

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIAS DIETÉTICAS DE LISINA E METIONINA
PARA FÊMEAS DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO
(*Astyanax altiparanae*) NA TERMINAÇÃO

Autor: Daniel Abreu Vasconcelos Campelo
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

Maringá
Estado do Paraná
Junho – 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIAS DIETÉTICAS DE LISINA E METIONINA
PARA FÊMEAS DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO
(*Astyanax altiparanae*) NA TERMINAÇÃO

Autor: Daniel Abreu Vasconcelos Campelo
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

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

Maringá
Estado do Paraná
Junho – 2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C193e	<p>Campelo, Daniel Abreu Vasconcelos Exigências dietéticas de lisina e metionina para fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) na terminação / Daniel Abreu Vasconcelos Campelo. -- Maringá, 2015. 91 f. : il. algumas color.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2015.</p> <p>1. Aminoácido essencial. 2. Aminotransferase. 3. Aminoácido sulfurado. 4. Peixe - Fibra muscular. 5. Peixe nativo. I. Furuya, Wilson Massamitu, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.</p> <p>CDD 21.ed. 639.31</p>
-------	---



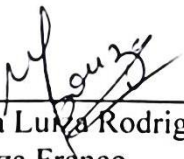
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**EXIGÊNCIAS DIETÉTICAS DE LISINA E METIONINA
PARA FÊMEAS DE LAMBARIS-DO-RABO-AMARELO
(*Astyanax altiparanae*) NA TERMINAÇÃO**


Autor: Daniel Abreu Vasconcelos Campelo
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

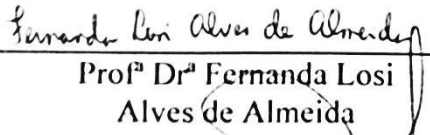
APROVADA em 15 de junho de 2015.




Profª Drª Maria Luiza Rodrigues
de Souza Franco



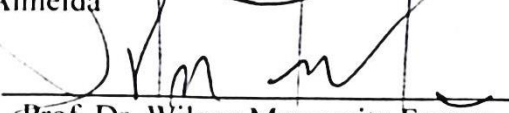
Profª Drª Simara Márcia Marcato



Profª Drª Fernanda Losi
Alves de Almeida



Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo



Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya
(Orientador)

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.”

(John Ruskin)

À memória da minha avó, Vera Lúcia Abreu Vasconcelos,

Por sempre ter acreditado em mim e me proporcionado mais do que o necessário para chegar até aqui. Sempre foi muito presente, interessada e preocupada. Muito obrigado por todo o tempo que estive ao meu lado. Tenho certeza que, onde você está, você está bastante orgulhosa por essa conquista.

“E assim, chegar e partir são só dois lados da mesma viagem”

Ao meu avô, Antonio Ulisses Costa Vasconcelos,

Minha conquista hoje também é sua, sei que você está orgulhoso, mas saiba que muito mais orgulhoso estou eu, só por saber que sou seu neto. Se algum dia eu me tornar metade do que você é, estarei satisfeito!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me guiou e esteve comigo nas mais importantes decisões, ajudando-me a escolher o caminho certo e perdoando-me quando escolhia os errados;

Aos meus avós, Antonio Ulisses Costa Vasconcelos e Vera Lúcia Abreu Vasconcelos (*in memoriam*), que sempre me apoiaram e incentivaram em tudo que escolhi;

Aos meus pais, Aimar Gomes Campelo Filho e Sumara Abreu Vasconcelos, pelo exemplo, carinho e atenção que sempre tiveram comigo;

aos meus, irmãos Tiago e Lara, e aos primos e primas, Tabata, Bruna, Eduarda, Bernardo e Gabriel, que são minha inspiração para continuar estudando e buscando sempre melhorar;

à Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao departamento de Zootecnia (DZO) e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ);

à Capes, pela concessão da bolsa de estudo;

ao Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya, pela orientação e dedicação no desenvolvimento do meu doutorado, pela confiança depositada em meu trabalho, pelos exemplos, conselhos e amizade;

à Prof^ª. Dr^ª. Ana Lúcia Salaro, pela coorientação e dedicação dispensada a mim, pelo constante incentivo e pela amizade de muitos anos;

à Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Losi Alves de Almeida, por todo empenho, dedicação, amizade e colaboração neste trabalho;

ao Prof. Dr. Jener Alexandre Sampaio Zuanon, pelas inúmeras discussões que, com certeza, contribuiram muito para minha formação, pelo exemplo e amizade;

ao Prof. Dr. Jorge Abdala Dergam dos Santos, pela atenção, amizade e por disponibilizar o laboratório de Sistemática Molecular – Beagle, para fotografar as lâminas histológicas;

à Prof^a. Dr^a. Tânia Toledo de Oliveira, por disponibilizar o laboratório de enzimologia, do departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV, para realização das análises enzimáticas;

aos professores Paulo Cesar Pozza, Antonio Claudio Furlan e Maria Luiza R. de S. Franco, pelos ensinamentos durante as disciplinas cursadas;

ao secretário do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Denilson Vicentin, pelos vários esclarecimentos e ajudas dadas durante minha formação;

aos amigos de Maringá, Dacley Hertes Neu, Luiz Vítor de Oliveira Vidal, Tadeu Orlandi Xavier, Mariana Michelato e Thêmis Sakaguti Graciano, não somente pela grande amizade e companheirismo, mas por toda ajuda prestada;

à Lorena Batista de Moura, pelo constante apoio, paciência, dedicação, grande amizade e constante ajuda em tudo o que foi preciso;

aos amigos de Viçosa, Marcio Yoshiyuki Kanashiro, Sendy Moreira Reis, Lucas Ferreira de Freitas, André Luis Fialho Ladeira, Jose Francisco Luciano, Alex Junior da Silva Cardoso, José Carlos Oliveira Júnior, Renato Barbosa Ferraz, Cristiana Leonor da Silva Carneiro, pela grande amizade e companheirismo, por todo o apoio na condução dos experimentos e toda ajuda prestada;

à amiga Pollyana de Moraes França Ferreira, pela amizade e a grande ajuda na confecção das lâminas histológicas;

aos alunos do departamento de Bioquímica, setor de enzimologia, da Universidade Federal de Viçosa, Camila, Eduardo e Gustavo, pela ajuda na realização das análises enzimáticas;

à Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos LTDA – Divisão *Animal Nutrition*, pela parceria na realização deste projeto, doação dos aminoácidos e análises laboratoriais;

à Universidade Federal de Viçosa – UFV, pela estrutura disponibilizada para condução do projeto;

a todos que, de alguma maneira, colaboraram com a execução deste trabalho.

MUITO OBRIGADO

BIOGRAFIA

DANIEL ABREU VASCONCELOS CAMPELO, filho de Aimar Gomes Campelo Filho e Sumara Abreu Vasconcelos, nasceu em 03 de fevereiro de 1987 na cidade de Sete Lagoas, MG.

Graduou-se em Agronomia, em janeiro de 2010, pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Em março de 2010, ingressou no programa de pós-graduação em biologia animal, em nível de mestrado, pelo departamento de Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa (UFV), realizando estudos na área de nutrição de peixes e defendendo a dissertação em fevereiro de 2012.

