



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



**EXIGÊNCIA DE METIONINA MAIS CISTINA DIGESTIVEL
PARA MANTENÇA E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO PARA
TAMBAQUI COM DIFERENTES PESOS CORPORAIS**

NELIANE GALVÃO PORTO

CHAPADINHA-MA

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



NELIANE GALVÃO PORTO

**EXIGÊNCIA DE METIONINA MAIS CISTINA DIGESTIVEL
PARA MANTENÇA E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO PARA
TAMBAQUI COM DIFERENTES PESOS CORPORAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Felipe Barbosa Ribeiro

Co-Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Delmondes
Bomfim

CHAPADINHA-MA

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Porto, Neliane Galvão

Exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaqui com diferentes pesos corporais/ Neliane Galvão Porto. - 2020.

50 f.

Orientador(a): Felipe Barbosa Ribeiro.

Co-Orientador(a): Marcos Antonio Delmondes Bomfim.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (25.06) / CCAA, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha-MA, 2020.

1. Aminoácido essencial. 2. *Colossoma macropomum*. 3. Método fatorial. 4. Retenção de proteína.

NELIANE GALVÃO PORTO

**EXIGÊNCIA DE METIONINA MAIS CISTINA DIGESTIVEL
PARA MANTENÇA E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO PARA
TAMBAQUI COM DIFERENTES PESOS CORPORAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Dissertação defendida e aprovada em: 25/03/2020

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Felipe Barbosa Ribeiro (Orientador)

Doutor em Zootecnia
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Jane Mello Lopes

Doutor(a) em Ciências
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Marcos Antonio Delmondes Bomfim (Co-Orientador)

Doutor em Zootecnia
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por tudo.

Agradeço ao professor e orientador Felipe Barbosa Ribeiro pelos ensinamentos, pelo exemplo de profissional, também pela confiança em mim depositada durante esta etapa. Meus agradecimentos se estendem ao Prof. Dr. Jefferson Costa de Siqueira e ao Prof. Dr. Marcos Antonio Delmondes Bomfim (co- orientador), pelo apoio a minha formação.

A Universidade Federal do Maranhão, ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, pela oportunidade concedida. Aos professores e funcionários pelo conhecimento repassados e pela atenção concedida.

Aos meus pais, Maria José e Nazionel, pelo apoio e incentivo, sem medir esforços em todas as horas, sempre dando força para continuar, tornando o caminho mais fácil e prazeroso. Aos meus irmãos Francinaldo Galvão, Franciane Galvão, Francivaldo Galvão, Naiane Galvão e Naliane Galvão e aos meus cunhados Luan Patrik, Antonio menezes, Nathalia Garreto e Rosa Eliane que estiveram juntos, nesta caminhada apoiando e motivando.

Agradeço a uma pessoa em especial, Rafael Marchão, pela paciência, apoio, ajuda, principalmente pelo poço de calma e ensinamento, muito obrigada pelo auxílio durante esta etapa.

Aos antigos e atuais colegas do Laboratorio de Nutrição e Alimentação de Organismos Aquático do Maranhão- LANUMA pela ajuda na condução dos experimentos: Dhulya, Marilene, Alynne, Ada, Carol, Larissa, Maria, Maylanne, Maylla, Jakeline, Thiago, Neto e Matheus.

Agradeço aos amigos especiais pela ajuda na condução dos experimentos, e principalmente pelo companheirismo, paciência e momentos de alegria durante este período no setor de piscicultura: Dayana Costa, Hyanne Lima, Maykon Sousa, André Alves e Alynne Nascimento.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, apoio ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e ao MEC- Ministério da Educação. À FAPEMA - Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão pela concessão da bolsa durante o período de mestrado.

Muito obrigada a todos que ajudaram para realização e conclusão de mais esta etapa.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo Geral.....	4
2.2 Objetivos Específicos	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	5
3.2 Proteína e metionina mais cistina para peixes	6
3.4 Métodos para determinação da exigência de aminoácidos para peixes	7
3.5 Exigência de metionina mais cistina para manutenção e eficiência de utilização para peixes	8
REFERÊNCIAS	11
CAPÍTULO 2.....	18
EXIGÊNCIA DE METIONINA MAIS CISTINA DIGESTIVEL PARA MANUTENÇÃO E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO PARA TAMBAQUI COM DIFERENTES PESOS CORPORAIS.....	18
INTRODUÇÃO	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXO ÚNICO	40

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1.	Composição em aminoácidos totais e digestível do milho e do farelo de soja utilizados nas rações experimentais.....	23
Tabela 2.	Composição das dietas isenta de proteína (DIP) e dieta referência (DR).....	24
Tabela 3.	Níveis de metionina + cistina digestível das dietas experimentais.....	25
Tabela 4.	Peso médio inicial (PI), peso médio final (PF) e ganho de peso (GP) de tambaquis alimentados com diferentes níveis de metionina mais cistina digestível.....	28
Tabela 5.	Consumo de ração (CR), consumo de met. + cis. digestível (CMCD), retenção de proteína corporal (RPC) e retenção de met. + cis. (RMC) de tambaquis alimentados com diferentes níveis de metionina mais cistina digestível.....	29

LISTA DE FIGURAS

p.

Figura 1.	Representação gráfica da regressão linear da retenção de proteína corporal em função do consumo de metionina mais cistina digestível (a e b) para tabaquis(100 e 300 g).....	30
Figura 2.	Representação gráfica da retenção de proteína corporal em função do consumo da metionina mais cistina digestível para tabaquis (100 a 300g)	30
Figura 3.	Representação gráfica da regressão linear da retenção de metionina mais cistina em função do consumo de metionina mais cistina digestível (a e b) para tabaquis (100 e 300 g)	31
Figura 4.	Figura 4. Representação gráfica da retenção da metionina mais cistina em função do consumo de metionina mais cistina digestível para tabaquis (100 a 300 g)	32

RESUMO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie endêmica do rio Amazona, que apresenta destaque na piscicultura brasileira, devido as suas características como sabor de sua carne, seu hábito alimentar onívoro, que permite utilizar ração industrial na sua criação e se adapta bem ao sistema de cultivo intensivo. Contudo, são escassos na literatura trabalhos que relatam o efeito do peso corporal sobre as exigências de aminoácidos para manutenção e eficiência de utilização para o tambaqui. Objetivou-se determinar a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaqui com diferentes pesos corporais. Foram realizados dois experimentos. No primeiro experimento foram utilizados 125 tambaquis com pesos médios iniciais de $100 \pm 8,41$ g e no segundo experimento foram utilizados 75 tambaquis com peso de $300 \pm 42,52$ g. Ambos os experimentos foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições, com cinco e três peixes para animais com pesos corporais de 100 e 300 g, respectivamente, por unidade experimental. Os tratamentos consistiam em dietas contendo 0,264; 0,396; 0,528 e 0,660% de metionina mais cistina digestível, formuladas por meio da técnica da diluição das dietas. Para determinar a exigência da metionina mais cistina para manutenção, realizou-se análise de regressão entre o consumo de metionina mais cistina digestível e a retenção de proteína corporal; e a exigência de manutenção foi determinada quando o consumo da metionina mais cistina digestível proporcionou retenção proteína igual a zero. Para determinar a eficiência de utilização da metionina mais cistina para o crescimento foi utilizado o valor do coeficiente de inclinação da reta, obtida através da análise de regressão entre o consumo da metionina mais cistina digestível e a suas retenções. Os dados de retenção de proteína e metionina mais cistina foram comparados pelo teste de paralelismo e não foi observada diferença entre os parâmetros obtidos nas diferentes faixas de peso, sendo necessário apenas uma equação para descrever as respostas dos tambaquis com pesos corporais de 100 a 300 g. A exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui com pesos corporais de 100 a 300 g é de $60,47 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ e a eficiência de utilização de 42%, não havendo influência do peso corporal para as faixas de peso de 100 a 300 g.

Palavras-Chave: Aminoácido essencial, *Colossoma macropomum*, Método fatorial, Retenção de proteína.

ABSTRACT

Tambaqui (*Colossoma macropomum*) is an endemic species of the Amazon river, which is prominent in Brazilian pisciculture, due to its characteristics such as the taste of its meat, its omnivorous food habit, which allows the use of industrial feed in its creation and adapts well to the system intensive cultivation. However, there are few studies in the literature that report the effect of body weight on amino acid requirements for maintenance and utilization efficiency of for tambaqui. The objective was to determine the requirement of methionine plus digestible cystine for maintenance and utilization efficiency of use for tambaqui with different body weights. Two experiments were carried out, in the first experiment 125 tambaquis were used with initial mean weights of 100 ± 8.41 g and in the second experiment 75 tambaquis were used with weight of 300 ± 42.52 g. Both experiments were distributed in a completely randomized design, with four treatments and five replications, with five and three fish for animals with body weights of 100 and 300 g, respectively, per experimental unit. The treatments consisted of diets containing 0.264; 0.396; 0.528 and 0.660% methionine plus cystine digestible, formulated using the diet dilution technique. To determine the requirement of methionine plus digestible cystine for maintenance, a was performed regression analysis between the consumption of methionine plus digestible cystine and the retention of body protein; and maintenance was determined when consumption of methionine plus digestible cystine provided protein retention equal to zero. To determine the efficiency of using methionine plus cystine for growth, the value of the slope coefficient of the line was used, obtained through the regression analysis between the consumption of methionine plus ingested digestible cystine and its retention. The protein and methionine retention data plus cystine were compared by the parallelism test and no difference was observed between the parameters, being needed one equation for to describe the responses from tambaquis with body weights of 100 and 300 g. The requirement for methionine plus digestible cystine for maintenance tambaqui with body weights of 100 and 300 g is $60.47 \text{ mg kg}^{-0.7} \text{ day}^{-1}$ and the utilization efficiency is 42%, with no influence of body weight for the weight ranges 100 to 300 g.

Key-words: Essential amino acid, *Colossoma macropomum*, Factorial method, Protein retention.

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie endêmica das bacias dos rios Amazonas e Orinoco. No seu ambiente natural alimenta-se de pequenas sementes e frutas (LOPERA-BARRETO et al., 2011). É um peixe popular entre os piscicultores do Norte e Nordeste do Brasil, devido às características organolépticas da sua carne, hábito alimentar onívoro/ frutívoro/ zooplancetófago, que permite utilizar ração comercial na sua criação e se adaptar bem ao sistema de cultivo intensivo (GOMES et al., 2010; DAIRIKI; SILVA, 2011; WOYNÁROVICH; VAN ANROOY, 2019).

Assim como os demais animais monogástricos, os peixes apresentam exigências de dez aminoácidos essenciais e dez não essenciais (WILSON, 2002). Dentre os essenciais, a metionina é um aminoácido que participa na síntese de proteína e funções metabólicas, atuando juntamente com a lisina na síntese de carnitina, transportando os ácidos graxos para a β -oxidação na mitocôndria (LEWIS, 2003). É um aminoácido limitante em dietas práticas para peixes, principalmente quando se utiliza proteína de origem vegetal (GOFF; GATLIN, 2004; MAI et al., 2006).

Para determinar a exigência de aminoácidos para animais monogástricos, tem-se utilizado o método dose resposta (BOMFIM et al., 2008; SOUZA et al., 2019). Esse método determina a exigência em resposta ao aumento do aminoácido teste da dieta, encontrando a exigência que maximiza o desempenho animal (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007; SIQUEIRA, 2009).

O método fatorial é outra metodologia que vem sendo utilizada para determinar a exigência de aminoácidos. Esse método foi utilizado por Siqueira et al. (2011), em estudos com aves, e em pesquisas conduzidas com algumas espécies de peixes (HELLAND et al., 2010; RICHARD et al., 2010; GRISDALE- HELLAND et al., 2011a, b; HUA, 2011; HE et al., 2013). Essa abordagem permite estimar exigência para animais com diferentes estados produtivos (FULLER, 1994) e pode ser aplicado a amplas condições (SHEARER, 1995). A pressuposição do método fatorial é que a necessidade de um nutriente é a soma dos requisitos de manutenção mais crescimento/ produção (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Entende-se por exigência de manutenção a quantidade de nitrogênio ingerida necessária para manter o animal em equilíbrio de nitrogênio, ou seja, quando a retenção de nitrogênio for zero (BAKER et al., 1966; SCOTT et al., 1982; LUPATSCH et al., 2003; AGUIAR, 2016; SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). A eficiência de utilização considera a inclinação da reta

obtida pela regressão linear da deposição do aminoácido no corpo em função da ingestão do aminoácido (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Em pesquisas de nutrição para peixes é amplamente aceito que a exigência de proteína diminui à medida que o peixe aumenta o peso corporal (NRC, 2011), consequentemente assumindo que os requisitos de aminoácidos também diminuem com o aumento de peso corporal dos peixes (HUA et al., 2019). Entretanto, Emmans e Fisher (1986) demonstraram que as exigências de aminoácidos para manutenção estão mais intimamente relacionadas ao conteúdo de proteína corporal, tendo em vista a inexistência de demanda de aminoácidos para manutenção das reservas lipídicas (EMMANS; OLDHAM, 1988; BURNHAM; GOUS, 1992; GOUS, 2007).

