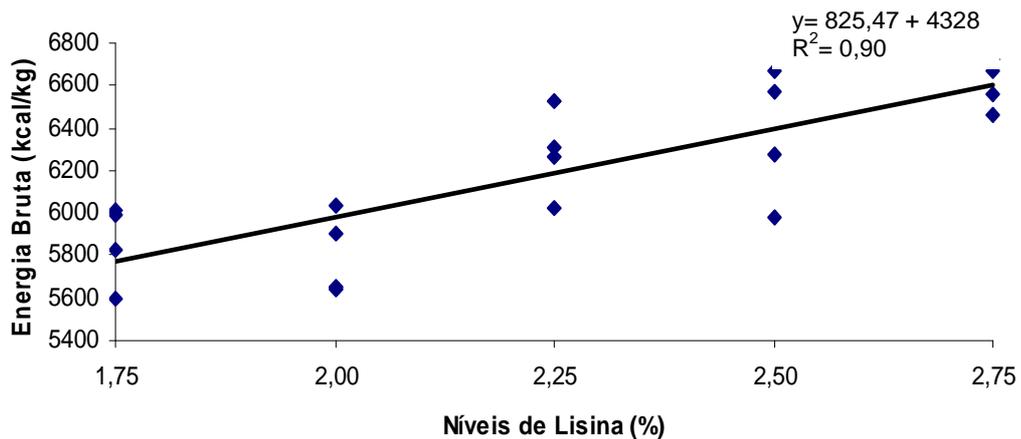


Figura 7: Energia bruta na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

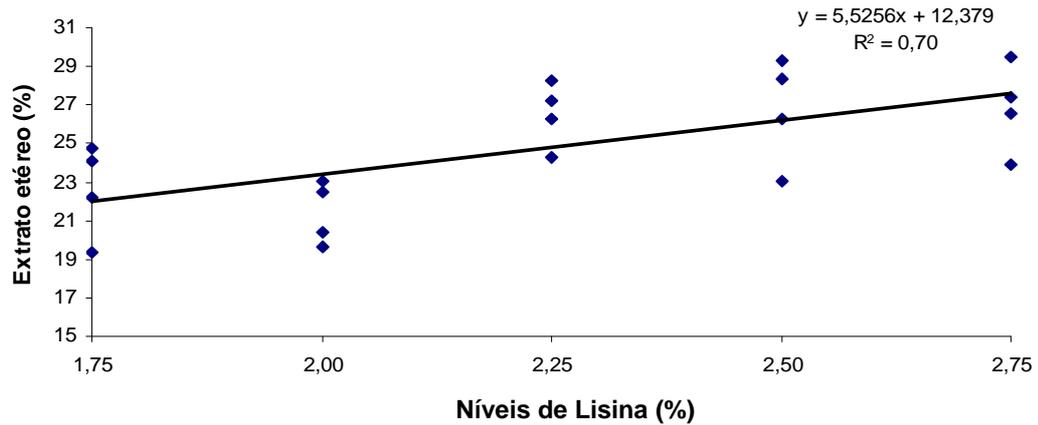


Figura 8: % de Extrato etéreo na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