Em março de 2012, iniciou no programa de pós-graduação em zootecnia, em nível de doutorado, pelo departamento de Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá. Em março de 2015, obteve a qualificação. Nesta data, submeteu-se à banca examinadora para defesa da tese de doutorado e obtenção do título de doutor em zootecnia, com área de concentração em produção animal pela Universidade Estadual de Maringá – UEM.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
I – INTRODUÇÃO GERAL	1
II – REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>)	4
2.2 Proteínas	5
2.3 Aminoácidos	7
2.4 Lisina	12
2.5 Metionina	17
2.6 Crescimento muscular em peixes	21
2.7 Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST)	24
REFERÊNCIAS	28
III – OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo geral	37
3.2 Objetivos específicos	37
IV – EXIGÊNCIA DE LISINA PARA FÊMEAS DE LAMBARI-DO-RABO- AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)	38
Resumo	38
Abstract	39

Introdução	40
Material e métodos	41
Diets experimentais	42
Peixes e condições experimentais	42
Desempenho produtivo	43
Crescimento muscular	43
Atividade enzimática	44
Composição corporal	44
Delineamento experimental e análise estatística	44
Resultados	45
Desempenho produtivo	45
Composição corporal	46
Atividade enzimática	46
Crescimento muscular	46
Discussão	47
Referências	50
V – EXIGÊNCIA DIETÉTICA DE METIONINA + CISTINA PARA LAMBARI-DO-RABO-AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)	64
Resumo	64
Abstract	65
Introdução	66
Material e métodos	67
Diets experimentais	67
Peixes e condições experimentais	68
Desempenho produtivo	69
Crescimento muscular	69
Atividade enzimática	70
Composição corporal	70
Delineamento experimental e análise estatística	70
Resultados	71
Desempenho produtivo	71
Composição corporal	72
Atividade enzimática	72

Crescimento muscular	72
Discussão	72
Referências	76
VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS	90

LISTA DE TABELAS

	Página
II – REVISÃO DE LITERATURA	
Tabela 1 Aminoácidos essenciais e não essenciais para peixes	8
IV – EXIGÊNCIA DE LISINA PARA FÊMEAS DE LAMBARI-DO-RABO-AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)	
Tabela 1 Formulação das dietas experimentais	55
Tabela 2 Composição química e de aminoácidos das dietas experimentais, base na matéria seca	56
Tabela 3 Desempenho produtivo de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina	57
Tabela 4 Composição corporal (% da matéria natural) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina	58
Tabela 5 Atividade das enzimas AST e de ALT no soro (U L ⁻¹) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina	59
Tabela 6 Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm) em fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina	60
V – EXIGÊNCIA DIETÉTICA DE METIONINA + CISTINA PARA LAMBARI-DO-RABO-AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)	
Tabela 1 Formulação das dietas experimentais	81

Tabela 2	Composição química e de aminoácidos das dietas experimentais, base na matéria seca	82
Tabela 3	Desempenho produtivo de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina	83
Tabela 4	Composição corporal (% da matéria natural) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina	84
Tabela 5	Atividade das enzimas AST e de ALT no soro (U L ⁻¹) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina	85
Tabela 6	Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm) em fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina	86

LISTA DE FIGURAS

	Página
II – REVISÃO DE LITERATURA	
Figura 1	Conformação dos aminoácidos α , β e γ 7
Figura 2	Diferentes vias metabólicas no catabolismo de aminoácidos 10
Figura 3	Estrutura da lisina 12
Figura 4	Catabolismo da lisina por meio da via da sacaropina e da via do ácido pipecólico 14
Figura 5	Estrutura da metionina 17
Figura 6	Conversão de D-metionina a L-metionina em células animais 18
Figura 7	Metabolismo hepático da metionina 19
Figura 8	Organização anatômica da musculatura estriada esquelética em miômeros e miosseptos 21
Figura 9	Fotomicrografia explorando o tecido muscular estriado esquelético de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), evidenciando as fibras vermelhas (FV), intermediárias (FI) e brancas (FB), NADH, 40x 22
Figura 10	População de mioblastos indiferenciados (células satélites). Proliferação e diferenciação dos mioblastos. Crescimento muscular por hipertrofia e hiperplasia 23
Figura 11	Alanina aminotransferase (ALT) e sua ação na transferência do grupamento α -amino da alanina para o α -cetogluturato, levando à formação de piruvato e glutamato. O piruvato reage com o NADH, reduzindo-se a lactato e o NADH oxida-se a NAD^+ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT..... 25

Figura 12	Aspartato aminotransferase (AST) e sua ação na transferência do grupo α -amino do aspartato para o α -Cetoglutarato, levando à formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato reage com o NADH, reduzindo-se a malato e o NADH oxida-se a NAD^+ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da AST	25
IV – EXIGÊNCIA DE LISINA PARA FÊMEAS DE LAMBARI-DO-RABO-AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)		
Figura 1	Ganho de peso de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentados com dietas contendo níveis de lisina	61
Figura 2	Taxa de crescimento específico de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentados com dietas contendo níveis de lisina	62
Figura 3	Fotomicrografia representativa de corte transversal do músculo branco dorsal de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentados com dieta basal, contendo $12,13 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina. Azul de toluidina	63
V – EXIGÊNCIA DIETÉTICA DE METIONINA + CISTINA PARA LAMBARI-DO-RABO-AMARELO (<i>Astyanax altiparanae</i>)		
Figura 1	Ganho de peso de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentados com dietas contendo níveis de metionina + cistina	87
Figura 2	Taxa de crescimento específico de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentados com dietas contendo níveis de metionina + citina	88
Figura 3	Fotomicrografia representativa de corte transversal do músculo branco dorsal de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>) alimentados com dieta basal, contendo $6,71 \text{ g kg}^{-1}$ de metionina + cistina. Azul de toluidina	89

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos para determinar as exigências dietéticas de lisina e metionina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) na terminação por meio do desempenho produtivo, composição corporal, atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) e crescimento muscular. Em ambos os experimentos, os peixes foram alimentados com dietas extrusadas, até saciedade aparente, seis vezes ao dia. No primeiro experimento, com duração de 95 dias, 480 fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo, em fase de terminação ($4,96 \pm 0,02$ g), foram distribuídas em 24 aquários com 70 litros cada. Foram elaboradas seis dietas extrusadas isoproteicas ($345,0$ g kg^{-1} de proteína bruta) e isoenergéticas ($19,51$ MJ kg^{-1} de energia bruta), contendo 12,13; 13,31; 15,36; 18,79; 19,92 e $23,02$ g kg^{-1} de lisina. Com base na análise *linear response plateau* (LRP) e nos parâmetros de ganho de peso e taxa de crescimento específico, a exigência em lisina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo em fase de terminação foi estimada em $18,72$ g kg^{-1} e $18,46$ g kg^{-1} , respectivamente. Com base na composição corporal dos peixes, foi estimada exigência de $18,75$ g kg^{-1} de lisina (5,42% da proteína da dieta) por meio da regressão quadrática, para o menor conteúdo corporal de lipídeos. A atividade das enzimas AST e ALT foram menores no soro sanguíneo dos peixes que receberam os menores níveis de lisina. Peixes alimentados com níveis crescentes de lisina dietética não apresentaram diferença significativa no crescimento muscular. Conclui-se que a exigência em lisina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo é $18,72$ g kg^{-1} (5,41% da proteína da dieta). No segundo experimento, também com duração de 95 dias, 264 fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo, em fase de terminação ($6,10 \pm 0,11$ g), foram distribuídas em 24 aquários com 70 litros cada. Seis dietas extrusada isoproteicas ($310,0$ g kg^{-1} de proteína bruta) e isoenergéticas ($19,76$ Mj kg^{-1} de energia bruta) foram

elaboradas contendo 6,71; 8,31; 11,31; 13,12; 15,59 e 19,74 g kg⁻¹ de metionina + cistina. Foi observado efeito quadrático dos níveis de metionina + cistina sobre o ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica; a exigência em metionina + cistina para lambari-do-rabo-amarelo em fase de terminação foi estimada em 13,66 g kg⁻¹, 13,52 g kg⁻¹ e 13,17 g kg⁻¹, valores correspondentes a 4,40%, 4,36 e 3,25% da proteína da dieta, respectivamente. Não foram observadas diferenças para os parâmetros de composição corporal, atividade enzimática e crescimento muscular dos peixes alimentados com níveis crescentes de metionina + cistina. Concluiu-se que a exigência em metionina + cistina para lambari-do-rabo-amarelo em fase de terminação é 13,52 g kg⁻¹ (4,36% da proteína da dieta).