Alguns estudos com peixes relatam um aumento nos valores das exigências dos aminoácidos para manutenção com o acréscimo do peso corporal (HE et al., 2013; HUA et al., 2019). Todavia, He et al. (2013) observaram que os valores de eficiência de utilização da lisina e metionina reduzem com o aumento do peso corporal (21 e 165 g). Isto pode ser uma indicação de uma diminuição na eficiência da deposição de aminoácido e um aumento da necessidade de aminoácidos essenciais à medida que o peixe cresce (HUA et al., 2019).

São escassos na literatura trabalhos que estudam o efeito do peso corporal sobre as exigências de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para o tambaqui. Neste sentido, objetivou-se determinar a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaqui com diferentes pesos corporais (100 e 300 g).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Determinar a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para o tambaqui (*Colossoma macropomum*) com diferentes pesos corporais (100 e 300 g).

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com diferentes pesos corporais.

- Determinar a eficiência de utilização da metionina mais cistina digestível para o tambaqui com diferentes pesos corporais.

- Verificar se o efeito do peso corporal influencia os valores de manutenção e eficiência de utilização da metionina mais cistina digestível para o tambaqui.

- Viabilizar informações que proporcionem a elaboração de rações de menor capacidade poluente no meio aquático.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

O Brasil produziu cerca de 519,3 mil toneladas de peixes, e do total o tambaqui é a segunda espécie mais produzida, com uma produção de 102,6 mil toneladas em 2018. As principais regiões produtoras são o Norte (74,9 mil toneladas) e o Nordeste (21,2 mil toneladas), mostrando a importância social e economia do cultivo da espécie (IBGE, 2018).

A sua criação está difundida em diversas regiões do Brasil e de países do continente sul-americano (GOMES et al., 2010). Esta espécie destaca-se por seu elevado potencial produtivo, valor comercial, fácil manuseio e por apresentar o hábito alimentar onívoro/frugívoro /zooplactófago, possibilitando a utilização de rações industriais na sua criação (DAIRIKI; SILVA, 2011; WOYNÁROVICH; VAN ANROOY, 2019).

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) pertencente à classe Actinopterygii, é originário da América do Sul, das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (GOMES et al., 2010; DAIRIKI; SILVA., 2011). Essa espécie é um excelente filtrador, devido à presença de opérculos que permitem alto fluxo de água, capturando zooplâncton (GOULDING; CARVALHO, 1982), e no ambiente natural pode consumir pequenas sementes e frutas (LOPERA-BARRETO et al., 2011). É um animal de grande rusticidade e resistente à hipóxia, persistente em ambientes com oxigênio dissolvido abaixo de 1 mg L⁻¹, devido a capacidade de expansão dos lábios inferiores (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1998; BALDISSEROTTO, 2009).

Anatomicamente, apresenta estômago alongado, acompanhado por cecos pilóricos que auxiliam na digestão dos nutrientes da dieta, intestino comprido, que se apresenta 2,5 vezes maior quando comparado ao tamanho do corpo (HONDA, 1974; GOULDING; CARVALHO, 1982; ROTTA, 2003). Morfologicamente, seu trato digestório é dividido em esôfago, estômago cecos pilóricos, intestino proximal e distal, com predominância de enzimas digestivas no intestino proximal e cecos pilóricos, concentrando a digestão nesses dois locais (CORRÊA et al., 2007). No entanto, Almeida et al. (2006) consideram o estômago o principal local responsável pela digestão de proteína, uma vez que a atividade proteolítica foi detectada neste local.

3.2 Proteína e metionina mais cistina para peixes

A proteína é um dos nutrientes mais estudados, devido sua importância na formação dos tecidos musculares dos peixes e influencia diretamente sobre o crescimento. A proteína da dieta, no trato digestório, é hidrolisada em pequenos peptídeos e aminoácidos livres. Após a absorção pelos enterócitos no intestino delgado, são direcionados aos órgãos e tecidos por meio da corrente sanguínea, sendo utilizados para manutenção, crescimento e/ou reprodução (WILSON, 2002; ROLLIN et al., 2003; NRC, 2011, LIMA et al., 2015).

A proteína é aproveitada com maior eficiência pelos peixes quando apresenta um perfil aminoacídico adequado e a quantidade de energia disponível na forma de carboidratos e lipídeos. Dietas com teor proteico insuficiente podem retardar o crescimento, comprometer a eficiência alimentar ou gerar a imunodepressão, mobilizando a proteína de alguns tecidos para manutenção de outras funções vitais. Níveis elevados de proteína, acima da exigência, acarretará catabolismo de aminoácidos excedentes, logo, maior excreção de compostos nitrogenados no meio aquático (TAKISHITA et al., 2009; BRANDÃO et al., 2009; FURUYA; FURUYA, 2010; NRC, 2011; BOMFIM, 2013).

Os peixes necessitam metabolicamente de aminoácidos. Os aminoácidos são classificados nutricionalmente em essenciais e não essenciais. Os aminoácidos essenciais são aqueles que não podem ser sintetizados pelo organismo dos animais ou apresentam uma síntese lenta em comparação à demanda do animal, sendo necessário fornecer na ração por meio de ingredientes proteicos ou aminoácidos industriais. Aminoácidos não essenciais são capazes de ser sintetizados endogenamente através da proteína da dieta (SAKAMURA et al., 2014).

Em pesquisas de nutrição para peixes é amplamente aceito que a exigência de proteína diminui à medida que o peixe aumenta de tamanho (NRC, 2011), consequentemente assumindo que os requisitos de aminoácidos também diminuem com o aumento de peso corporal dos peixes (HUA et al., 2019). Entretanto, há poucos trabalhos na literatura que relatam diretamente o efeito do peso corporal sobre as exigências de aminoácidos essenciais para peixes. Em estudos com salmão do atlântico (*Salmo salar*), Abboudi et al. (2006) concluíram que a exigência de lisina reduz com o aumento do peso corporal. O mesmo efeito foi observado para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), He et al. (2013) observaram que as eficiências de utilização de lisina e metionina diminuíram à medida que aumentou o peso corporal dos peixes (21 e 165 g).

A metionina é um aminoácido essencial que participa na síntese de proteína e outras funções metabólicas (TESHIMA et al., 2002; ALAM et al., 2005). É considerado aminoácido limitante em dietas a base de proteína vegetal para peixes (GOFF; GATLIN, 2004; MAI et al., 2006) e é comumente comercializado na forma DL-metionina. É um aminoácido sulfurado, devido conter na sua composição molécula de enxofre, o qual também se encontra presente na cistina, cisteína e taurina. Em condições normais, endogenamente, a metionina pode ser convertida em cistina. No entanto, o processo de reversão não é possível.

A principal função da metionina é atuar como doadora de grupo metil para substratos, tais como, ácidos nucleicos, proteínas, fosfolipídios, aminas biogênicas (MATO et al., 1997) e também na síntese da carnitina (LEWIS, 2003). A metionina auxilia no início da tradução do RNA mensageiro, sendo incorporado na posição terminal-N de todas as proteínas (ROTILI, 2014).

Outra função atribuída a metionina é participar na síntese de colina, que é utilizada em síntese de lipoproteína, responsável pelo transporte de gordura do fígado para outros órgãos. Este composto reage com a acetil coenzima A e atua como precursor da acetilcolina (neurotransmissor) (SHIAU; LO, 2000; ZEISEL, 2000; KASPER et al., 2000; REECE, 2006).

A deficiência de metionina geralmente está relacionada à redução no ganho de peso e, em algumas espécies de peixe, ocasiona catarata (WILSON, 2002). Quando ocorrer excesso, o aminoácido é catabolizado e seu α - cetoácido correspondente convertido em energia, podendo ser depositado na forma de gordura (NRC, 2011; FRACALOSSO; CYRINO, 2013; SAKOMURA et al., 2014).

3.4 Métodos para determinação da exigência de aminoácidos para peixes

A exigência de aminoácidos para peixes tem sido determinada utilizando o método dose resposta por diversos autores (WILSON, 2003; SILVA et al., 2006; ABIDI; KHAN, 2008). Por este método são avaliados os efeitos da utilização de dietas experimentais com diferentes níveis do aminoácido testado. Normalmente é utilizada uma ração basal contendo nível de proteína abaixo da exigência e suplementando-se os aminoácidos limitantes na forma industrial, com exceção do aminoácido teste (D' MELLO, 1982; NRC, 2011; BOMFIM, 2013; LEMME, 2013).

A principal crítica a essa metodologia é a fixação dos demais aminoácidos nas dietas que podem subestimar a exigência do aminoácido testado, isso porque, as maiores doses do

aminoácido testado podem ficar limitadas por outro aminoácido que venha a se tornar limitante (BOMFIM, 2013; SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Quando se refere à execução, o método dose resposta apresenta problemas (DABROWSKI; GUDERLEY, 2002), com variações nos valores de exigências determinadas (FOURNIER et al., 2002), que podem ser influenciados pelas diferenças entre as espécies, fases e a composição da dieta. Os resultados obtidos por meio deste método serão válidos para experimentos em condições semelhantes (LEMME, 2013). Apesar das críticas ao método dose resposta, sua utilização é justificada por ser prático e pela simplicidade da realização dos experimentos (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Atualmente, para obter as exigências de aminoácidos para os peixes tem-se utilizado o conceito de proteína ideal na formulação das dietas. Proteína ideal é o balanceamento exato de aminoácidos, de forma que atenda as exigências de todos os aminoácidos essenciais e não essenciais, onde cada aminoácido essencial seja expresso em relação a um aminoácido referência, a lisina (EMMERT; BAKER, 1997; FURUYA et al., 2005; BOMFIM et al., 2008).

O método fatorial é outra metodologia que vem sendo utilizada para determinar a exigência de aminoácido. Esse método foi utilizado em pesquisas conduzidas com algumas espécies de peixes (HELLAND et al, 2010; RICHARD et al, 2010; GRISDALE- HELLAND et al, 2011a, b; HUA, 2011; HE et al., 2013). Esta abordagem permite estimar exigência para animais com diferentes estados produtivos (FULLER, 1994) e pode ser aplicado a amplas condições (SHEARER, 1995). A pressuposição do método fatorial é que a necessidade de um nutriente é a soma dos requisitos de manutenção mais crescimento/ produção (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

3.5 Exigência de metionina mais cistina para manutenção e eficiência de utilização para peixes

Dos aminoácidos absorvidos no trato digestivo, parte é destinada para repor as perdas endógenas, tais como, excreção urinária, modificações irreversíveis tais como transformação da metionina em cistina, oxidações irreversíveis e as perdas do epitélio; e a outra parte é destinada a deposição de tecidos proteicos e formação de produtos, tais como enzimas e hormônios (FULLER, 1994). Portanto, a exigência é constituída pela soma desses componentes. As perdas endógenas são constituídas pelas enzimas digestivas, muco e

proteínas de origem endógena que não foram absorvidas pelo epitélio intestinal. Esse saldo é contabilizado na manutenção.

Entende-se por exigência de manutenção de aminoácido o estado de equilíbrio de nitrogênio ou aminoácidos do corpo do animal, onde a ingestão de aminoácidos é igual à soma das perdas (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). A retenção de nitrogênio ou aminoácido corporal é medida por meio da técnica do abate comparativo.