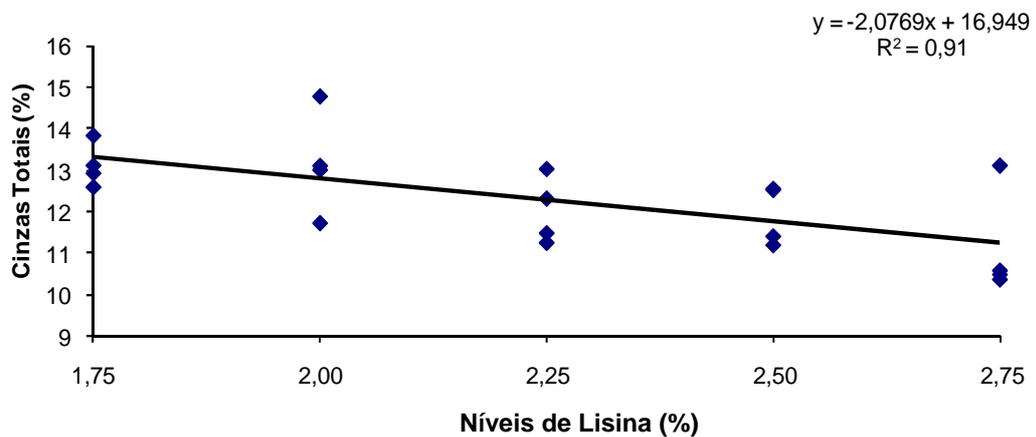


Figura 9: % de Cinzas na carcaça de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

Quanto aos resultados dos parâmetros sanguíneos avaliados, não houve diferença estatística ($p < 0,05$) para os valores de proteína total. Já a glicose sanguínea teve um comportamento linear ($p < 0,0001$), com seus valores aumentando em função do aumento de lisina na dieta. Estes resultados estão representados na Tabela 5.

Tabela 5: Valores obtidos de proteína total sérica e glicose sanguínea de surubins alimentados com diferentes níveis de lisina na dieta.

	Níveis de Lisina (%)				
	1,75	2,00	2,25	2,50	2,75
Glicose (mg/dl)	58,33±23,43	81,67±20,82	79,58±11,31	83,58±14,00	99,08±12,66
Proteína Total (mg/dl)	2,5±0,3	3,08±0,98	2,66±0,36	2,74±0,23	2,68±0,42

O coeficiente de determinação da equação de regressão da glicose foi 0,31, o que pode ser explicado pelo fato de a mesma ser uma característica altamente variável, dependendo do indivíduo e do momento da coleta.

Estes resultados estão parcialmente de acordo com os encontrados por Zhou *et al.* (2006) e Luo *et al.* (2005). Nestes trabalhos, os autores avaliaram, entre outras variáveis, os níveis de glicose no sangue, em relação ao nível de metionina na dieta, e encontraram um aumento dos níveis de glicose no sangue até pouco antes da inflexão da curva de crescimento. A partir deste ponto, os níveis de glicose no sangue decrescem significativamente. Este declínio da glicose pode ser decorrente da mudança de um estado de estresse fisiológico para um estado de maior conforto.

Segundo Moon (2001), peixes possuem baixa capacidade em utilizar carboidratos, podendo ser comparados com mamíferos portadores de diabetes mellitus do tipo II, ou seja, estão em hiperglicemia persistente. Andoh (2007) considera este fato como uma consequência de uma baixa capacidade da glicose em estimular a secreção de insulina.

Com estas informações, associadas aos resultados de consumo obtidos neste trabalho, pode-se sugerir que este aumento da glicose sanguínea pode ter como causa primária o consumo de carboidratos. Com a elevação dos níveis de lisina, houve um aumento da ingestão de alimento, consequentemente de carboidrato. Animais consumindo maiores quantidades de carboidrato tendem a ter maiores níveis de glicose circulante.

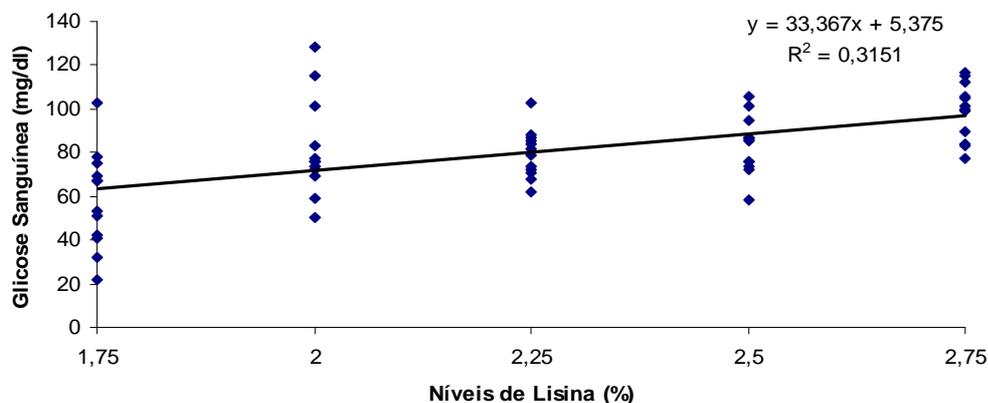


Figura 10: Nível de glicose no sangue de surubins alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina

5. CONCLUSÕES

O aumento dos níveis de lisina nas dietas para juvenis de surubim interferiu significativamente e de forma linear nas variáveis de ganho de peso, ganho de peso médio, consumo, conversão alimentar, taxa de eficiência protéica, além das características de composição de carcaça.

O nível mais alto testado (2,75%) foi o que promoveu os melhores valores das variáveis estudadas. A exigência de lisina para juvenis de surubim nessa classe de peso provavelmente situa-se próxima ao maior nível testado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABBOUDI, T.; MAMBRINI, M.; OOGHE, W.; LARONDELLE, Y.; ROLLIN, X. Protein and lysine requirements for maintenance and for tissue accretion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Aquaculture*, v. 261, p. 369-383, 2006.

ABBIMORAD, E.G., FAVEIRO, G.C., SQUASSONI, G.H., CARNEIRO, D. Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, v.16, p. 270-377, 2010.

ANDOH, T. Amino acids are more important insulinotropins than glucose in a teleost fish, barfin flounder (*Verasper moseri*). *General and Comparative Endocrinology*, v. 151, p. 308-317, 2007.

ARAI, S. A purified diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. *Nippon Suisan Gakkaishi*. v.4, p. 547-550. 1981.

ARSLAN, M.; DABROWSKI, K.; PORTELLA, M. C. Growth, fat content and fatty acid profile of South American catfish, surubim (*Pseudoplatystoma fasciatum*) juveniles fed live, commercial and formulated diets. *J. Appl. Ichthyol.*, v. 25, p. 73-78, 2009.

ÁRNASON, J.; BJÖRNSDOTTIR, R.; ARNARSSON, I.; ÁRNADOTTIR, G. S.; THORARENSEN, H. Protein requirements of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture Research*. v. 41, p. 385-393, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of analysis of association of official analytical chemists. 18 ed. Maryland: AOAC, 2005.

BARTON, B, A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ Comp Biol*, v.42, p.517-525, 2002.

BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Dietary lysine requirement of juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887). *Aquaculture*, v. 297, p. 151- 156, 2009.

BUITRAGO-SUÁREZ, U. A.; BURR, B. M. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. *Zootaxa*, v.1512, p.1-38, 2007.

CAMPOS, P.; MARTINO, R. C.; TRUGO, L. C. Amino acid composition of Brazilian surubim fish (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with different levels and sources of fat. *Food Chemistry*, v. 96, p.126-130, 2006.

CARVALHO, D. C.; SEERG, A.; MELO, D. C.; SOUSA, A. B.; PIMENTA, D.; OLIVEIRA, D. A. A. Identificação molecular de peixes: o caso do Surubim (*Pseudoplatystoma spp.*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 32, p. 215-219, 2008.

CHROUSOS, G, P. Stressors, stress and neuroendocrine integration of the adaptive response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 851, p. 311-335, 1998.

ESPE, M., LEMME, A., PETRI, A., EL-MOWAFI, A. Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. *Aquaculture*, v.263,,p. 168-178, 2006.

ESPE, M.; SVEIER, H.; HØGØY, I.; LEID, E. Nutrient absorption and growth of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) fed fish protein concentrate. *Aquaculture*, v. 174, p. 119-137, 1999.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Food and Agriculture Organizations of the United Nations. ISBN 978-92-5-106029-2, 2008.

FARIA, P.M.C. *Produção de híbridos de Pseudoplatystoma spp. em sistema de recirculação de água*. 2010. 51f. Tese (doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FORSTER, I.; OGATA, H. Y. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder, (*Paralichthys olivaceus*), and juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, v. 161, p. 131-142, 1998.