Palavras-chave: aminoácidos, atividade enzimática, desempenho produtivo, exigências nutricionais, fibra muscular, nutrição

ABSTRACT

Two studies were carried out to determine the dietary lysine and methionine requirement for finishing “lambari-do-rabo-amarelo” (*Astyanax altiparanae*) females through growth performance, whole body composition, activity of the enzymes alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) and muscle growth. In both experiments, fish were fed with extruded diets, until apparent satiety, six times per day. In the first experiment, during 95 days, 480 fish (4.96 ± 0.02 g) were distributed into 24 aquaria (70-L each). Six extruded isonitrogenous (345.0 g kg^{-1} of crude protein) and isoenergetic rations (19.51 MJ kg^{-1} of gross energy) were elaborated to contain 12.13, 13.31, 15.36, 18.79, 19.92 and 23.02 g kg^{-1} of lysine. Based on the *linear response plateau* (LRP) analysis and in the weight gain and specific growth rate parameters, the dietary lysine requirement of finishing “lambari-do-rabo-amarelo” was estimated at 18.72 g kg^{-1} and 18.46 g kg^{-1} lysine, respectively. Based on whole body composition, the dietary lysine requirement was estimated at 18.75 g kg^{-1} lysine (5.42% of dietary protein), through second-order regression analysis, for the lower content of lipids. The activity of ALT and AST enzymes in the blood serum of fish was lower in fish fed with the lowest levels of the dietary lysine. Fish fed graded levels of dietary lysine did not show significant differences in the muscle growth. It was concluded that the dietary lysine requirement of finishing female “lambari-do-rabo-amarelo” is 18.72 g kg^{-1} (5.41% of the diet protein). In the second study, also with a period of 95 days, 264 finishing females of “lambari-do-rabo-amarelo” (6.10 ± 0.11 g) were distributed into 24 aquaria (70-L each). Six extruded isonitrogenous (310.0 g kg^{-1} of crude protein) and isoenergetic (19.76 MJ kg^{-1} of gross energy) diets were elaborate to contain 6.71; 8.31; 11.31; 13.12; 15.59 and 19.74 g kg^{-1} of methionine + cystine. It was observed a quadratic effect of methionine+ cysteine levels on the weight gain, specific growth rate

and protein efficiency ratio, and the dietary methionine + cystine requirements of female finishing “lambari-do-rabo-amarelo” was estimated at 13.66 g kg⁻¹, 13.52 g kg⁻¹ and 13.17 g kg⁻¹, values corresponding to 4.40%, 4.36 and 4.25% of crude protein, respectively. No significant differences on whole body composition, activity of enzymes ALT and AST and muscle growth of fish fed with graded levels of dietary methionine + cystine were observed. It was concluded that the dietary methionine + cystine requirement for finishing female of “lambari-do-rabo-amarelo” is 13.52 g kg⁻¹ (4.36 % of the diet protein).

Key words: amino acids, enzymatic activity, growth performance, muscle fiber, nutrition, nutritional requirement

I – INTRODUÇÃO GERAL

A produção de pescado originado da aquicultura vem aumentando a cada ano, uma vez que o pescado proveniente da pesca extrativista tende a se estagnar. Assim, há necessidade de utilização de novas espécies e tecnologias adequadas aos diversos meios de produção (Teixeira et al., 2008).

Em 1990, a produção mundial da aquicultura foi de 12.793.795 t, enquanto a brasileira atingiu 20.360 t (Kubitza, 2007). Em 2011, segundo o MPA (2013), a produção aquícola brasileira foi de 544.490 t. Para que esse crescimento continue, é importante que a aquicultura cresça de maneira sustentável, com base nos conceitos de segurança alimentar e de desenvolvimento social, econômico e ambiental.

As rações, além de constituir cerca de 70% do custo de produção do pescado, podem apresentar alto potencial poluidor para o ambiente, principalmente pela liberação de fósforo e nitrogênio proveniente da excreção dos peixes e sobras de ração. Nesse sentido, é necessária a produção de rações com alta digestibilidade e palatabilidade que atendam às exigências nutricionais, de acordo com a espécie e a fase de desenvolvimento dos peixes (Colt & Montgomery, 1991). Assim, há necessidade de informações precisas sobre a composição e o valor nutritivo dos ingredientes utilizados e das exigências nutricionais para as diferentes espécies de peixes utilizadas na piscicultura (Furuya et al., 2010).

Os peixes, como outros animais, possuem exigências específicas por determinados aminoácidos (Bicudo & Cyrino, 2009), necessitando de quantidades e proporções adequadas de aminoácidos essenciais e não essenciais na dieta (Wilson, 2002; Furuya et al., 2010). Vários ingredientes vegetais vêm sendo utilizados em dietas para peixes em substituição aos alimentos de origem animal tradicionalmente utilizado, como a farinha de peixe, sem prejuízo ao desempenho dos animais (Martino et al.,

2002; Vargas et al., 2008; Furuya et al., 2010). Porém, a inclusão de ingredientes vegetais pode não atender às exigências nutricionais de aminoácidos dos peixes, uma vez que a maioria desses ingredientes apresenta aminoácidos limitantes para as diversas espécies, sendo necessária a suplementação com aminoácidos cristalinos (Furuya et al., 2004).

Dentre os aminoácidos essenciais, a lisina está presente em elevada proporção no tecido muscular dos peixes, sendo exigida em grande quantidade na dieta (Furuya et al., 2004). A lisina também se destaca por estar diretamente relacionada ao aumento no ganho de peso e melhoria na conversão alimentar (Cheng et al., 2003; Yuan et al., 2011; Lin et al., 2012), ao aumento na retenção de nitrogênio e redução no conteúdo corporal de lipídeos (Cheng et al., 2003; Furuya et al., 2006; Cao et al., 2012).

Além da lisina, os demais aminoácidos essenciais também devem estar presentes de acordo com as exigências do animal, uma vez que o desequilíbrio entre os aminoácidos pode levar a uma baixa utilização da proteína dietética e, conseqüentemente, reduzir o crescimento dos peixes (Berge et al., 2002). A metionina é fonte de enxofre para muitos componentes celulares e participa na doação de grupos metil para reações de metilação, pela via S-adenosil metionina (Mato et al., 1997; Espe et al., 2008), sendo usada na biossíntese de colina e tiamina, além de ser convertida em cistina (Alam et al., 2001).

Nos peixes, o crescimento muscular ocorre pelos mecanismos de hiperplasia (aumento do número de fibras musculares) e a hipertrofia (aumento na área das fibras musculares). A contribuição de cada um desses mecanismos para o crescimento muscular é dependente da espécie, da fase de crescimento e do tipo de músculo (Dal Pai et al., 2000; Aguiar et al., 2005). Os aminoácidos da dieta podem ser utilizados para deposição muscular, aumentando o crescimento do peixe, ou podem ser transaminados e seu esqueleto de carbono ser utilizado para geração de energia (Newsholme et al., 2010). Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são transaminases importantes envolvidas no processo de catabolismo dos aminoácidos. Assim, a avaliação do crescimento muscular e da atividade das enzimas ALT e AST são ferramentas importantes em estudos de nutrição, pois possibilitam melhor entendimento sobre a utilização metabólica dos aminoácidos.

O lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) destaca-se como uma espécie promissora na piscicultura, por apresentar maturidade sexual precoce, reprodução em ambientes de criação sem necessidade de indução hormonal e ciclo produtivo curto

(Gonçalves et al., 2014). Além disso, devido ao hábito alimentar onívoro, aceita prontamente dietas processadas (Porto-Foresti et al., 2010). Possui mercado específico e em franca expansão, em função do sabor da carne e a boa aceitação pelo consumidor, principalmente na forma de petisco. Também é utilizado como isca viva na pesca comercial e esportiva. As fêmeas apresentam maior taxa de crescimento que os machos e são preferidas para a engorda, sendo comercializadas com peso entre 5 e 10 g. Entretanto, ainda são poucas as informações sobre as exigências nutricionais dos lambaris (Cotan et al., 2006).

Apesar da importância da lisina e da metionina em dietas para peixes, ainda não há informações sobre as suas exigências dietéticas para lambaris-do-rabo-amarelo na terminação. Portanto, com o presente trabalho objetivou-se determinar as exigências dietéticas de lisina e de metionina + cistina para fêmeas adultas de lambaris-do-rabo-amarelo, por meio do desempenho produtivo, composição corporal, análise morfológicas das fibras musculares e avaliação da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).

II – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)

O gênero *Astyanax* é o mais diversificado da região Neotropical, sendo facilmente encontrado nas bacias hidrográficas brasileiras (Garutti & Britski, 2000; Suzuki & Orsi, 2008). Todos os peixes que fazem parte deste gênero são vulgarmente conhecidos como lambaris. *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000), espécie anteriormente classificada como *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), conhecido vulgarmente como lambari-do-rabo-amarelo ou lambari-tambiú, pode ser encontrado desde o nordeste brasileiro até a bacia do Prata (Souza & Andrade, 1983; Vilela & Hayashi, 2001; Cotan et al., 2006).

O lambari-do-rabo-amarelo agrupa-se em cardumes (Suzuki & Orsi, 2008) e apresenta alta plasticidade alimentar, alimentando-se desde lodo a pequenos insetos (Vilella et al., 2002; Bennemann et al., 2005). Pode atingir 40 a 60 g e medir até 15 cm de comprimento (Porto-Foresti et al., 2010). Apresenta dimorfismo sexual, sendo que as fêmeas maduras apresentam ventre bastante desenvolvido e vascularizado, enquanto os machos apresentam corpo mais esguio e espículas ásperas na nadadeira anal durante o período reprodutivo (Porto-Foresti et al., 2010). A maturidade sexual ocorre entre três a cinco meses de idade, sendo que os machos alcançam a maturidade antes das fêmeas e a reprodução ocorre com maior frequência no período chuvoso, com desova parcelada sem cuidado parental (Garutti, 2003).

Entre as espécies nativas, o lambari-do-rabo-amarelo destaca-se na aquicultura, pela alta prolificidade e curto ciclo de produção (Cotan et al., 2006; Porto-Foresti et al., 2010). Aceita dietas processadas e, como apresenta hábito alimentar onívoro (Andrian et al., 2001; Cotan et al., 2006; Porto-Foresti et al., 2010), possui maior capacidade em

utilizar fontes proteicas de origem vegetal em sua dieta. Essa espécie é bastante procurada para consumo na forma de petisco e como isca viva para a pesca esportiva (Hayashi et al., 2004; Ferreira et al., 2014), também apresenta potencial para ser comercializado enlatado ou em conserva (Ferreira et al., 2014). Além disso, devido ao seu pequeno porte e rápido ciclo de produção, os lambaris podem ser utilizados como um modelo experimental para estudos com espécies de peixes de maior porte (Gonçalves et al., 2014).

Vários estudos foram realizados sobre a biologia desta espécie, porém poucos estudos foram conduzidos em relação à nutrição, considerando o lambari-do-rabo-amarelo um peixe de interesse para a piscicultura. Cotan et al. (2006) determinaram a exigência de energia em $2.900 \text{ kcal kg}^{-1}$ em rações contendo 32% de proteína bruta, para alevinos de lambari-do-rabo-amarelo ($1,30 \pm 0,01 \text{ g}$). Hayashi et al. (2004) determinaram a melhor frequência alimentar em quatro vezes ao dia, enquanto Vilela & Hayashi (2001) concluíram que a densidade de 31 peixes m^{-3} em tanques-rede possibilitou maior peso e melhor conversão alimentar, porém a densidade de 124 peixes m^{-3} possibilitou maior biomassa total, mas com peixes menores. Abimorad & Castellani (2011) estimaram a exigência de aminoácidos essenciais por meio da composição de aminoácidos do músculo e da carcaça de lambari-do-rabo-amarelo, capturados na natureza com peso médio de $9,56 \pm 4,2 \text{ g}$. Recentemente, Ferreira et al. (2014) demonstraram o potencial do óleo de orégano como promotor de crescimento para alevinos de lambari-do-rabo-amarelo ($1,46 \pm 0,09 \text{ g}$) e Campelo et al. (2014) demonstraram a capacidade de enriquecimento deste peixe com ácido linoleico conjugado (CLA).

2.2 Proteínas

As proteínas foram reconhecidas em 1787, pelo grupo de pesquisadores do francês Antoine-François Fourcroy. Esses pesquisadores classificaram a albumina, a fibrina e o glúten de trigo como uma classe distinta de moléculas biológicas que podiam coagular quando aquecidas ou tratadas com ácidos. Apenas em 1838, a composição química das proteínas; carbono (50,0-55,0%), hidrogênio (6,5-7,5%), nitrogênio (15,5-18,0%), oxigênio (21,5-23,5%) e enxofre (0,5-2,0%) foi descrita pelo químico holandês Gerardus Johannes Mulder, apesar do mesmo não ter inferido as proporções de cada elemento. Em 1840, o químico alemão Justus Von Liebig propôs que as proteínas eram

constituídas por aminoácidos, mas o termo aminoácido passou a ser utilizado no idioma inglês somente em 1898. Com o passar dos séculos e o aprimoramento das pesquisas, as técnicas avançadas auxiliaram na determinação precisa da composição e estrutura molecular das proteínas. Atualmente, é aceito que as proteínas são macromoléculas constituídas por uma ou mais cadeias polipeptídicas que possuem estruturas tridimensionais distintas (Wu, 2013); é o componente orgânico mais abundante nos tecidos animais, sendo essencial em todos os tipos de células vivas, incluindo as células dos músculos, ossos, órgãos, tendões e ligamentos (Nelson & Cox, 2011; NRC, 2011).

As proteínas são formadas por unidades denominadas aminoácidos (Lovell, 1998), quando dois ou mais aminoácidos se ligam por meio de ligações peptídicas formam um peptídeo. Peptídeos que apresentam de dois a 20 aminoácidos são denominados oligopeptídeos, já os que apresentam mais de 20 aminoácidos são denominados polipeptídeos. De modo geral, as proteínas são definidas como polipeptídeos com mais de 72 aminoácidos. Porém, existem exceções, como a ubiquitina e a insulina, que apresentam 29 e 51 aminoácidos em sua estrutura, respectivamente, mas ambas são consideradas proteínas e apresentam estrutura tridimensional bem definida (Jones, 2012).

É necessário o fornecimento contínuo de proteína na alimentação animal, para atender as exigências de manutenção e produção (Furuya et al., 2010), uma vez que elas representam aproximadamente 65 a 75% da matéria seca corporal (Wilson, 2002) e desempenham papel estrutural (músculo, colágeno e queratina), regulam o metabolismo (enzimas e hormônios), atuam no transporte de algumas substâncias (hemoglobina) e nos mecanismos de defesa do organismo (anticorpos) (Portz & Furuya, 2012).

O processo de digestão proteica, nos animais gástricos, tem início no estômago, onde ocorre a secreção do ácido clorídrico (HCl) e do pepsinogênio, o pH baixo do estômago desnatura a maioria das proteínas e possibilita a conversão do pepsinogênio em pepsina (Nelson & Cox, 2011). A pepsina é responsável pela quebra das ligações peptídicas, hidrolisando parcialmente as proteínas e liberando cadeias polipeptídicas para a digestão final no intestino (Lovell, 1998). Por outro lado, nos animais agástricos, como os peixes da família Cyprinidae, por exemplo, a digestão ocorre no intestino pela ação de proteases alcalinas, como a tripsina pancreática, responsável pelo início da hidrólise das proteínas. O intestino também produz várias enzimas que completam a digestão das proteínas, como a carboxipolipeptidase e a leucina aminopeptidase (Baldisserotto, 2013).

O produto final da digestão proteica são os peptídeos e os aminoácidos, que são transportados ou absorvidos através da membrana apical dos enterócitos que revestem o intestino, e, em seguida, entram no sistema circulatório (Grosell et al., 2011). O valor nutritivo da proteína varia entre os diferentes alimentos, dependendo do balanceamento de aminoácidos, quantidade e disponibilidade dos mesmos (Pezzato et al., 2004).

2.3 Aminoácidos

Os aminoácidos são compostos orgânicos que apresentam um grupo amino, um grupo carboxil e um grupo R. Quando o carbono ligado ao grupo carboxil (carbono α) é o mesmo carbono que contém o grupo amino, esse aminoácido é denominado α aminoácido. Porém, se o grupo amino estiver ligado ao carbono ao lado do α (carbono β), o aminoácido é denominado β aminoácido e assim por diante, seguindo o alfabeto grego (Figura 1).