A técnica do abate comparativo consiste em destacar um grupo de animais que é abatido no início do ensaio, e no final do ensaio os animais que receberam dietas com diferentes níveis de nitrogênio são abatidos para quantificar a retenção de nitrogênio (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Há relatos de estudos desenvolvidos para determinar as exigências de proteína e energia para manutenção de algumas espécies de peixes (LUPATSCH et al., 1998; MCGOOGAN; GATLIN, 1998; FOURNIER et al., 2002). Outros estudos foram realizados para determinar a exigência nutricional de metionina de algumas espécies como o *Rachycentron canadum* (ZHOU et al., 2006), *Epoinephelus coioides* (LUO et al., 2005), *Salmo salar* (ESPE et al., 2008), *Oreochromis niloticus* (FURUYA et al., 2001, 2004), *Colossoma macropomum* (SOUZA et al., 2019).

Existem alguns grupos de estudos realizando pesquisas com o tambaqui, porém não há relatos sobre as exigências de manutenção de metionina mais cistina digestível desta espécie. São poucos os trabalhos que determinaram a exigência de manutenção de alguns aminoácidos, como da treonina e lisina para o salmão Atlântico (*Salmo salar* L.) (ROLLIN et al., 2006; HAULER et al., 2007; BODIN et al., 2008; HELLAND et al., 2010; GRISDALE-HELLAND et al., 2011b), lisina e treonina para a truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (ENCARNAÇÃO et al., 2004; NANG THU et al., 2007; BODIN et al., 2008, 2009), da lisina para turbot (*Scophthalmus maximus*) (PERES; OLIVA-TELES, 2008; HUA, 2011), lisina para o bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua* L.) (GRISDALE-HELLAND et al., 2011a), lisina e metionina para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (HE et al., 2013).

Estudos realizados para determinar a exigência de metionina mais cistina para manutenção de peixes nativos e de interesse zootécnico são inexistentes na literatura. Recentemente, Marchão (2018) em estudo com tambaquis, estimou a exigência de lisina para manutenção para diferentes pesos corporais de 121,23 e 595,93 g em 73,39 e 114,07 mg kg^{-0,7} dia⁻¹, respectivamente.

Vários autores mencionam que o tamanho do peixe, a espécie, estado fisiológico e a metodologia aplicada para realização do experimento são fatores que influenciam a exigência de um aminoácido para manutenção de peixes (HELLAND et al., 2010; PIROZZI et al., 2010; GRIDDALE- HELLAND et al., 2011; HE et al., 2013).

Através do estudo conduzido por HUA et al. (2019), o requerimento de lisina para manutenção de tilápia pode aumentar com o aumento do peso corporal. Em animais jovens, os requerimentos de aminoácidos destinados para manutenção corporal representam uma pequena fração da exigência total, porém esta situação se inverte à medida que o animal aumenta de tamanho (BONATO et al., 2011). Para Abboudi et al. (2006), o crescimento dos peixes é extremamente alto nos estágios iniciais, considerando que pode inferir que a partição do requisito entre manutenção e crescimento está mudando rapidamente com a idade do peixe.

Na nutrição, o termo eficiência significa uma medida que indica como os recursos são convertidos em resultados. A eficiência é estimada pelo coeficiente de inclinação da reta, obtido através de uma regressão linear entre o consumo e a deposição do aminoácido (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

A eficiência de utilização dos aminoácidos pode ser afetada por vários fatores, dentre eles a espécie, tamanho e/ou peso corporal, fonte de proteína e concentração de aminoácido na dieta (HE et al., 2013; HUA et al., 2019).

Estudos com a tilápia do Nilo evidenciam que o peso corporal influencia os resultados de eficiência de utilização de um aminoácido. He et al. (2013) em estudo com essa espécie com peso médio de 20,7 e 165 g verificaram diferença na eficiência de utilização de metionina com valores de 76 e 55%, respectivamente. Efeito semelhante foi observado por HUA et al. (2019) com a mesma espécie, porém utilizando a lisina e animais com três diferentes faixas de peso: pequeno ($9,8 \pm 0,0$ g), médio ($58,1 \pm 0,4$ g) e grande ($247,6 \pm 1,5$ g). Esses autores estimaram as eficiências de utilização em 68, 63 e 47%, respectivamente.

O efeito do peso corporal também foi observado para o salmão do Atlântico por Griddale- Helland et al. (2011b) e Helland et al. (2010) trabalhando com animais de 62,8 e 95,7 g, e encontraram eficiência de utilização de 69% e 53%, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- 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, n. 1, p. 369-383, 2006.
- ABIDI, S. F. e KHAN, M.A. Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Research**, Oxford, 39(14): 1498-1505, 2008.
- ARAÚJO-LIMA, C. e GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Tefé, AM: Sociedade Civil de Mamirauá, Brasília: CNPq. 186p, 1998.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M.; UYAN, O.; HERNANDEZ, L. H. H.; MICHAEL, F. R. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. **Aquaculture**, v.248, p.13-19, 2005.
- ALMEIDA, L.C.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, 12: 443-450, 2006.
- AGUIAR, F. A. A. Modelagem matemática de utilização da energia e da proteína dietética pelo pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Tese** (Doutorado em ciência animal e pastagem), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2016.
- BALDISSEROTTO, B. **Respiração e circulação**. In: BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 2ª ed. Santa Maria: Editora UFSM. p.53-75, 2009.
- BRANDÃO, L. V. et al. Suplementação de metionina e/ou lisina em rações para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). **Acta Amazonica**, vol. 39(3), 675 – 680, 2009.
- BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; SIQUEIRA, J. C.; FERNANDES, J. B. K.; GOUS, R. M. Maintenance requirements for methionine and cysteine, and threonine for poultry. **South African Journal of Animal Science**, v. 41 v. 3, p. 209-222, 2011.
- BOMFIM, M. A. D. Estratégias Nutricionais para Redução das Excreções de Nitrogênio e Fósforo nos Sistemas de Produção de Peixes no Nordeste: Sustentabilidade Ambiental e Aumento da Produtividade. **Revista Científica de Produção Animal**, v.15, n.2, p.122-140, 2013.
- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELLE, J. L.; ABREU, M. L. T.; RIBEIRO, F. B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1713-1720, 2008.
- BODIN, N., MAMBRINI, M., WAUTERS, J. B., ABBOUDI, T., OOGHE, W., LE BOULENGE, E., LARONDELLE, Y., ROLLIN, X. Threonine requirements for rainbow

trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. **Aquaculture**, 274, 353–365, 2008.

BODIN, N., BOVAERTS, B., ABBOUDI, T., DETAVERNIER, C., SAEGER, S., LARONDELLE, Y., Rollin, X. Protein level affects the relative lysine requirement of growing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **British Journal of Nutrition**, 102, 37–53, 2009.

BAKER, D. H.; BECKER, D. E.; NORTEN, H. W.; JENSEN, A. H.; HARMON, B. G. Quantitative evaluation of the threonine, isoleucine, valine, and phenylalanine needs of adult swine for maintenance. **Journal of Nutrition**, 88: 391-396, 1966.

BURNHAM, D.; GOUS, R. M. Isoleucine requirements of the chicken: requirement for maintenance. **British Poultry Science**, v.33, p.59-69, 1992.

CORRÊA, C. F.; AGUIAR, L. H.; LUNDSTEDT, L.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, 147: 857-862, 2007.

DAIRIKI, J. K.; SILVA, T. B. A. Revisão de literatura: exigências nutricionais do tambaqui – compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 44p (Embrapa Amazônia Ocidental, 91), 2011.

DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. **Intermediary metabolism**. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Eds.) *Fish nutrition*. 3.ed. Washington, D.C.: Academic Press, p.309- 365, 2002.

D' MELLO, J. P. F. A comparison of two empirical methods of determining amino acid requirements. **World's Poultry Science Journal**, v.38, p. 114-119, 1982.

ENCARNAÇÃO, P., LANGE, C., RODEHUTSCORD, M., HOEHLER, D., BUREAU, W., BUREAU, D.P. Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. **Aquaculture**, 235, 569–586, 2004.

EMMERT, J. L. Y.; BAKER, D. H. Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. **Journal Application Poultry Research**, v.6, n.4, p.462-470, 1997.

EMMANS, G. C.; FISHER, C. Problems in nutritional theory. In: FISHER, C.; BOORMAN, K. N. (Eds.) **Nutrient requirements of poultry and nutritional research**. p.9-39, 1986.

EMMANS, G. C.; OLDHAM, J. D. Modelling of growth and nutrition in different species. In: KORVER, S.; VAN ARENDONK, J. A. M. (Eds.) **Modelling of livestock production systems**. p.13-21, 1988.

ESPE, M.; HEVROY, E. M.; LIASET, B.; LEMME, A.; EL-MOWAFI, A. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.274, n.1, p.132-141, 2008.

FRACALOSSI, D. M., CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 2013.

FURUYA, W. M., HAYASHI, C., FURUYA, V. R. B., BOTARO, D., SILVA, L. C., NEVES, P. R. Exigências de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseados no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum**. v. 23, n.4, p. 885-889, 2001.

FURUYA, W. M., BOTARO, D., NEVES, P. R.; SILVA, L.C. R.; HAYASHI, C. Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. **Ciência Rural**. v.34, n.5, p. 1571- 1577, 2004.

FURUYA, W. M., BOTARO, D., MACEDO, R. D.; SANTOS, V. D., SILVA, L. C. R.; SILVA, T. D. C.; 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, n.5, p. 1433- 1441, 2005.

FURUYA, W. M.; FURUYA, E V. R. B. Rações de Baixo Impacto Ambiental para Peixes. Palestras (CD ROM) in 20 th Congresso Brasileiro de Zootecnia, **Anais...** Palmas, Brasil 2010.

FOURNIER, V., GOUILLOU-COUSTANS, M.F., METAIRER, R., VACHOT, C., GUEDES, M. J., TULLI, F., OLIVA-TELES, A., TIBALDI, E. & KAUSHIK, S. J. Protein and arginine requirements for maintenance and nitrogen gain in four teleosts, 87, 459–469. **Aquaculture**, 133, 57–72, 2002.

FULLER, M. F. **Amino acid requirements for maintenance, body protein accretion and reproduction in pigs**. In: Amino Acids in Farm Animal Nutrition (D'Mello, J.P.F. ed.), p. 155– 184, 1994.

GOFF, J. B.; GATLIN III, D. M. Evaluation of diferente sulfú amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. **Aquaculture**, v. 241, p. 465- 477, 2004.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª ed. Santa Maria: Editora da UFSM. p.175-204, 2010.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, *Characidae*): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, 1: 107-133,1982.

GRISDALE-HELLAND, B., GATLIN, D. M. III, CORRENT, E. & HELLAND, S. J. The minimum dietary lysine requirement, maintenance requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic salmon smolts. **Aquaculture Research**., 42, 1509–1529, 2011b.

GRISDALE-HELLAND, B., HATLEN, B., MUNDHEIM, H., HELLAND, S. J. Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. **Aquaculture**, 315, 260–268, 2011a.

GOUS, R. M. Methodologies for modeling energy and amino acid responses in poultry. **Brazilian Journal of Animal Science**, v.36, p.263-274, 2007.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO- LIMA, C. A. M.; BALDISSEROTTO, B. In: Tambaqui (*Colossoma macropomum*), **Especies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª. Ed. Editora UFSM, Santa Maria. 2010.p.175-204.

HAULER, R. C., CARTER, C. G., EDWARDS, S. J. (2007) Feeding regime does not influence lysine utilization by Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. **Aquaculture**, 273, 545–555, 2007.

HONDA, E. M. S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas. II Alimentação de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). **Acta Amazonica**, 4: 47-53, 1974.

HE, J. K.; TIAN, L. X.; LEMME, A.; GAO, W.; YANG, H. J.; NIU, J.; CHEN, P. F.; LIU, Y. J. Methionine and lysine requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of two sizes of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 4, p.629-640, 2013.

HELLAND, S. J.; HATLEN, B.; GRISDALE- HELLAND, B. Energy, protein and amino acid requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of Atlantic salmon post- smolts determined using increasing ration levels. **Aquaculture**. v. 305 n. 1, p. 150- 158, 2010.

HUA, K.; SUWENDI, E.; BUREAU, D. P. Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.505, p.47-53, 2019.

HUA, K. Estimating maintenance amino acids requirements of fish through a nonlinear mixed modeling approach. **Aquaculture Research**., 1–12, 2011.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SINDRA. MPOG. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>. Acesso em: 19 de março de 2020.

KASPER, C. S.; WHITE, M. R.; BROWN, P. B. Choline is required by Tilapia when methionine is not in excess. **Journal of Nutrition**, v.130, p.238-242, 2000.