FURUYA, W. M.; BOTARO, D.; MACEDO, R. M. G.; SANTOS, V. G.; SILVA, L. C. R.; SILVA, T. C.; FURUYA, V. R. B.; SALES, P. J. P. Aplicação do Conceito de Proteína Ideal para Redução dos Níveis de Proteína em Dietas para Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, p. 1433-1441, 2005.

FURUYA, W. M.; FURUYA, V. R. B.; Composição de aminoácidos da carcaça do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) baseada no conceito da proteína ideal. *Zootecnia Tropical*, v. 21, 2003.

GONÇALVES, E. G.; CARNEIRO, D. J. Coeficientes de Digestibilidade Aparente da Proteína e Energia de Alguns Ingredientes Utilizados em Dietas para o Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, p. 779- 786, 2003.

HARDY, R. W.; BARROWS, F. T.; Diet Formulation and Manufacture. Fish Nutrition. (ed. by J.E. Halve & R.W. Hardy), pp. 144-179. Academic Press, San Diego, CA, USA. 2002.

KAUSHIK, S. J.; SEILIEZ, I. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*. v. 41, p. 322-332, 2010.

LIMA, L .C.; RIBEIRO, L. P.; MELO, D, C. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 30, p. 113-117, 2006.

LIM, L. C.; DHERT, P.; CHEW, W. Y.; DERMAUX, V.; NEILS, H.; SORGELOOS, P. Enhancement of Stress Resistance of the Guppy, *Poecilia reticulata*, through Feeding with Vitamin C Supplement. *Journal of the Aquaculture Nutrition*, v. 33, p. 32-40, 2002.

LOCHMANN, R. T.; DAVIS, K. B.; SIMCO, B.A. Cortisol response of golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) fed diets differing in lipid content. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 29, p. 29-34, 2002.

LUO, Z.; LIU, Y. J.; MAI, K. S.; TIAN, L. X.; YANG, H. J.; TAN, X. Y.; LIU, D. H. Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. *Aquaculture*, v. 249, p. 409-418, 2005.

MARCOULI, P.A., ALEXIS, M.N., ANDRIOPOULOU, A., ILIOPOULOU-GEORGUDAKI, J. Dietary lysine requirement of juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture Nutrition*, v. 12, p. 25-33, 2006.

MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim, *Pseudoplatystoma corruscans*. *Aquaculture*, v. 209, p. 209-218, 2002.

MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Performance, carcass composition and nutrient utilization of surubim, *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz), fed diets with varying carbohydrate and lipid levels. *Aquaculture Nutrition*, v.11, p. 131-137, 2005.

MARTINO, R. C.; TRUGO, L. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L. Use of White Fat as a Replacement for Squid Liver Oil in Practical Diets for Surubim, *Pseudoplatystoma coruscans*. *Journal of the Aquaculture Society*, v. 34, p. 192-202, 2003.

MATHILAKATH, M.V., PEREIRA, C, FORSYTH R. B., KENNEDY C. J., IWAMA, G. K, Handling stress does not affect the expression of hepatic heat shock protein 70 and conjugation enzymes in rainbow trout treated with β -naphthoflavone. *Life Sci.*, v. 61, p. 117–127, 1997,

MOON, T. W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, v. 129, p. 243-249, 2001.

MONTES-GIRAO, P. J.; FRACALOSSO, D. M. Dietary Lysine Requirement as Basis to Estimate the Essential Dietary Amino Acid Profile for Jundiá (*Rhamdia quelen*). *Journal of the Aquaculture Society*, v. 37, p. 388-396, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutritional requirements of fishes. *Washington: Academic Press*, 114p., 1993.

NAYLOR, R. L.; GOLDBURG, R. J.; PRIMAVERA, J. H.; KAUTSKY, N.; BEVERIDGE, M. C. M.; CLAY, J.; FOLKE, C.; LUBCHENCO, J.; MOONEY, H.; TROEL, M. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, v. 405, p. 1017-1024, 2000.