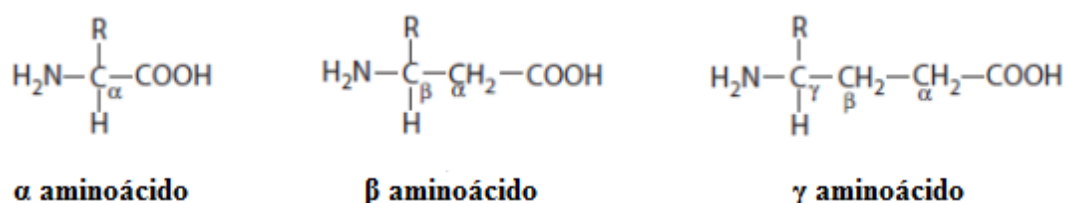


Figura 1 - Conformação dos aminoácidos α , β e γ . Adaptada de Wu (2013).

Existem mais de 700 aminoácidos conhecidos na natureza, mas apenas 20 são utilizados na síntese de polipeptídios, e todos os 20 são α aminoácidos. Esses aminoácidos são denominados aminoácidos proteicos ou aminoácidos padrão (Wu, 2013). Os aminoácidos proteicos podem ser classificados como essenciais ou não essenciais e se diferenciam em relação ao seu grupo R, que varia em relação a sua estrutura, tamanho e carga elétrica (Nelson & Cox, 2011).

Aminoácidos essenciais são aqueles em que a síntese do organismo não é suficiente para atender às exigências e permitir o ótimo desenvolvimento (Li et al., 2009). Estes aminoácidos devem ser obrigatoriamente adquiridos por meio da dieta. Todas as espécies de peixes estudadas, até o momento, têm apresentado exigência para dez aminoácidos essenciais, lisina, metionina, treonina, triptofano, valina, histidina, arginina, fenilalanina, leucina e isoleucina (Wilson, 2002). Os demais aminoácidos podem ser sintetizados em quantidades satisfatórias, sendo considerados não essenciais

(Tabela 1). Porém, para que a síntese proteica ocorra normalmente, todos os 20 aminoácidos devem estar presentes em quantidade e proporção adequadas (Wilson, 2002). Alguns aminoácidos são classificados como condicionalmente essenciais, uma vez que não são sintetizados em quantidades suficientes em animais submetidos a determinadas condições ambientais ou fisiológicas (Li et al., 2009).

Tabela 1 - Aminoácidos essenciais e não essenciais para peixes

Aminoácidos essenciais	Aminoácidos não essenciais
Arginina (Arg)	Alanina (Ala)
Fenilalanina (Phe)	Asparagina (Asn)
Histidina (His)	Aspartato (Asp)
Isoleucina (Ile)	Cisteína (Cys)
Leucina (Leu)	Glutamato (Glu)
Lisina (Lys)	Glutamina (Gln)
Metionina (Met)	Glicina (Gly)
Treonina (Thr)	Prolina (Pro)
Triptofano (Trp)	Serina (Ser)
Valina (Val)	Tirosina (Tyr)

Fonte: Adaptada de Li et al. (2009).

Os aminoácidos oriundos da digestão da proteína dietética podem ser utilizados pelos microrganismos presentes no trato gastrointestinal ou absorvidos na membrana apical dos enterócitos, principal célula da mucosa intestinal. A absorção desses aminoácidos pode ocorrer conjuntamente com a absorção de Na^+ , por transportadores não dependentes de Na^+ ou por difusão passiva. A absorção dependente de Na^+ não gasta energia diretamente, mas depende de um gradiente de concentração ativo favorável à entrada de Na^+ na célula, geralmente a bomba de Na^+/K^+ , assim o aminoácido entra na célula junto com o Na^+ , pois o transporte só funciona com um aminoácido ligado ao transportador (Baldisserotto, 2013). Quando dois aminoácidos apresentam um transportador em comum como, por exemplo, arginina e lisina, existindo grande quantidade de um deles os transportadores específicos disponíveis são sobrecarregados e a absorção do outro aminoácido é dificultada. Porém, alguns aminoácidos podem ser absorvidos por mais de um tipo de transportador, o que reduz essa competição (Rotta, 2003). A absorção de peptídeos menores (formados por 2 ou 3 aminoácidos) também pode ocorrer, normalmente por pinocitose, na porção posterior do intestino. Esses peptídeos são hidrolisados a aminoácidos pela ação de peptidases no interior dos enterócitos (Baldisserotto, 2013).

Alguns aminoácidos são amplamente metabolizados pela mucosa intestinal. A oxidação de certos aminoácidos (glutamato, aspartato e glutamina) é a principal fonte de energia dos enterócitos, enquanto outros são rapidamente transferidos para o sistema vascular e distribuídos pelo corpo. A microbiota intestinal também pode utilizar os aminoácidos, presentes no lúmen intestinal, para o seu desenvolvimento. O alto catabolismo de aminoácidos dietéticos no intestino, tanto pelos enterócitos quanto pelos microrganismos intestinais, além de reduzir a eficiência de utilização das proteínas e aminoácidos dietéticos, altera o padrão dos aminoácidos que entram no sistema circulatório (Wang et al., 2009).

Os aminoácidos que entram na corrente sanguínea são direcionados para os diversos tecidos do corpo, onde podem ser utilizados na síntese proteica para formação de novas proteínas (crescimento e reprodução) ou substituir as proteínas já existentes no corpo (manutenção) (Wilson, 2002). Também podem ser utilizados na formação de outros compostos nitrogenados (enzimas, hormônios, ácidos nucleicos, anticorpos). Além dos aminoácidos provenientes da dieta, a corrente sanguínea também pode transportar aminoácidos mobilizados das proteínas corporais. Aminoácidos livres, que não foram utilizados pelos tecidos ou foram mobilizados a partir dos tecidos, retornam para a corrente sanguínea e não podem ser armazenados pelo corpo. Assim, o catabolismo de aminoácidos ocorre independente do estado nutricional em que o animal se encontra e a taxa catabólica aumenta logo após a alimentação (Jungas et al., 1992).

A principal diferença entre os aminoácidos e os demais nutrientes é a presença de nitrogênio (N) em sua estrutura, dessa forma, o catabolismo da molécula de aminoácido está relacionado com a desaminação do mesmo. O principal resultado desse processo é o esqueleto de carbono do aminoácido, que pode ser utilizado para produção de energia ou convertido em glicose ou lipídeos (Walton, 1985; Nelson & Cox, 2011). Em peixes, os locais mais comuns para ocorrer o processo de desaminação são o fígado e os rins (Fauconneau, 1985).

Devido aos diferentes grupos R, cada aminoácido apresenta uma via catabólica única. No entanto, o catabolismo de muitos aminoácidos apresenta uma série de passos em comum, que podem gerar intermediários do ciclo de ácido cítrico. A principal função do ciclo de ácido cítrico é gerar $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2 , no processo também é gerado CO_2 e GTP. Após ser transportado para a mitocôndria, o NADH e o FADH_2 são oxidados por meio do sistema de transporte de elétrons mitocondrial, o que leva a produção de ATP e água (Newsholme et al., 2010). Dessa forma, o esqueleto de

carbono pode ser utilizado para produção de energia. Os intermediários do ciclo de ácido cítrico formados a partir da desaminação dos aminoácidos ou originados da glicólise dos carboidratos, também podem ser utilizados como precursores para a biossíntese de novos aminoácidos (Hepher, 1988).

Todos os intermediários do ciclo de ácido cítrico podem ser regenerados no processo cíclico, assim, a oxidação completa dos aminoácidos ocorre apenas quando seu esqueleto de carbono é convertido em intermediários como acetoacetyl-CoA ou acetyl-CoA (Wu, 2013). A maioria dos aminoácidos não são completamente oxidados e podem ser utilizados como substrato para a gliconeogênese, processo de formação de glicose que ocorre nos rins e no fígado, sendo denominados aminoácidos glicogênicos. A lisina e a leucina são aminoácidos cetogênicos, ou seja, são completamente oxidadas a acetoacetyl-CoA ou acetyl-CoA e esses intermediários não podem ser usados para a produção de glicose, mas podem gerar corpos cetônicos. Por outro lado, isoleucina, fenilalanina, treonina, triptofano e tirosina são, ao mesmo tempo, aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Figura 2) (Nelson & Cox, 2011). O excesso de glicose formada a partir da gliconeogênese, e também o acetyl-CoA formado por aminoácidos cetogênicos, pode ser utilizado para a lipogênese (Nelson & Cox, 2011).