LIMA, C. S.; SILVEIRA, M. M.; TUESTA, G. M. R. Nutrição proteica para peixes. **Ciência Animal**, v. 25 n. 4 p. 27-34, 2015.

LEMME, A. Recomendaciones de aminoácidos para carpas comunes - Avances en métodos para modelar. **AMINO News®**, n. 17, v. 1, p. 15-27, 2013.

LEWIS, A.J. Methionine–Cystine Relationships in Pig Nutrition. In: D’MELLO, J. P. D. (Ed.). **Amino acid in farm animal nutrition**. 2. ed. Wallingford: CAB International, cap. 8, p. 143-155, 2003.

LOPERA-BARRETO, N. M., RIBEIRO, R. P., POVH, J. A., VARGAS-MENDEZ, L. D.; POVEDA-PARRA, A. R. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros, 2011.

LUPATSCH, I.; KISSIL, G. W.; SKLAN, D. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and White grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. **Aquaculture**, v. 225, n. 1, p. 175-189, 2003.

LUPATSCH, I., KISSIL, G. W. M.; SKLAN, D., PFEFFER, E. Energy and protein requirements for maintenance and growth in gilthead seabream *Sparus aurata* L. **Aquaculture Nutrition**, n.4, 165–173, 1998.

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

MCGOOGAN, B. B. e GATLIN, D. M. III Metabolic requirements of red drum, *Sciaenops ocellatus*, for protein energy based on weight gain and body composition. **Journal of Nutrition**. 128, 123–129, 1998.

MAI, K.; ZHANG, L.; AI, Q.; DUAN, Q.; ZHANG, C.; LI, H.; WAN, J. & LIUFU, Z. Dietary lysine requirement of juvenile seabass (*Lateolabrax japonicus*). **Aquaculture**, 258:535–542, 2006.

MARCHÃO, R. S. Exigências de lisina para manutenção de tambaqui. **Dissertação** (Mestrado)-Programa de Pós- graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha- MA, f. 44, 2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Fish**. Washington, National Academy Press, 376p, 2011.

NANG THU, T.T., PARKOUDA, C., SAEGER, S., LARONDELLE, Y., ROLLIN, X. Comparison of the lysine utilization efficiency in different plant protein sources supplemented with L-lysine HCl in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. **Aquaculture**, 272, 477–488, 2007.

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

PIROZZI, I.; BOOTH, M. A.; ALLAN, G. L. Protein and energy utilization and the requirements for maintenance in juvenile mullet (*Argyrosomus japonicus*). **Fish Physiol Biochem**, v. 36, p. n. 1, 109-121, 2010.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. Corumbá: Embrapa Pantanal. 48p, 2003.

ROLLIN, X.; MAMBRINI, M.; ABOUDI, T.; LARONDELLE, Y.; KAUSHIK, S. J. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. **British Journal of Nutrition**, London, 90(5): 865-876, 2003.

ROLLIN, X., WAUTERS, J. B., BODIN, N., LARONDELLE, Y., OOGHE, W., WATHELET, B., ABOUDI, T. Maintenance threonine requirement and efficiency of its use

for accretion of whole-body threonine and protein in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. **British Journal of Nutrition**, 95, 234–245, 2006.

ROTILI, D. A. Exigência em metionina para juvenis de jundiá. **Dissertação** (mestrado)- Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais. p. 88, 2014.

REECE, W. O. Dukes: **Fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 942p, 2006.

RICHARD, L., BLANC, P. P., RIGOLET, V., KAUSHIK, S. J., GEURDEN, I. Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and their utilization efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using a factorial approach. **British Journal of Nutrition**, 103, 984–995, 2010.

SHEARER, K. D. The use of factorial modeling to determine the dietary requirements for essential elements in fishes. **Aquaculture**, 133, 57–72, 1995.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**, 2.a Ed., Funep- Unesp, Jaboticabal. 283, p. 2016.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal, SP. Funep, 116 p, 2014.

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

SIQUEIRA, J. C. Estimativas das exigências de lisina de frangos de corte pelos métodos dose resposta e fatorial. **Tese** (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 154f, 2009.

SILVA, L. C. R.; FURUYA, W. M.; SANTOS, L. D.; SANTOS, V. G.; SILVA, T. S. C.; SALES, P. J. P. Níveis de treonina em rações para tilápias do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(4): 1258-1264, 2006.

SOUZA, F. O. BOMFIM, M. A. D.; RIBEIRO, F. B.; LANNA, E. A. T.; SOUSA, T. J. R.; COSTA, D. C. Methionine plus cystine to lysine ratio in diets for tambaqui juveniles. **Revista Caatinga**. v.32, n.1, p. 243-250, 2019.

SHIAU, S. Y.; LO, P. S. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 100- 103, 2000.

SCOTT, M. L.; NESHEIM, M. C.; YOUNG, R. J. **Nutrition of the chicken**. 3 ed. Ithaca, p. 562, 1982.

TAKISHITA, S. S. et al. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2099-2105, 2009.

TESHIMA, S.; ALAM, M. S.; KOSHIO, S. et al. Assessment of requirement values for essential amino acids in the prawn, *Marsupenaeus japonicas*. **Aquaculture Research**, v.33, p.395-402, 2002.

ZEISEL, S. H. Choline: an essential nutrient for humans. **Nutrition**, v. 16, p. 669- 671, 2000.

ZHOU, Q. C., WU, Z. H., 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.

WILSON, R. P. **Amino acids and proteins**. In. HALVER, J. E., HARDY, R. W. Fish Nutrition, 3 ed., New York: Academic Press, p.143- 179, 2002.

WILSON, R.P. **Amino acid requirements of finfish and crustaceans**. In Amino Acids in Animal Nutrition, 2nd ed., (JPF D'Mello, editor). Wallingford, Oxon: CAB International, pp. 427-447, 2003.

WOYNÁROVICH, A., VAN ANROOY, R. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). **FAO** Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 1-121pp, 2019.

CAPÍTULO 2

EXIGÊNCIA DE METIONINA MAIS CISTINA DIGESTIVEL PARA MANTENÇA E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO PARA TAMBAQUI COM DIFERENTES PESOS CORPORAIS

Resumo – Objetivou-se determinar a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaqui com diferentes pesos corporais. Foram realizados dois experimentos. No primeiro experimento foram utilizados 125 tambaquis com pesos médios iniciais de $100 \pm 8,41$ g e no segundo experimento foram utilizados 75 tambaquis com peso de $300 \pm 42,52$ g. Ambos os experimentos foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições, com cinco e três peixes para animais com pesos corporais de 100 e 300 g, respectivamente, por unidade experimental. Os tratamentos consistiam em dietas contendo 0,264; 0,396; 0,528 e 0,660% de metionina mais cistina digestível, formuladas por meio da técnica da diluição das dietas. Para determinar a exigência da metionina mais cistina para manutenção, realizou-se análise de regressão entre o consumo de metionina mais cistina digestível e a retenção de proteína corporal; e a exigência de manutenção foi determinada quando o consumo da metionina mais cistina digestível proporcionou retenção proteína igual a zero. Para determinar a eficiência de utilização da metionina mais cistina para o crescimento foi utilizado o valor do coeficiente de inclinação da reta, obtida através da análise de regressão entre o consumo da metionina mais cistina digestível e a suas retenções. Os dados de retenção de proteína e metionina mais cistina foram comparados pelo teste de paralelismo e não foi observada diferença entre os parâmetros obtidos nas diferentes faixas de peso, sendo necessário apenas uma equação para descrever as respostas dos tambaquis com pesos corporais de 100 a 300 g. A exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui com pesos corporais de 100 a 300 g é de $60,47 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ e a eficiência de utilização de 42%, não havendo influência do peso corporal para as faixas de peso de 100 a 300 g.

Palavras-Chave: Aminoácido essencial, *Colossoma macropomum*, Método fatorial, Retenção de proteína,

Abstract – Objective was to determine the requirement of methionine plus digestible cystine for maintenance and utilization efficiency of use for tambaqui with different body weights. Two experiments were carried out, in the first experiment 125 tambaquis were used with initial mean weights of 100 ± 8.41 g and in the second experiment 75 tambaquis were used with weight of 300 ± 42.52 g. Both experiments were distributed in a completely randomized design, with four treatments and five replications, with five and three fish for animals with body weights of 100 and 300 g, respectively, per experimental unit. The treatments consisted of diets containing 0.264; 0.396; 0.528 and 0.660% methionine plus cystine digestible, formulated using the diet dilution technique. To determine the requirement of methionine plus digestible cystine for maintenance, a was performed regression analysis between the consumption of methionine plus digestible cystine and the retention of body protein; and maintenance was determined when consumption of methionine plus digestible cystine provided protein retention equal to zero. To determine the efficiency of using methionine plus cystine for growth, the value of the slope coefficient of the line was used, obtained through the regression analysis between the consumption of methionine plus ingested digestible cystine and its retention. The protein and methionine retention data plus cystine were compared by the parallelism test and no difference was observed between the parameters, being needed one equation for to describe the responses from tambaquis with body weights of 100 and 300 g. The requirement for methionine plus digestible cystine for maintenance tambaqui with body weights of 100 and 300 g is $60.47 \text{ mg kg}^{-0.7} \text{ day}^{-1}$ and the utilization efficiency is 42%, with no influence of body weight for the weight ranges 100 to 300 g.

Key-words: Essential amino acid, *Colossoma macropomum*, Factorial method, Protein retention.

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies nativas mais cultivadas no Brasil, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) se destaca para exploração zootécnica devido a sua adaptação à produção intensiva, rusticidade, aceitação de ração industrial (GOULDING, 1993; ARAUJO-LIMA, 2005). Além disso, tem alto valor comercial, pois sua carne é bastante apreciada no Norte e Nordeste (RODRIGUES, 2014; BRANDÃO et al., 2015).

Atualmente, o principal destaque sobre as exigências nutricionais para peixes tem sido as exigências aminoacídicas (BOMFIM et al., 2010; PIANESSO et al., 2015; SOUZA et al., 2019). A metionina é um aminoácido essencial, que participa na síntese de proteína e algumas funções metabólicas, como participação na síntese de colina, atua como doador de grupo metil para substratos de ácidos nucleicos, fosfolipídios, aminas biogênicas (MATO et al., 1997). É um aminoácido limitante em dietas práticas para peixes, principalmente quando se utiliza proteína de origem vegetal (GOFF; GATLIN, 2004; MAI et al., 2006). Já a cistina é um aminoácido não essencial, pode ser encontrada em algumas estruturas de proteína, insulina e imunoglobulina, além de interligar estruturas polipeptídicas através de pontes dissulfeto (KIEFER et al., 2005, NRC, 2011).

Para determinar a exigência de um aminoácido tem-se utilizado o método dose resposta (BOMFIM et al., 2008; SOUZA et al., 2019). Por meio deste método, a exigência é determinada avaliando a resposta em função ao aumento do aminoácido teste da dieta, que maximiza o desempenho animal (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007; SIQUEIRA, 2009). Entretanto, outra metodologia que vem ganhando destaque para determinar a exigência é o fatorial (ABBOUDI et al., 2006; HE et al., 2013; HUA et al., 2019). Pelo método fatorial, pode-se determinar a necessidade de um nutriente para o animal, considerando a soma dos requisitos de manutenção mais crescimento e/ou produção (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Entende-se por exigência de manutenção a quantidade de nitrogênio ingerida necessária para manter o animal em equilíbrio de nitrogênio, ou seja, quando a retenção de nitrogênio for zero (BAKER et al., 1966; SCOTT et al., 1982; LUPATSCH et al., 2003; SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). A eficiência de utilização considera a inclinação da reta obtida pela regressão linear da deposição de aminoácido no corpo em função da ingestão do aminoácido (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Um aspecto de relevância que vem sendo discutido é o efeito do peso corporal sobre a exigência de aminoácido para manutenção e eficiência de utilização para peixes. Em pesquisas de nutrição de peixe relatam um aumento nos valores das exigências dos aminoácidos para

manutenção com o aumento do peso corporal (HE et al., 2013; HUA et al., 2019). Contudo, são escassos na literatura trabalhos que relatam o efeito do peso corporal sobre as exigências da metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaqui. Neste sentido, objetivou-se determinar exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaquis com diferentes pesos corporais (100 e 300 g).