PERES, H.; OLIVIA-TELES, A. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, v. 275, p. 283-290, 2008.

PERES, H.; OLIVIA-TELES, A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, v. 250, p. 755-764, 2005.

PEZZATO, L. E. Alimentos convencionais e não convencionais disponíveis para indústria de nutrição de peixes no Brasil. *Anais do Simpósio Internacional sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos*. São Paulo, p. 34–52, 1995.

RIBEIRO, L. P.; MIRANDA, M. O. T. Rendimento de processamento do surubim *Pseudoplatystoma coruscans*. In: Miranda MOT (Ed.). Surubim. Belo Horizonte: IBAMA, p.101-111. (Coleção Meio Ambiente, Série Estudos da Pesca, 19). 1997.

RIBEIRO, L. P.; MIRANDA, M. O. T.; MURATORI, M. C. S. Unidade de pesquisa e demonstração tecnológica em aquicultura. Belo Horizonte: Departamento de Zootecnia, EV/UFMG, 72p., (Projeto de pesquisa apresentado a FAPEMIG), 1996.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; ANDRADE-TALMELLI, E. F.; GODINHO, H. M. Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (teleostei, siluriformes, pimelodidae), mantidas em cativeiro. *Bol Inst Pesca*, v.29, p.151-159, 2003.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: *Funep*, 283p., 2007.

SANTOS, M. A.; PACHECO, M. *Anguilla anguilla* L. Stress Biomarkers Recovery in Clean Water and Secondary-Treated Pulp Mill Effluent . *Ecotoxicology and Environmental Safety*. V. 35, p. 96-100, 1996.

SMALL, B. C.; SOARES, J. H. Estimating the quantitative essential amino acids requirements of striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture Nutrition*, v. 4, p. 225-232, 1998.

SMALL, B. C.; SOARES, J. H. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture Nutrition*, v. 6, p. 207-212, 2000.

TACON, A. G. J. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp – *Training Manual. I. The Essential Nutrients*. 117 p., FAO, Brasilia, DF, Brasil, 1987.

TEIXEIRA, E. A.; SALIBA, E. O. S.; EULER, A. C. C.; FARIA, P. M. C.; CREPALDI, D .V.; RIBEIRO, L. P. Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. *Revista Brasileira de Zootecnia*. V. 39, p. 1180-1185, 2010.

TEJPAL, C. S.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; KUMAR, J. A.; MUTHAPA, N. A.; VIDYA. S.; RAJAN, M. G. Dietary supplementation of L-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings. *Aquaculture*, v. 293, p. 272-277, 2009

THIESSEN, D. L.; CAMPBELL, G. L.; ADELIZI, P. D. Digestibility and growth performance of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with pea and canola products. *Aquaculture Nutrition*, v. 9, p. 67-75, 2003.

VAN ANHOLT, R. D.; KOVEN, W. M.; LUTZKY, S.; WANDELAAR BONGA, S. E. Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, v. 238, p. 369-383, 2004.

WILSON R.P. Fish Nutrition: Amino acids and proteins. San Diego, CA, USA. Academic Press, 2002, p. 144-179.

ZARATE, D. D.; R. T. LOVELL. 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*, v.159, p.87-100, 1997.

ZHANG, C.; AI, Q.; MAI, K.; TAN, B.; LI, H.; ZHANG, LU. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R). *Aquaculture*, v. 283, p. 123-127, 2008.

ZHOU, F.; SHAO, J.; XU, R.; MA, J.; XU, Z. Quantitative L-Lysine requirement of juvenile black sea bream (*Spaurus Macrocephalus*). *Aquaculture Nutrition*, v. 16, p. 194-204, 2010.

ZHOU, Q. C.; WU, Z. W.; TAN, B. P.; CHI, S. Y.; YANG, Q. H. Optimal dietary methionine requirement for Juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 258, p. 551-557, 2006.