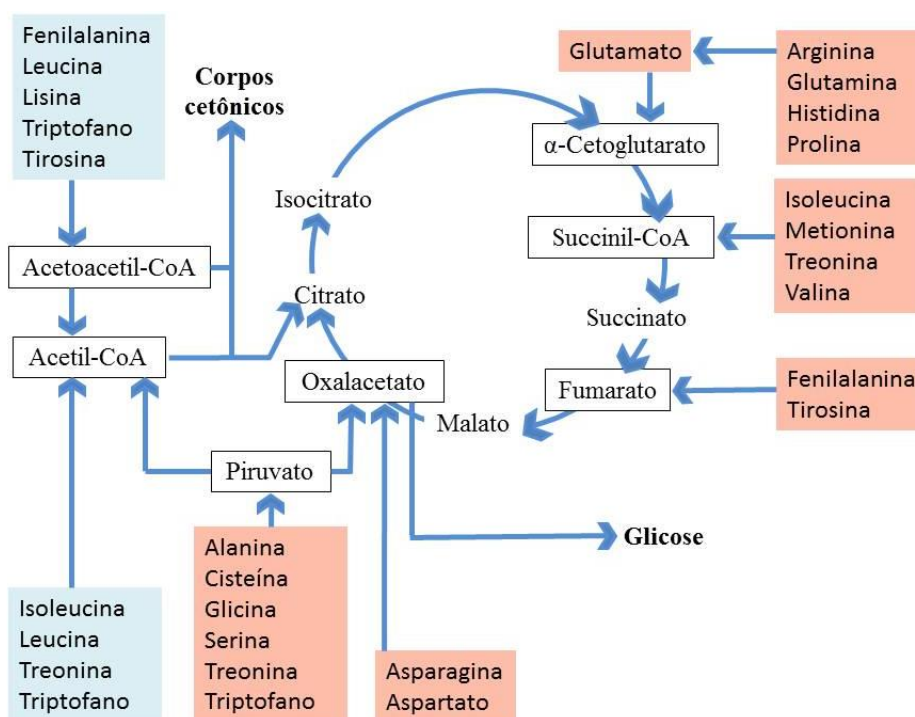


Figura 2 - Diferentes vias metabólicas no catabolismo de aminoácidos. Adaptada de Nelson & Cox (2011).

Devido ao gasto energético necessário para o processo de desaminação do aminoácido, a utilização de aminoácidos como substrato para o metabolismo energético é eficientemente inferior, quando comparado com a oxidação de glicose ou ácidos graxos (Wu, 2013). Além disso, a amônia (NH_3) produzida pela desaminação oxidativa tem que ser eliminada do corpo, pois se torna tóxica quando acumulada no sangue. Essa necessidade de excreção torna o processo ainda menos eficiente em animais que convertem a amônia tóxica em componentes não tóxicos, como ureia ou ácido úrico, em mamíferos e aves, respectivamente (Nelson & Cox, 2011).

Os animais aquáticos apresentam vantagens na utilização de aminoácidos como fonte de energia, pois realizam a excreção passiva da amônia diretamente para o meio aquático (Baldisserotto, 2013). Além de ser um composto mais simples que a ureia e o ácido úrico, a amônia dissolve-se facilmente na água (Hepher, 1988). Na maioria dos peixes, a excreção de amônia ocorre principalmente nas brânquias, que é responsável por 75% da excreção, os outros 25% são excretados pela urina. Peixes carnívoros apresentam maior excreção de amônia em relação aos peixes onívoros, pois necessitam de maior quantidade de proteína e utilizam mais os aminoácidos como substrato energético (Baldisserotto, 2013). Em geral, as exigências de aminoácidos dos peixes, quando expressa como porcentagem da dieta, são maiores que as de aves e suínos, mas quando os aminoácidos são expressos como porcentagem da proteína, as exigências são similares (Furuya et al., 2010).

As proporções de aminoácidos utilizados para síntese de proteínas corporais ou catabolizados, para geração de energia e outros compostos, depende principalmente do conteúdo de proteína da dieta, da composição de aminoácidos dessa proteína e da quantidade de energia proveniente de carboidratos e lipídeos disponível na dieta, além da exigência proteica e energética do próprio animal (Guillaume et al., 2001).

Em animais que recebem dietas com concentração proteica menor que a exigida ocorre redução ou interrupção do crescimento, uma vez que ocorrem obilização de proteína dos tecidos menos vitais para manutenção das funções dos tecidos mais vitais. Por outro lado, se a concentração proteica da dieta é maior do que a exigência do animal, apenas uma parte da proteína será utilizada para síntese de novas proteínas e o restante será catabolizado para produção de energia (Wilson, 2002). O mesmo ocorre quando a dieta apresenta desbalanceamento de aminoácidos (Wu, 2013).

2.4 Lisina

Todos os 20 aminoácidos formadores de proteínas são diferenciados pelo seu grupo R. No caso da lisina (Figura 3), o grupo R lhe confere carga positiva e características hidrofílicas, como descrito por Nelson & Cox (2011). A lisina foi descoberta em 1889 por Ferdinand Heinrich Edmund Drechsel, que a identificou como uma substância alcalina em hidrolisados de caseína. Em 1891, a lisina foi identificada em hidrolisados de outras proteínas, incluindo a albumina do ovo. No mesmo ano, a composição da lisina foi determinada pelo mesmo pesquisador que a descobriu e o termo "lisina" foi criado por Ernst Fischer, pois essa nova substância liberava ureia após a hidrólise alcalina em meio de hidróxido de bário.

Ernst Fischer e Fritz Weigert conseguiram sintetizar quimicamente a lisina em 1902 e sua forma cristalina foi desenvolvida pela primeira vez pelos químicos americanos Hubert Bradford Vickery e Charles S. Leavenworth, em 1928 (Wu, 2013).

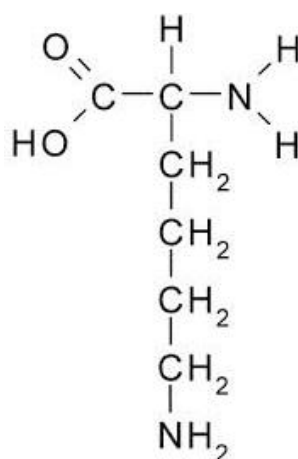


Figura 3 - Estrutura da lisina (Nelson & Cox 2011).

A lisina é o aminoácido essencial encontrado em maior concentração na composição corporal de muitas espécies de peixes (Kim & Lall, 2000). Também é o primeiro aminoácido limitante quando fontes de proteína vegetais são utilizadas na alimentação, para substituir toda ou uma parte da farinha de peixe (Forster & Ogata, 1998; Cao et al., 2012), principalmente o milho e seus derivados (Wu, 2013). Juntamente com a metionina, a lisina atua como precursor na síntese de carnitina, molécula envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para a mitocôndria, local onde é realizada a β -oxidação (Walton et al., 1984). A carnitina estimula a β -oxidação, ou seja, estimula o catabolismo dos lipídeos para obtenção de

energia (Ozório et al., 2001). Além disso, hidroxilisina e hidroxiprolina, produtos da hidroxilação de lisina e prolina, respectivamente, são os principais constituintes do colágeno (Sandell & Daniel, 1988), proteína fibrosa encontrada nos tecidos conectivos, cartilagens e matriz orgânica dos ossos dos animais (Nelson & Cox, 2011).