MATERIAL E MÉTODOS

Experimentos

Foram realizados dois experimentos, com o objetivo de avaliar o efeito do peso corporal sobre a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção e eficiência de utilização para tambaqui.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Nutrição e Alimentação de Organismos Aquáticos do Maranhão - LANUMA, localizado no Centro de Ciências Agrárias e Ambientais - CCAA da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, no município de Chapadinha, Maranhão, Brasil (03°44'33''S 43°21'201'' W; altitude 105 m).

Cada experimento teve duração de 25 dias, com cinco dias de adaptação dos animais as condições experimentais e 20 dias para o período experimental, e foram conduzidos de acordo com as normas éticas de pesquisa com animais após aprovação pelo Comitê de Ética no uso Animal da Universidade Federal do Maranhão (nº 23115.015461/2019-11).

O período experimental do presente estudo está de acordo com o recomendado por Abboudi et al. (2006), que o período não deve ser superior a 30 dias, pois pode ocorrer modificações metabólicas. Por este motivo, acreditamos que a duração do experimento foi longa o suficiente para medir com precisão a retenção de proteína corporal.

Foram utilizados 125 tambaquis com pesos médios iniciais de $100 \pm 8,41$ g e 75 tambaquis com peso médio iniciais de $300 \pm 42,52$ g, adquiridos no Departamento Nacional de Obras as Secas (DNOCS) localizado na cidade de Piriri-PI. Ambos os experimentos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (0,264; 0,396; 0,528; e 0,660% de metionina mais cistina digestível nas dietas) e cinco repetições, com cinco peixes no primeiro experimento e 3 peixes no segundo experimento por unidade experimental.

Durante os períodos experimentais os peixes foram mantidos em caixas de polietileno com capacidade de 1.000 L, dotadas de sistema individuais de abastecimento, drenagem de água e aeração.

As temperaturas máximas e mínimas durante o período experimental foram de $25,6 \pm 0,3$ e $25,3 \pm 0,6$ °C pela manhã (8:00h) e $27,5 \pm 0,1$ e $27,1 \pm 0,2$ °C à tarde (16:00h), respectivamente, para cada experimento, e foram monitoradas diariamente por intermédio de um termômetro de bulbo de mercúrio graduado de 0 a 50 °C. Os pH's ficaram na faixa de $7,02 \pm 0,3$ e $7,01 \pm 0,2$, oxigênio dissolvido de $10,80 \pm 0,7$ e $10,50 \pm 0,4$ mg/L e amônia total $\leq 1,00$ ppm, respectivamente para cada experimento. Essas variáveis foram aferidas diariamente por intermédio de um pHmetro digital, oxímetro e kit colorimétrico comercial para teste de amônia tóxica. Os valores destes parâmetros de qualidade da água durante os dois experimentos são considerados satisfatórios para o desenvolvimento da espécie (DAIRIKI; SILVA, 2011; MENDONÇA et al., 2012).

Diariamente, após aferir a temperatura ao final do dia e realizada a oferta da última alimentação, foi realizada a limpeza das caixas com troca de 50% da quantidade de água total para retirada dos resíduos e renovação da água.

Dietas experimentais

Para formulações das dietas experimentais foi realizada a análise dos teores de aminoácidos totais do milho e do farelo de soja, e posteriormente convertidos em aminoácidos digestíveis.

Tabela 1 – Composição em aminoácidos totais (AAT) e digestível (AAD) do milho e do farelo de soja utilizados nas rações experimentais.

(%)	Milho		Farelo de soja	
	AAT ¹	AAD ²	AAT ¹	AAD ²
Lisina	0,30	0,27	2,94	2,75
Metionina	0,17	0,15	0,59	0,55
Metionina + cistina	0,30	0,27	1,27	1,16
Treonina	0,38	0,34	1,91	1,74
Triptofano	0,04	0,04	0,78	0,72
Isoleucina	0,30	0,26	2,27	2,09
Valina	0,40	0,35	2,27	2,02
Leucina	0,91	0,80	3,47	3,25
Arginina	0,44	0,41	3,48	3,32
Proteína bruta	7,60		46,60	

¹Aminoácidos totais, determinados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) pelo laboratório CBO – Valinhos, SP; ²Aminoácidos digestível obtidos a partir dos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes recomendados para tilápia do Nilo (FURUYA et al., 2010).

As dietas experimentais foram formuladas utilizando a técnica da diluição das dietas (FISHER; MORRIS, 1970), para obtenção dos níveis crescentes da metionina mais cistina digestível correspondentes a 23, 34, 46 e 57% da recomendação de 1,15%, obtidas por meio da relação metionina mais cistina:lisina digestível para tambaqui de 64,8% (SOUZA et al., 2019) e 1,78% de lisina digestível recomendado por Silva et al. (2018).

Inicialmente, foi formulada uma dieta concentrada contendo 25,16% de proteína bruta (PB) e 0,660% da metionina mais cistina digestível, à base de milho e farelo de soja. Posteriormente, a mesma foi diluída com outra dieta isenta de proteína (DIP), a base de amido de milho (Tabela 2), contendo os mesmos níveis de energia, vitaminas e minerais, possibilitando a obtenção de dietas experimentais com níveis crescentes de metionina mais cistina digestível (Tabela 3).

Tabela 2 - Composição das dietas isenta de proteína (DIP) e dieta referência (DR).

Ingredientes (%)	Dietas	
	Isenta de Proteína	Concentrada (25, 18% de PB e 0,660% met.+cis.)
Farelo de soja	—	47,205
Milho	—	41,235
Amido de milho	81,489	2,000
Óleo de soja	9,944	4,368
Casca de Arroz	3,477	—
Lisina-HCl (78,24%)	—	0,341
L-Treonina (98,5%)	—	0,359
L- Triptofano (98,5%)	—	0,013
Calcário Calcítico	0,139	0,238
Fosfato Bicálcico	3,827	3,162
Premix Vit. e Min. ¹	0,500	0,500
Vitamina C ²	0,050	0,050
Sal	0,554	0,510
Antioxidante (BHT)	0,020	0,020

¹Suplemento vitamínico e mineral comercial (5 kg/t), com níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000 UI; Vit. D3, 200.000 UI; Vit. E, 1.200 mg; Vit. K3, 2.400 mg; Vit. B1, 4.800 mg; Vit.B2, 4.800 mg; Vit.B6, 4.800 mg; Vit.B12, 4.800 mg; Vit.C, 48 g; ác. Fólico, 1.200 mg; pantotenato de Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; biotina, 48 mg; cloreto de colina, 108 g; niacina, 24.000 mg; Fe, 50.000 mg; Cu, 3.000 mg; Mn, 20.000 mg; Zn, 30.000 mg; I, 100 mg; Co, 10 mg; Se, 100 mg.

²Vit. C: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo.

Pelo fato de as dietas experimentais serem formuladas pela técnica da diluição das dietas apresentam diferentes níveis de proteína bruta (10,07 a 25,18%). Para confirmar que a metionina mais cistina digestível realmente foi o primeiro nutriente limitante, e que a resposta obtida foi em função da variação da metionina mais cistina digestível e não da variação da proteína, foi realizado um quinto tratamento (controle), com cinco repetições, onde foi

adicionado 1,33 g kg⁻¹ de metionina sintética cristalizada (DL- metionina 99%) no primeiro nível de metionina mais cistina digestível testado (0,264%) até obter o segundo nível (0,396%) (Tabela 3).

Tabela 3 - Níveis de metionina mais cistina digestível das dietas experimentais.

Dieta (%)	Níveis de met.+ cis. digestível (%)				TC*
	0,264	0,396	0,528	0,660	
Isenta de Proteína	60,00	40,00	20,000	—	60,00
Concentrada	40,00	60,00	80,000	100,00	40,00
Total	100,00	100,00	100,000	100,00	100,00
Composição Nutricional					
Proteína bruta	10,07	15,11	20,14	25,18	10,07
Proteína Digestível	9,16	13,74	18,32	22,90	9,16
Met. + Cis. Digestível ²	0,264	0,396	0,528	0,660	0,396
Lisina Digestível ²	0,672	1,008	1,344	1,680	0,672
Treonina Digestível ²	0,523	0,785	1,047	1,308	0,523
Triptofano Digestível ²	0,148	0,221	0,295	0,369	0,148
Isoleucina Digestível ²	0,439	0,658	0,878	1,097	0,439
Valina Digestível ²	0,440	0,660	0,880	1,100	0,440
Leucina Digestível ²	0,746	1,119	1,492	1,865	0,746
Arginina Digestível ²	0,695	1,042	1,389	1,736	0,695

*TC: Tratamento Controle;

Composição nutricional: Energia digestível – 3000,00 kcal/kg; relação metionina + cistina /lisina digestível-39%; relação treonina/lisina digestível-77%; relação triptofano/lisina digestível-22%; fósforo disponível² - 0,60%; cálcio total - 1,20%; sódio total - 0,22%.

As dietas foram umedecidas em água aquecida a 50 °C, em seguida peletizadas para evitar lixiviação dos nutrientes na água ao fornecer as rações. Para o procedimento de peletização, foi utilizado um moinho de carne (C.A.F. Picadores de carne – modelo 98 STI).

As dietas foram ofertadas aos animais diariamente em seis refeições (8h; 10h; 12h; 14h; 16h e 18h). Em cada refeição, ofertadas em pequenas quantidades, com repasses sucessivos até a saciedade aparente, para evitar sobras ou subfornecimento.

Preparo e análises das carcaças

Para quantificar os teores de proteína inicial e final, os tambaquis foram submetidos à técnica do abate comparativo. Foram selecionados e eutanasiados com benzocaína (200 a 500 mg/L) 10 animais com pesos próximos ao da média e todos os animais de cada unidade experimental no início e final dos experimentos, respectivamente após jejum de 24 horas. Após a eutanásia, os peixes foram identificados e congelados (-20 °C) para serem processados. Os peixes de cada unidade experimental foram processados em moinho de carne (C. A. F. Picadores de carne – modelo 98 STI), homogeneizados e liofilizados por 72h (-50

°C; -80 kPa) em equipamento liofilizador L108 (LIOTOP) e posteriormente processados em moinho analítico (IKA A11 basic).

As análises de matéria seca e proteína bruta do corpo inteiro dos tambaquis e das dietas experimentais foram analisadas por meio do método padrão (AOAC, 1995). A proteína bruta (% nitrogênio x 6,25) foi determinada pelo método Kjeldahl após digestão ácida.

As análises dos teores de aminoácidos totais do milho, farelo de soja e de metionina mais cistina do corpo inteiro do tambaqui, foram realizados por meio de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) no laboratório CBO (Valinhos, Brasil).

Variáveis avaliadas

As variáveis avaliadas foram consumo de ração (CR; g peixe⁻¹ dia⁻¹), consumo de metionina mais cistina digestível (CMCD; mg kg^{-0,7} dia⁻¹), peso final (PF; g), ganho de peso (GP; %), retenção de proteína corporal (RPC; g kg^{-0,7} dia⁻¹) e retenção de metionina mais cistina (RMC; mg kg^{-0,7} dia⁻¹).

- CR (g peixe⁻¹ dia⁻¹) = Consumo de ração durante período experimental (g) / N° peixe / N° dias do experimento;

- CMCD (mg Kg^{-0,7} dia⁻¹) =
$$\frac{\text{Consumo de ração (g)} \times \text{teor de metionina mais cistina digestível da ração (\%)} / 100}{\text{Peso final (Kg}^{-0,7} / \text{N}^{\circ} \text{ dias experimentais)}}$$

- GP (%) =
$$\frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} \times 100$$

- RPC (g Kg^{-0,7} dia⁻¹) =
$$\frac{(\text{Proteína corporal final (\%)} \times \text{peso final (g)}) - (\text{proteína corporal inicial (\%)} \times \text{peso inicial (g)})}{\text{Período experimental / peso final (Kg}^{-0,7}) / 100}$$

Para calcular a retenção de metionina mais cistina (mg kg^{-0,7} dia⁻¹) foi analisado que o teor de metionina mais cistina corresponde ao valor de 3,91% da proteína do corpo inteiro do tambaqui, e calculada pela seguinte formula:

- RMC (mg Kg^{-0,7} dia⁻¹) =
$$\frac{\{(\text{deposição proteína corporal (\%)} \times \text{teor metionina mais cistina na proteína (\%)} / 100\}}{\text{Peso final (Kg}^{-0,7})}$$

Para determinar a exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção realizou-se uma análise de regressão entre o consumo da metionina mais cistina digestível (mg kg^{-0,7} dia⁻¹) e a retenção de proteína corporal (g kg^{-0,7} dia⁻¹). A exigência da metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui foi considerada quando o consumo de metionina mais cistina digestível proporcionou retenção proteína igual a zero (He et al., 2013).