A exigência de lisina pode ser utilizada para estimar as exigências de outros aminoácidos com base no conceito de “proteína ideal” (Mitchell, 1964), uma vez que a lisina é um aminoácido estritamente essencial e sua análise é relativamente simples, quando comparada a outros aminoácidos como, por exemplo, os aminoácidos sulfurados e o triptofano, além do fato que ela é utilizada metabolicamente quase que exclusivamente para a síntese proteica (Emmert & Baker, 1997). O conceito da proteína ideal tem sido aplicado para elaborar dietas para peixes (Wilson, 2003; Peres & Oliva-Teles, 2008). Mesmo que tal abordagem permita uma estimativa inicial das exigências de cada aminoácido para uma determinada espécie, ela não fornece informações precisas sobre as exigências reais, uma vez que ignora as exigências de manutenção e é dependente da determinação da exigência de apenas um aminoácido (Wilson, 2002).

Em peixes, grande parte da energia dietética é proveniente do catabolismo de aminoácidos (Cowey & Walton, 1989; Kaushik & Seiliez, 2010). O catabolismo da lisina ocorre no fígado dos animais por meio de duas vias: a via da sacaropina e a via do ácido pipecólico. A via sacaropina ocorre na mitocôndria e é a principal responsável pelo catabolismo de lisina em animais (Benevenga & Blemings, 2007). Nesta via, a lisina é transaminada e seu grupo α -amino é transferido para o α -cetoglutarato, resultando na formação de sacaropina. A sacaropina é clivada gerando semialdeído α -aminoadipato, que é convertido posteriormente em acetil-CoA. A via do ácido pipecólico ocorre nos peroxissomos e seu passo inicial é a remoção do grupo α -amino por desaminação oxidativa, o cetoácido formado é reduzido a ácido pipecólico, que posteriormente é convertido no semialdeído α -aminoadipato (Figura 4) (Wu, 2013). A lisina, assim como a leucina, é um aminoácido exclusivamente cetogênico, ou seja, seu esqueleto de carbono não é capaz de produzir glicose, mas pode produzir corpos cetônicos, porque geram intermediários como acetoacetil-CoA ou acetil-CoA (Nelson & Cox, 2011).

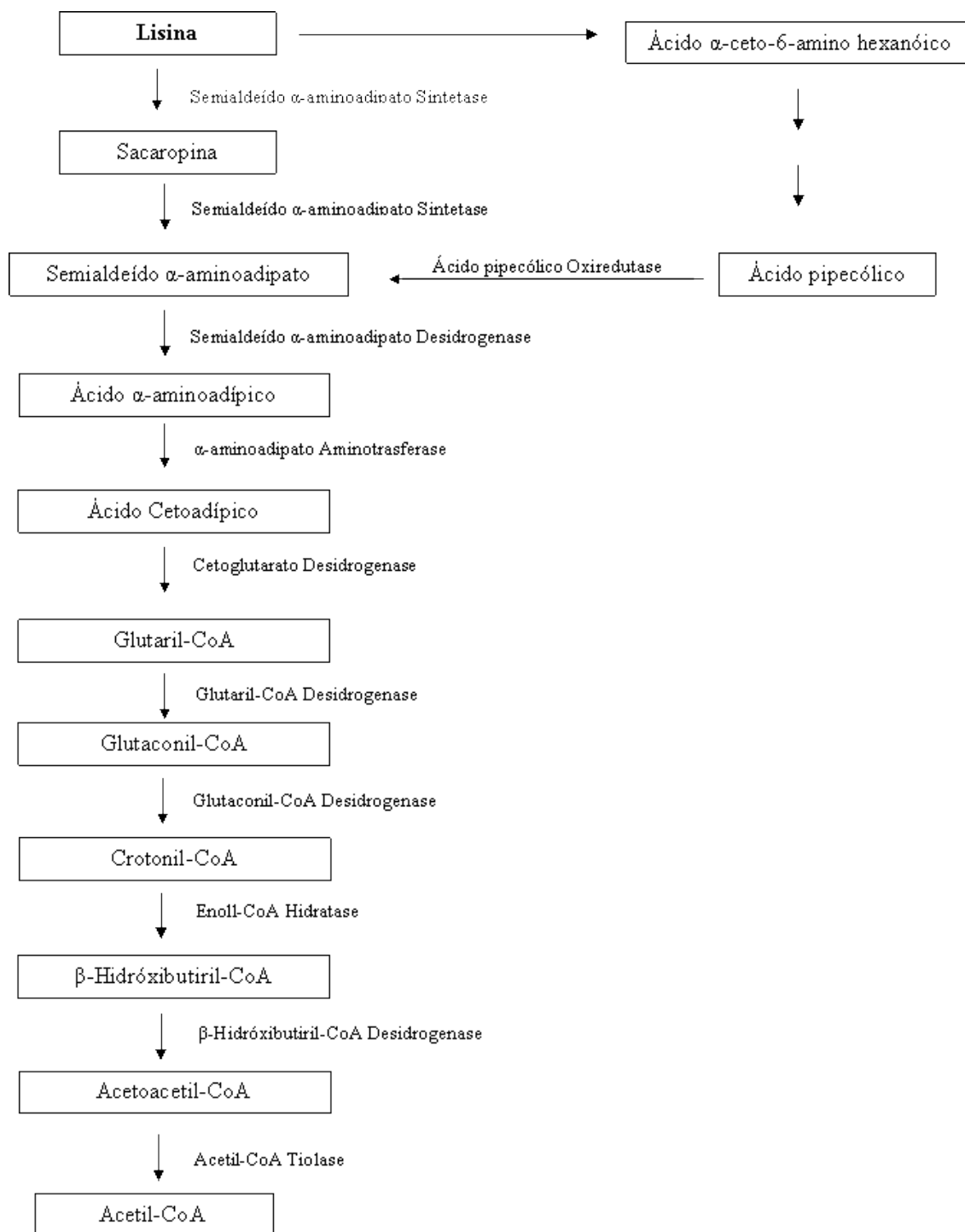


Figura 4 - Catabolismo da lisina por meio da via da sacaropina e da via do ácido piperólico. Adaptada de Wu (2013).

Em geral, quando um aminoácido é limitante ou deficiente na dieta, ele será preferencialmente utilizado para a síntese proteica, porém, quando o aminoácido é fornecido em excesso, mais deste aminoácido será oxidado a dióxido de carbono, uma vez que ele não é mais um fator limitante para a síntese proteica (Wilson, 2002). A utilização de dietas desbalanceadas em um ou mais aminoácidos limita a deposição

proteica, bem como a retenção dos demais aminoácidos, assim, a utilização da lisina é diretamente influenciada pela sua concentração na dieta (Encarnação et al., 2006).

Desequilíbrio entre os aminoácidos da dieta pode resultar em baixa eficiência de utilização da proteína dietética e, conseqüentemente, reduzir o crescimento dos animais (Berge et al., 2002), uma vez que pode ocorrer interação entre os aminoácidos consumidos. Lisina e arginina interagem entre si, podendo haver competição tanto em nível de absorção quanto em nível metabólico, pois esses aminoácidos são transportados pelo mesmo carreador de aminoácidos básicos (NRC, 2011). A interação entre a lisina e arginina é bem conhecida em alguns animais, como aves e ratos, porém bastante contraditória em peixes (Berge et al., 2002). Enquanto alguns autores observaram que o aumento das concentrações de arginina resulta na redução da absorção de lisina (Berge et al., 1999; Davies et al., 1997), outros não observaram modificação no crescimento ou na utilização dos nutrientes em peixes alimentados com dietas desbalanceadas em arginina e lisina (Robinson et al., 1981; Kim et al., 1992; Griffin et al., 1994).

A suplementação de lisina em dietas para peixes, principalmente as elaboradas com elevadas proporções de fontes proteicas de origem vegetal, resulta em aumento no ganho de peso (Cheng et al., 2003; Hauler et al., 2007; Lin et al., 2012), melhoria na conversão alimentar (Cheng et al., 2003; Zhou et al., 2007; Khan & Abidi, 2011), aumento na retenção proteica (Wang et al., 2005; Abboudi et al., 2006; Lin et al., 2012) e redução no conteúdo de gordura corporal (Mai et al., 2006b; Zhang et al., 2008; Carter & Hauler, 2011). Além disso, a suplementação de lisina melhora a resposta imune e o desenvolvimento do trato digestório dos peixes (Zhou, 2005).