A eficiência de utilização da metionina mais cistina digestível para o crescimento foi determinada utilizando o valor do coeficiente de inclinação da reta, obtido através da análise

de regressão entre o consumo de metionina mais cistina digestível ($\text{mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$) e a retenção de metionina mais cistina ($\text{mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$) (HUA et al., 2019).

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software SAS (Statistical Analysis System, versão 9.0) considerando-se um nível de significância de até 5%.

Os dados obtidos em cada experimento foram submetidos à análise de variância. Para as variáveis que apresentaram efeito, realizou-se análise de regressão linear para o consumo de ração, consumo da metionina mais cistina digestível, retenção da proteína corporal, retenção da metionina mais cistina em função dos níveis da metionina mais cistina digestível das dietas.

Para avaliar se o peso corporal influencia os resultados de manutenção e eficiência de utilização da metionina mais cistina digestível para o tambaqui, os dados de retenção da proteína e metionina mais cistina foram comparados por intermédio de teste de paralelismo (KAPS; LAMBERSON, 2004), utilizando o peso corporal como variável categórica e o CMC ($\text{mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$) como co-variável, segundo o modelo:

$$\text{RMCD}_{ij(k)} = \beta_0 + \text{PC}_i + \beta_1 * \text{CMCD}_{ij} + \sum_i \beta_{2i} (\text{PC} * \text{CMCD})_{ij} + e_{ij(k)};$$

em que RMCD_{ij} = Retenção da metionina mais cistina corresponde à observação j do peso corporal i ; PC_i = efeito do peso corporal; β_0 , β_1 e β_{2i} = parâmetros de regressão; $(\text{PC} * \text{CMCD})_{ij}$ = efeito da interação entre a variável categórica e a co-variável; e e_{ij} = erro aleatório associado a observação j do peso corporal i .

Neste caso, as hipóteses testadas foram:

- a) H_0 : $G_i = 0$ para todo i , não existe efeito do peso corporal.
 H_1 : $G_i \neq 0$ para pelo menos um i ; existe efeito do peso corporal.
- b) H_0 : $\beta_1 = 0$, a inclinação geral é igual à zero, não existe regressão.
 H_1 : $\beta_1 \neq 0$, a inclinação geral difere de zero, existe uma regressão.
- c) H_0 : $\beta_{2i} = 0$, a inclinação do peso corporal i não difere da inclinação média.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado mortalidade durante o período experimental. Também, não foi observado nenhum sinal patológico externo, mesmo nos animais alimentados com baixo nível de metionina mais cistina digestível. A variação no ganho de peso dos peixes foi de 22,82 a 29,09% e de 20,63 a 29,94% para os experimentos 1 e 2, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Peso médio inicial (PI), peso médio final (PF) e ganho de peso (GP) de tambaquis alimentados com diferentes níveis de metionina mais cistina digestível.

Peso corporal	Níveis de met.+ cis. digestível (%)	Peso médio (g)		Ganho de peso (%) ²
		Inicial	Final	
100 g	0,264	101,00±0,77	124,05±2,67	22,82±2,52
	0,396	102,07±0,30	128,13±2,79	25,51±2,50
	0,528	100,49±0,45	126,33±3,47	29,09±3,58
	0,660	101,91±0,30	129,97±3,06	27,52±2,83
	TC ¹	101,09±0,65	127,23±1,22	25,89±1,70
300 g	0,264	304,86±0,84	367,75±5,84	20,63±1,82
	0,396	305,09±1,42	373,78±2,77	25,53±3,24
	0,528	304,63±1,18	370,72±8,74	21,67±2,59
	0,660	303,21±0,42	393,98±4,91	29,94±1,71
	TC ¹	308,42±1,22	351,41±8,56	23,95±2,90

¹TC: tratamento controle (0,396 met.+cis.);

²GP (%) = (Peso final (g) - Peso inicial (g)) / Peso inicial (g) x 100;

Os valores apresentados para animais de 100 g correspondem à média (± erro-padrão) de 20 animais e para animais de 300 g correspondem à médias (± erro-padrão) de 12 animais.

Foram constatadas diferenças ($p < 0,05$) no consumo de ração, consumo da metionina mais cistina digestível e deposição de proteína corporal em função da elevação dos níveis da metionina mais cistina digestível para cada experimento. Os consumos de ração apresentaram redução linear ($p < 0,05$), por outro lado, os consumos de metionina mais cistina digestível e retenções de proteína corporal apresentaram aumento linear ($p < 0,05$) à medida que se elevou o nível da metionina mais cistina digestível na dieta para cada experimento (Tabela 5).

Os resultados obtidos para a retenção de proteína corporal e retenção da metionina mais cistina para os animais submetidos ao tratamento controle (0,396% de metionina mais cistina e 10,07% PB) foram superiores ao primeiro nível da metionina mais cistina digestível testado (0,264% da metionina mais cistina e 10,07% PB) em ambos os experimentos, mostrando que a metionina mais cistina realmente foi o primeiro aminoácido limitante das dietas experimentais (Tabela 5).

As dietas fornecidas aos peixes proporcionaram intervalo suficiente para obtenção de valores de retenção de proteína e metionina mais cistina negativas, próximas à zero, e positivas, permitindo estimar a exigência de manutenção e as eficiências de utilização, respectivamente, sem que houvesse a necessidade de extrapolações (Tabela 5).

Tabela 5 - Consumo de ração (CR), consumo de met. + cis. digestível (CMCD), retenção de proteína corporal (RPC) e retenção de met. + cis. (RMC) de tambaquis alimentados com diferentes níveis de metionina mais cistina digestível.

Peso corporal	Nível met. + cis. digestível (%)	CR*	CMCD*	RPC*	RMC*
		g/peixe ⁻¹ dia ⁻¹	mg/kg ^{-0,7} dia ⁻¹	g/kg ^{-0,7} dia ⁻¹	mg/kg ^{-0,7} dia ⁻¹
100 g	0,264	5,16±0,43	58,49±4,06	-0,02±0,04	-0,66±1,71
	0,396	4,06±0,29	67,55±3,89	0,11±0,04	4,30±1,64
	0,528	4,09±0,38	89,83±6,49	0,18±0,02	7,01±0,71
	0,660	3,53±0,22	96,88±4,51	0,36±0,05	14,01±1,85
	TC ¹	5,63±0,17	94,42±2,38	0,12±0,03	4,57±1,09
300 g	0,264	9,07±0,51	48,16±2,16	-0,25±0,02	-9,66±0,76
	0,396	8,67±0,46	67,12±2,33	0,16±0,08	6,14±3,22
	0,528	7,37±0,30	77,94±2,68	0,17±0,05	6,71±1,93
	0,660	7,73±0,43	97,86±5,32	0,47±0,04	18,27±1,49
	TC ¹	8,95±0,35	73,77±2,73	0,01±0,06	0,48±2,38

¹TC: tratamento controle (0,396 met.+cis.);

*Efeito linear; Animais de 100g: CR = -3,6834Met. + 5,9111 (p<0,0053; r² = 0,8414), CMCD = 104,1424Met + 30,0742 (p<0,0001; r² = 0,9589); RPC = 0,9091Met - 0,2600 (p<0,0001; r² = 0,9716); RMC = 35,6418Met - 10,2219 (p<0,0001; r² = 0,9716); Animais de 300g: CR = -4,0462Met. + 10,081 (p<0,0135; r² = 0,7528); CMCD = 121,1682Met. + 16,7938 (p<0,0001; r² = 0,9016); RPC = 1,5631Met - 0,5754 (p<0,0001; r² = 0,9046); RMC = 60,9154Met. - 22,4479 (p<0,0001; r² = 0,9016);

Os valores apresentados para animais de 100 g correspondem à médias (± erro-padrão) de 25 peixes e para animais de 300 g correspondem à média (± erro-padrão) de 12 animais. Para o tratamento controle correspondem à média (± erro-padrão) de 25 e 15 peixes para animais de 100 e 300 g, respectivamente.

Adicionalmente, os dados de retenção de proteína foram submetidos à análise de regressão em função do consumo da metionina mais cistina digestível, sendo as exigências de manutenção obtidas para animais de 100 g de 58,89 mg kg^{-0,7} dia⁻¹ de acordo com a equação: RPC = 0,009*CMET - 0,53 (p<0,0001; r² = 0,916); e para animais de 300 g de 61,23 mg kg^{-0,7} dia⁻¹, conforme a equação: RPC = 0,0124*CMET - 0,7593 (p<0,0001; r² = 0,7513), conforme a Figura 1a e 1b, respectivamente.

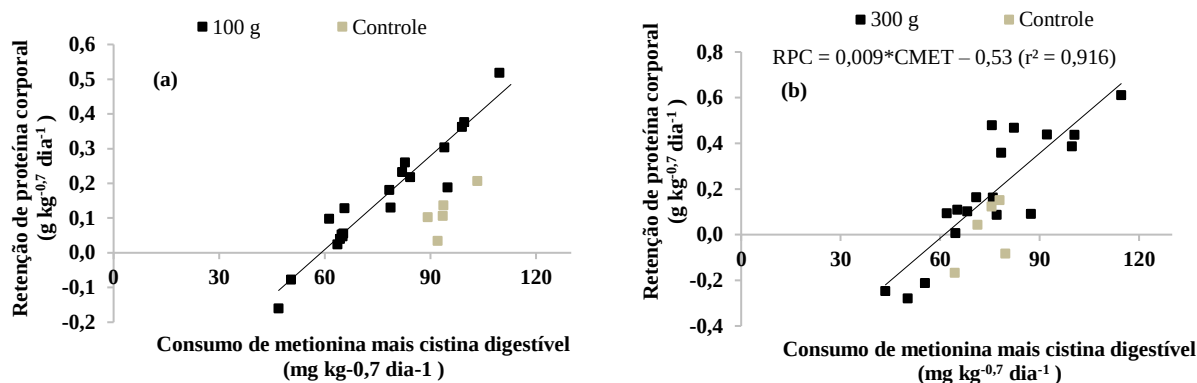


Figura 1. Representação gráfica da regressão linear da retenção de proteína corporal em função do consumo de metionina mais cistina digestível (a e b) para tambaquis (100 e 300 g).

Para verificar o efeito do peso corporal sobre as exigências individuais de manutenção para cada experimento, os dados foram submetidos a teste de paralelismo ($p > 0,05$) (KAPS; LAMBERSON, 2004), onde não foi detectada diferença entre os parâmetros das equações obtidas para cada experimento, evidenciando apenas uma equação para descrever as respostas dos pesos corporais de 100 a 300 g. Diante disso, os resultados indicam que a exigência de metionina mais cistina digestível é independente do peso corporal, e foi estimada em $60,47 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ através da regressão linear entre o consumo da metionina mais cistina e a retenção de proteína corporal, conforme a equação: $\text{RPC} = 0,0107 (\pm 0,0010) - 0,647 (0,0761) * \text{CMET}$ ($p < 0,0001$; $r^2 = 0,7758$), representada na Figura 2.

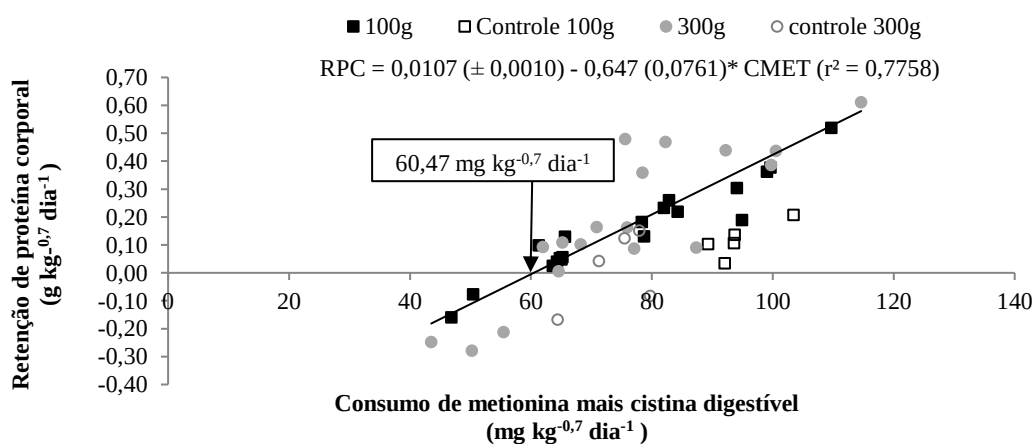


Figura 2. Representação gráfica da retenção de proteína corporal em função do consumo da metionina mais cistina digestível para tambaquis (100 a 300g).

Para estimar a eficiência de utilização da metionina mais cistina, os dados de retenção da metionina mais cistina foram submetidos à análise de regressão em função do consumo de metionina mais cistina digestível, obtendo eficiências de utilização para animais com peso de 100 g de 35,15%, de acordo com a equação: $RMC = 0,3515 \cdot CMET - 20,724$ ($p < 0,0001$; $r^2 = 0,916$) e com peso de 300 g de 48,47% conforme a equação: $CMC = 0,4847 \cdot CMET - 29,69$ ($p < 0,0001$; $r^2 = 0,7513$), representada na Figura 3a e 3b.

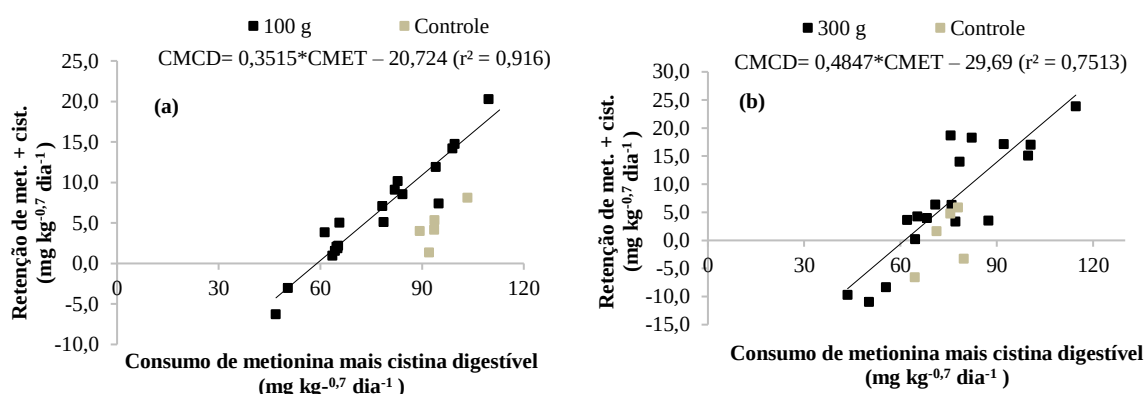


Figura 3. Representação gráfica da regressão linear da retenção de metionina mais cistina em função do consumo de metionina mais cistina digestível (a e b) para tambaquis (100 e 300 g).

Assim como os dados de manutenção, a eficiência de utilização de cada experimento foi submetida a teste de paralelismo ($p > 0,05$) (KAPS; LAMBERSON, 2004), e não foi observado efeito do peso corporal sobre a eficiência de utilização, estimando em 42% por meio do coeficiente de inclinação da reta da retenção da metionina mais cistina em função do consumo de metionina mais cistina digestível, descrita pela equação: $RMC = 0,4188 (\pm 0,0381) - 25,296 (2,9712) \cdot CMET$ ($p < 0,0001$; $r^2 = 0,7758$), representada na Figura 4.

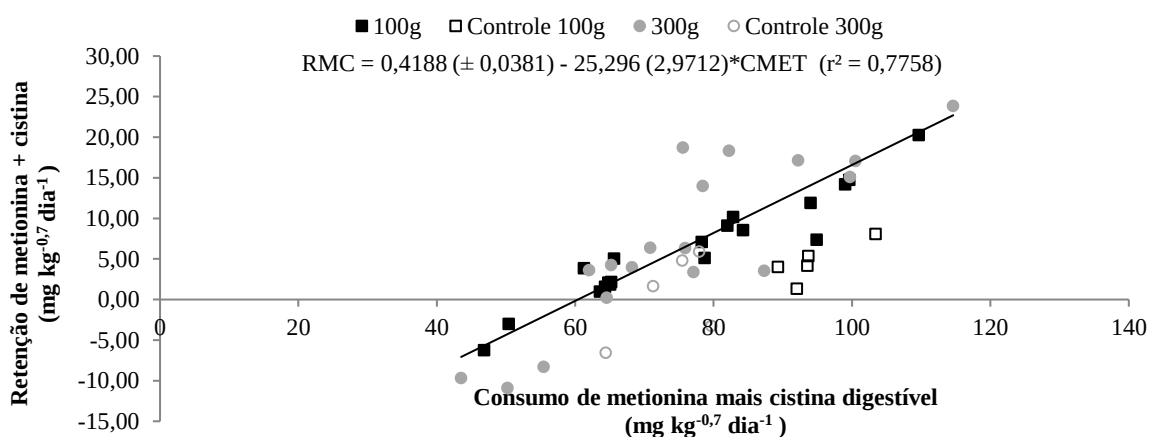


Figura 4. Representação gráfica da retenção da metionina mais cistina em função do consumo de metionina mais cistina digestível para tambaquis (100 a 300 g).

Normalmente, em estudos para determinar as exigências de aminoácidos para manutenção utilizam-se dietas deficientes do aminoácido testado, que podem ocasionar perda de peso nos animais (SIQUEIRA et al., 2011; HE et al., 2013). No presente estudo não ocorreu à perda de peso dos peixes, havendo um aumento no ganho de peso destes animais, em que a elevação dos níveis de metionina mais cistina digestível na dieta proporcionou intervalos de 22,82 a 29,09% para animais com peso corporal de 100 g e de 20,63 a 29,94% para animais com peso corporal de 300 g.

O ganho de peso vem sendo utilizado para determinar a exigência de aminoácidos em estudos de dose-resposta (BOMFIM et al., 2008; ABIMORAD et al., 2010; SOUZA et al., 2019). Contudo, não é considerado uma variável confiável para determinar a exigência de aminoácidos para manutenção ou crescimento, tendo em vista que os peixes podem ganhar peso na forma de proteína corporal, água, gordura e em menor proporção minerais (SAKOMURA, 2016; SOUSA et al., 2018).

A deposição de proteína corporal é uma variável mais precisa para avaliar a deficiência de aminoácidos na dieta, uma vez que os aminoácidos são os componentes básicos da proteína e a deficiência de um dos aminoácidos na dieta reduz a síntese proteica (GRISDALE-HELLAND et al., 2011). Neste sentido, esta variável é mais precisa para determinar a exigência da metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui. Além disso, Emmans e Fisher (1986) demonstraram que as exigências de aminoácidos para manutenção estão mais intimamente relacionadas ao conteúdo de proteína corporal, tendo em

vista a inexistência de demanda de aminoácidos para manutenção das reservas lipídicas (EMMANS; OLDHAM, 1988; BURNHAM; GOUS, 1992; GOUS, 2007).

A redução linear ($p < 0,05$) no consumo de ração com a elevação dos níveis de metionina mais cistina indica que nos primeiros níveis testados os animais aumentaram o consumo para compensar a deficiência do aminoácido teste da dieta.

A dieta controle proporcionou resposta superior ao primeiro tratamento para a variável retenção de proteína e retenção de metionina mais cistina, evidenciando que a metionina foi o aminoácido essencial limitante e não aos valores de proteína das dietas.

A exigência de manutenção de um aminoácido pode ser calculada pela relação entre a ingestão do aminoácido em estudo e a deposição de proteína (nitrogênio)/ aminoácido obtendo uma resposta linear (ABBOUDI et al., 2006; NRC, 2011). Pelo teste de paralelismo não foi observado efeito dos pesos sobre a exigência de manutenção. Neste sentido, o valor da exigência da metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui para os pesos corporais de 100 a 300 g foi de $60,47 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ para uma retenção de proteína igual a zero.

Este efeito difere do observado por He et al. (2013), em estudo com tilápia do Nilo, ao determinar as exigências de lisina e metionina para manutenção para animais com pesos corporais de 20,7 e 165 g, onde foi observado um acréscimo nos valores das exigências de manutenção com o aumento do peso corporal. A exigência de manutenção determinada pelos autores para a tilápia está abaixo do valor obtido neste estudo ($60,47 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$), em que os mesmos recomendam $3,12 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ com peso de 20,7 g e $16,5 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ para animais com peso de 165 g.

Esta divergência no valor da exigência de manutenção da metionina mais cistina do tambaqui em relação à tilápia do Nilo (He et al., 2013) pode estar atribuída a diferença entre espécies. Os menores valores da exigência da metionina para tilápias em comparação ao tambaqui podem estar relacionados aos trabalhos de melhoramento genético executado nas tilápias ao longo dos anos, para obter uma maior eficiência alimentar em um curto período de tempo. Consequentemente, haveria uma menor quantidade da metionina mais cistina para exigência de manutenção (SILVA et al., 2018). Para o tambaqui ainda são escassos programa de melhoramento genético para a espécie com o objetivo de explorar seu desempenho zootécnico, fazendo com que ainda sejam utilizados animais com menor potencial produtivo, quando comparado a outras espécies (tilápias do Nilo e salmões do Atlântico) (PONZONI, 2005).

Além da espécie, o período experimental é um fator que interfere na variação dos valores de manutenção de um determinado aminoácido. Estima-se que o período experimental não deve ser longo, uma vez que podem ocorrer mudanças na exigência durante a avaliação, e não deve ser curto, a fim de garantir alteração na deposição do conteúdo de proteína corporal (nitrogênio retido). Quando o período experimental é mais longo (>30 dias) pode ocorrer adaptação metabólica e modificações nas condições de manutenção (ABBOUDI et al., 2006). Neste estudo, o experimento durou 20 dias, encontrando-se dentro do período recomendado, sendo o suficiente para determinar a exigência de manutenção de metionina mais cistina para o tambaqui de acordo com Abboudi et al. (2006).

Em relação à eficiência de utilização de um aminoácido, esta é uma ferramenta importante para elaboração de ração de baixo custo e de menor produção de compostos nitrogenados ao meio aquático, uma vez que a metionina é um dos aminoácidos limitantes em rações práticas, principalmente quando se utiliza alimentos de origem vegetal. Além disso, os resultados obtidos de eficiência de utilização da metionina mais cistina poderá contribuir para uma melhor compreensão da utilização deste aminoácido para o tambaqui. Tais modelos fatoriais estão sendo cada vez mais utilizados para estimar os requisitos de aminoácidos essenciais dos peixes (HAULER; CARTER, 2001; ABBOUDI et al., 2006; BODIN et al., 2008; NRC, 2011; HE et al., 2013; HUA et al., 2019).

Neste estudo, o valor da eficiência de utilização da metionina mais cistina foi de 42% para os animais com pesos de 100 a 300 g. O fato de não haver diferença na eficiência de utilização da metionina mais cistina para diferentes faixas de pesos corporais, corrobora com o observado por Hauler e Carter (2001), que utilizaram um modelo fatorial e observaram que a eficiência de utilização da lisina permanece constante ao longo dos estágios de vida do salmão do Atlântico. Todavia, Hua et al. (2019) sugerem que os modelos fatoriais devem incorporar o efeito do peso corporal sobre a eficiência da utilização da lisina.

Os resultados obtidos neste estudo divergem dos observados por He et al. (2013) em estudo com tilápias do Nilo, onde a eficiência de utilização de metionina reduziu de 76% para 55% para os pesos corporais de 24,7 e 165 g, respectivamente. Para o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), Grisdale- helland et al. (2011b) determinaram a eficiência de utilização da metionina de 69% para animais com peso de 62,8 g, enquanto, por Helland et al. (2010) foi de 53% para animais com peso de 95,7 g. Efeito semelhante aos trabalhos citados também foi observado por Hua et al. (2019), utilizando a lisina para tilápias com três diferentes faixas de

pesos: pequeno ($9,8 \pm 0,0$ g), médio ($58,1 \pm 0,4$ g) e grande ($247,6 \pm 1,5$ g), onde os autores estimaram as eficiências de utilização em 68, 63 e 47%, respectivamente.

O baixo valor da eficiência de utilização de metionina mais cistina (42%) para o tambaqui em relação aos valores relatados pode estar relacionado à diferença entre as espécies. O tambaqui é considerado um peixe de crescimento lento, e provavelmente utiliza uma maior proporção das suas exigências aminoácídicas para suprir as exigências de manutenção (renovação de tecido corporal, catabolismo inevitável e perdas fecais), resultando em menor eficiência de utilização dos aminoácidos da dieta para o crescimento. Já peixes de crescimento rápido (tilápias do Nilo e salmões do Atlântico) destinam uma maior fração de suas exigências aminoácídicas para deposição de proteína corporal, consequentemente, apresentam uma maior eficiência de utilização dos aminoácidos (HELLAND et al., 2010; He et al, 2013; HUA et al., 2019). Entretanto, mais estudos tendem a ser conduzidos para verificar este efeito sobre a eficiência de utilização da metionina mais cistina para o tambaqui.

Além do peso corporal e diferença entre as espécies, outros fatores podem influenciar na eficiência de utilização dos aminoácidos, como concentração de aminoácido testado e fonte proteica da dieta, onde a baixa concentração do aminoácido na dieta aumenta os valores de eficiência de utilização. A fonte de proteína utilizada para formulações de dietas de baixo valor biológico, quando ingeridas pelos peixes, reduzem a eficiência de utilização dos aminoácidos da dieta (RODEHUTSCORD et al., 2000; NANG THU et al., 2007; HUA et al., 2019).

A pesquisa servirá como base em estudos de nutrição para tambaqui, uma vez que são inexistentes estudos de manutenção e eficiência de utilização da metionina mais cistina, possibilitando a elaboração de modelos fatoriais eficazes para determinar os requisitos nutricionais para a espécie. Neste sentido, há necessidade da realização de novos estudos visando verificar o efeito do peso corporal sobre as exigências de manutenção e eficiência de utilização da metionina mais cistina digestível para o tambaqui.

CONCLUSÃO

A exigência de metionina mais cistina digestível para manutenção do tambaqui com pesos corporais de 100 a 300 g é de $60,47 \text{ mg kg}^{-0,7} \text{ dia}^{-1}$ e a eficiência de utilização de 42%, não havendo influência do peso corporal para animais com faixas de pesos de 100 a 300 g.

REFERÊNCIAS

- 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.
- ABIMORAD, E. G.; FAVERO, 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, n. 4, p. 370-377, 2010.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) **Official Methods of Analysis**, 16 ed. Washington, D. C.: AOAC, 1995. 1094p.
- ARAÚJO – LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. **Tambaqui** (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B. Gomes, L. C. (ed) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 1ª ed. Santa Maria. Ed. Da UFSM. P. 468, 2005.
- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELLE, J. L.; ABREU, M. L. T; RIBEIRO, F. B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1713-1720, 2008.
- BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; DONZELLE, J. L.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F. B.; SOUSA, M. P. Níveis de lisina com base no conceito de proteína ideal em rações para alevinos de tilápia- do- Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.1-8, 2010.
- BODIN, N., MAMBRINI, M., WAUTERS, J. B., ABBOUDI, T., OOGHE, W., LE BOULENGE, E., LARONDELLE, Y., ROLLIN, X. Threonine requirements for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. **Aquaculture**, 274, 353–365, 2008.
- BAKER, D. H.; BECKER, D. E.; NORTON, H. W.; JENSEN, A. H.; HARMON, B. G. Quantitative evaluation of the threonine, isoleucine, valine, and phenylalanine needs of adult swine for maintenance. **Journal of Nutrition**, 88: 391-396, 1966.
- BRANDÃO, L. V.; TENÓRIO, G. L. O.; BRANDÃO, V. M. D.; COSTA, L. C. O.; PEREIRA JÚNIOR, G. P.; ROUBACH, R. Influência da adição de fitase em dietas para tambaqui. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 41, n4, 2015.
- BURNHAM, D.; GOUS, R. M. Isoleucine requirements of the chicken: requirement for maintenance. **British Poultry Science**, v.33, p.59-69, 1992.
- DAIRIKI, J. K.; SILVA, T. B. A. Revisão de literatura: exigências nutricionais do tambaqui – compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 44p (Embrapa Amazônia Ocidental, 91), 2011.
- EMMANS, G. C.; FISHER, C. Problems in nutritional theory. In: FISHER, C.; BOORMAN, K. N. (Eds.) **Nutrient requirements of poultry and nutritional research**. p.9-39, 1986.

EMMANS, G. C.; OLDFHAM, J. D. Modelling of growth and nutrition in different species. In: KORVER, S.; VAN ARENDONK, J. A. M. (Eds.) **Modelling of livestock production systems**. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, P.13-21, 1988.

FURUYA, W. M. **Tabela brasileira para nutrição de tilápia**. Toledo: GFM, 100p, 2010.

FISHER, C.; MORRIS, T. R. The determination of the methionine requirements of laying pullets by a diet dilution technique. **British Poultry Science**, v.11, p.67-82, 1970.

GRISDALE-HELLAND, B.; GATLIN, D. M.; CORRENT, E.; HELLAND, S. J. The minimum dietary lysine requirement, maintenance requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic salmon smolts. **Aquaculture Research**. n. 42, p. 1509-529, 2011.

GRISDALE-HELLAND, B., GATLIN, D.M. III, CORRENT, E. & HELLAND, S. J. The minimum dietary lysine requirement, maintenance requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic salmon smolts. **Aquaculture Research**., 42, 1509–1529, 2011b.

GOOFF, J. B.; GATLIN III, D. M. Evaluation of diferente sulfú amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. **Aquaculture**, v. 241, p. 465- 477, 2004.

GOULDING, M. Flooded forests of Amazon. **Science Amazon**, v.1, p. 113-120, 1993.

GOUS, R. M. Methodologies for modeling energy and amino acid responses in poultry. **Brazilian Journal of Animal Science**, v.36, p.263-274, 2007.

HE, J. Y.; TIAN, L. X.; LEMME, A.; GAO, W.; YANG, H. J.; NIU, J.; CHEN, P. F.; LIU, Y. J. Methionine and lysine requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of two sizes of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, n. 19, p. 629-640, 2013.

HAULER, R. C., CARTER, C, G. Lysine deposition responds linearly to marginal lysine intake in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) par. **Aquaculture Research**. 32, 147-156.2001

HUA, K.; SUWENDI, E.; BUREAU, D. P. Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.505, p.47-53, 2019.

HELLAND, S. J.; HATLEN, B.; GRISDALE-HELLAND, B. Energy, protein and amino acid requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of Atlantic salmon post-smolts determined using increasing ration levels. **Aquaculture**. n. 305, p. 150-158, 2010.

KAPS, M.; LAMBERSON, W. R. **Biostatistics for Animal Science**. Wallingford: CABI Publishing, 445p. 2004.

KIEFER, C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. D.; DONZELE, J. L.; BRUSTOLINI, P. C.; SILVA, F. D. O. Exigência de metionina mais cistina digestível para suínos machos castrados mantidos em ambiente de alta temperatura dos 30 aos 60 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.1, p. 104-111, 2005.

LUPATSCH, I.; KISSIL, G. W.; SKLAN, D. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. **Aquaculture**, v. 225, n.1, p, 175–189, 2003.

MAI, K.; ZHANG, L.; AI, Q.; DUAN, Q.; ZHANG, C.; LI, H.; WAN, J. & LIUFU, Z. Dietary lysine requirement of juvenile seabass (*Lateolabrax japonicas*). **Aquaculture** 258:535–542, 2006.

MATO, J. M.; ALVAREZ, L.; ORTIZ, P.; PAJARES, M. A. **S-Adenosylmethionine synthesis: Molecular mechanisms and clinical implications**. Pharmacology & Therapeutics - Elsevier, v. 73, n.3, p.265-280, 1997.

MENDONÇA, P. P.; COSTA, P. C.; POLESE, M. F.; VIDAL JR, M. V.; ANDRADE, D. R. Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Archivos de Zootecnia**, v.61, n.235, p. 437-448. 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. National. Academy Press, DC, USA, 2011.

NANG THU, T.T., PARKOUDA, C., SAEGER, S., LARONDELLE, Y., ROLLIN, X. Comparison of the lysine utilization efficiency in different plant protein sources supplemented with L-lysine HCl in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. **Aquaculture**, 272, 477–488, 2007.

PIANESSO, D.; NETO, J. R.; SILVA, L. P.; GOULART, F. R.; ADORIAN, T. J.; MOMBACH, P. I.; LAZZARI, R. Determination of tryptophan requirements for juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*) and its effects on growth performance, plasma and hepatic metabolites and digestive enzymes activity. **Animal Feed Science and Technology**., v. 210, p. 172-183, 2015.

PONZONI, R.W.; HAMZAH, A.; TAN, S.; KAMARUZZAMAN, N., 2005. Genetic paramaters and response for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), **Aquaculture**, v. 247, p. 203-210.

RODEHUTSCORD, M., BORCHERT, F., GREGUS, Z., PACK, M., PFEFFER, E. Availability and utilisation of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 1. Effect of dietary crude protein level. **Aquaculture** 187, 163–176, 2000.

RODRIGUES, A. P. O. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). Boletim Instituto de Pesca, v.40, n.1, São Paulo: p.135-145, 2014.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**, 2.a Ed., Funep-Unesp, Jaboticabal. 283 p. 2016.

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

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. SAS user's guide: statistics. 5.ed. Cary: SAS Institute, 956p. 2002.

SIQUEIRA, J. C.; SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S.; BONATO, M. A.; PINHEIRO, S. R. F.; NASCIMENTO, D. C. N. Exigência de lisina para manutenção determinada com galos de diferentes genótipos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.4, p.812-820, 2011.

SIQUEIRA, J. C. Estimativas das exigências de lisina de frangos de corte pelos métodos dose resposta e fatorial. **Tese** (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 154f, 2009.

SILVA, J. C.; BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; RIBEIRO, F. B.; SIQUEIRA, J. C.; SOUSA, T. J. R.; MARCHÃO, R. S.; NASCIMENTO, D. C. N. Lysine requirement for tambaqui juveniles. **Semina: Ciência Agraria**, v. 39, n.5, p. 2157-2168, 2018.

SILVA, G. F.; SHIOTSUKI, L; TEIXEIRA, R. D. A.; DIAS, L.; VILLELA, L.; FREITAS, L. E. L.; VARELA, E. Programa de melhoramento genético na piscicultura. **Embrapa Pesca e Aquicultura-Docmentos (INFOTECA- E)**, 2018.

SOUSA, T. J. R.; BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; RIBEIRO, F. B.; SIQUEIRA, J. C.; SILVA, J. C.; MARCHÃO, R. S. Phosphorus requirements of tambaqui juveniles. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 5, p. 2145-2156, 2018.

SOUZA, F. O.; BOMFIM, M. A. D.; RIBEIRO, F. B.; LANNA, E. A. T.; SOUSA, T. J. R.; COSTA, D. C. Methionine plus cystine to lysine ratio in diets for tambaqui juveniles. **Revista Caatinga**, v. 32, n.1, p.243- 250, 2019.

SCOTT, M. L.; NESHEIM, M. C.; YOUNG, R. J. **Nutrition of the chicken**. 3 ed. Ithaca, p. 562, 1982.

ANEXO ÚNICO

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA CIAEP: 01.0341.2014	 Comissão de Ética no Uso de Animais
CERTIFICADO		
Certificamos que a proposta intitulada: "EXIGÊNCIA DE METIONINA MAIS CISTINA DIGESTÍVEL PARA MANUTENÇÃO DE TAMBAQUI", Processo nº 23115.015461/2019-11, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Felipe Barbosa Ribeiro, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 03/05/2019.		
We certify that the proposal: "DIGESTIBLE METHIONINE PLUS CYSTINE REQUIREMENT FOR TAMBAQUI MAINTENANCE", Process n. 23115.015461/2019-11, under the responsibility of Prof. Dr. Nilton Maciel Mangueira, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was APPROVED by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of 05/03/2019.		
Finalidade da Proposta: Pesquisa		Área: Produção Animal – Nutrição.
Vigência da Proposta: 12/08/2019 a 12/08/2020.		
Origem:	DNOCS – Piauí (PI).	Amostra
Espécie:	Peixes (Colossoma macropomum)	Sexo: Machos Idade: ----- 220 Fêmeas Peso: 100 a 500g
Linhagem/Raça:	Tambaqui	
Local do experimento: LANUNA - Laboratório de Nutrição e Alimentação de Organismos Aquáticos do Maranhão, do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão – CCAA/UFMA.		
São Luís, 18 de junho de 2019.		
 Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA		
1		