A exigência dietética de lisina varia de 12 a 28 g kg⁻¹ (NRC, 2011), sendo influenciada principalmente pelo hábito alimentar do peixe. Alguns autores recomendam que as exigências dietéticas de aminoácidos sejam descritas como porcentagem de proteína dietética (Santiago & Lovell, 1988), considerando a elevada variação do conteúdo proteico em dietas para peixes. Nessa relação, a exigência de lisina correspondendo em média a 5,0% da proteína da dieta, independentemente do hábito alimentar do peixe (NRC, 2011). Em juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), a exigência de lisina foi determinada em 20,70 g kg⁻¹ da dieta, valor que corresponde a 5,44% da proteína da dieta (Wang et al., 2005). Para juvenis de garupa (*Epinephelus coioides*), determinada pela análise LRP, a exigência de lisina foi estimada em 28,30 g kg⁻¹ da dieta, correspondente a 5,56% da proteína total (Luo et al., 2006). Em experimento com robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*), também pela

análise LRP e com base no crescimento dos peixes, a exigência de lisina foi estimada em 24,9 g kg⁻¹ da dieta, que corresponde a 5,80% da proteína total (Mai et al., 2006b).

Para juvenis de bijupirá (*Rachycentron canadum*), Zhou et al. (2007) determinaram a exigência de lisina de 23,3 g kg⁻¹ da dieta (5,30% da proteína total). O nível ótimo de lisina para a corvina amarela (*Pseudosciaena crocea* R.) foi estimado em relação ao crescimento, eficiência alimentar e taxa de eficiência proteica em 24,8; 24,5 e 24,3 g kg⁻¹ da dieta, correspondendo a 5,77; 5,70 e 5,65% da proteína total, respectivamente (Zhang et al., 2008). Considerando a eficiência de utilização da proteína e o ganho de peso de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), a exigência em lisina foi determinada em 4,5% da proteína da dieta pelo modelo LRP e 5,1% quando realizada a regressão polinomial, correspondendo a 14,82 g kg⁻¹ e 16,80 g kg⁻¹, respectivamente (Montes-Girao & Fracalossi, 2006). Em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), a exigência em lisina, determinada pelo modelo LRP, foi estimada em 16,4 g kg⁻¹ (5,86% da proteína) para melhor ganho de peso, e em 17,5 g kg⁻¹ (6,26% da proteína da dieta) para melhor conversão alimentar (Abimorad et al., 2010).

Trabalhando com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação, Furuya et al. (2004a) determinaram que 14,2 g kg⁻¹ de lisina na dieta (5,7% da proteína da dieta) proporcionou o menor custo de produção para ganho de peso de juvenis. A exigência dietética de lisina para alevinos de tilápia do Nilo foi estimada em 18,0 g kg⁻¹ (6,1% da proteína) (Bomfim et al., 2010).

Alguns autores encontraram valores mais elevados de exigências de lisina, Zhou et al. (2010) determinaram a exigência de lisina para juvenis de “black sea bream” (*Sparus macrocephalus*) em 33,2 g kg⁻¹ da dieta (8,64% da proteína da dieta), valor determinado segundo análise de regressão polinomial quadrática e com base na taxa de crescimento específica. Com base na mesma variável, porém com base no modelo LRP, Cao et al. (2012) determinaram exigência de lisina para juvenis de catfish amarelo (*Pelteobagrus fulvidraco*) em 33,1 g kg⁻¹ da dieta (8,32% da proteína da dieta). As diferenças nas exigências de lisina se devem às diferenças entre as espécies estudadas de peixe, idade dos animais, origem das fontes proteicas das dietas de teste (Forster & Ogata, 1998), manejo dos peixes e condições experimentais (Forster & Ogata, 1998; Mai et al., 2006b), digestibilidade, perfil de aminoácidos e concentração de energia da dieta teste (De Silva et al., 2000). Além disso, as variações podem também ser atribuídas ao método estatístico utilizado para calcular a exigência (Kim et al., 1992; Mai et al., 2006b; Zhou et al., 2006).

2.5 Metionina

O grupo R da metionina lhe confere característica apolar e hidrofóbica e, juntamente com a cistina, são os únicos aminoácidos que apresentam uma molécula de enxofre em sua estrutura (Nelson & Cox, 2011), como observado na Figura 5. A metionina é, geralmente, o primeiro aminoácido limitante em rações para peixes à base de farelo de soja (NRC, 2011). A metionina foi descoberta acidentalmente por J.H. Mueller em um hidrolisado ácido de caseína, em 1922, enquanto o pesquisador definia fatores de crescimento para um estreptococo hemolítico.

A composição da metionina, como um aminoácido que contém enxofre, foi proposta após o mesmo pesquisador ter desenvolvido um método para obter grandes quantidades de metionina a partir de caseína. Mueller também obteve sucesso em isolar metionina a partir de outras fontes de proteínas, incluindo a albumina do ovo e a lã. A estrutura da metionina foi estabelecida em 1928, por G. Barger e F.P. Coyne (Wu, 2013).

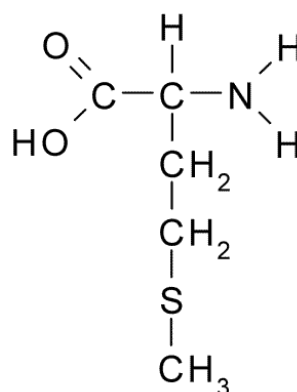


Figura 5 - Estrutura da metionina (Nelson & Cox 2011).

A importância de determinar a exigência dietética dos aminoácidos sulfurados deve-se ao fato de que a maioria dos compostos do corpo animal, que contém enxofre, são derivados de metionina e cistina (Ruchimat et al., 1997). Quando na sua forma ativa, S-adenosil-metionina, a metionina é o principal doador de grupos metil no organismo, sendo o fígado o principal local de síntese e degradação da S-adenosil-metionina (Espe et al., 2008). A metionina recebe a adenosina de uma molécula de ATP, reação catabolizada pela enzima metionina adenosina transferase, é transformada em S-adenosil-metionina e nessa forma pode doar seu grupo metil (Mato et al., 1997;

Espe et al., 2008). Assim, a metionina é fundamental para inúmeras reações do metabolismo, como a síntese de fosfolípido, síntese de DNA e RNA, síntese de creatina, além de interagir com outros nutrientes essenciais como a cistina, colina, vitamina B12 e ácido fólico (Saunderson & Mackinlay, 1990). A deficiência de metionina em dietas artificiais resulta em redução do crescimento e da eficiência alimentar, além de poder causar catarata em alguns salmonídeos (Walton et al., 1982; Rumsey et al., 1983; Cowey et al., 1992). Por outro lado, o excesso de metionina na dieta pode ser tóxico para algumas espécies e, conseqüentemente, resultar na redução do crescimento e piora na conversão alimentar (Choo et al., 1991).

A metionina é encontrada em baixas concentrações em ingredientes proteicos de origem vegetais, como farelo de soja e farelo de amendoim (Mai et al., 2006a), assim, principalmente quando as fontes proteicas de origem animal são substituídas por vegetal, é importante a suplementação de metionina (Nwana et al., 2012). Essa suplementação resulta em maior retenção do nitrogênio, pelo aumento da síntese proteica e, conseqüentemente, maior crescimento. Metionina é, geralmente, suplementada como aminoácido cristalino, na forma de DL-metionina (99% de pureza) (Chattopadhyay et al., 2006). Porém, como os D-aminoácidos, normalmente, não são utilizados na síntese proteica, o D-isômero da metionina é convertido no L-isômero antes de ser utilizado (Lewis & Baker, 1995). Fígado, rim, cérebro e coração são tecidos que contêm as enzimas oxidases de D-metionina, que oxidam a D-metionina ao seu α -cetoácido correspondente e, na seqüência, a L-metionina transaminase catalisa a conversão deste α -cetoácido, juntamente com o glutamato, em L-metionina e α -cetogluturato (Figura 6) (Wu, 2013). Dessa forma, esse aminoácido tem seu D-isômero utilizado pelo corpo com eficiência semelhante ao seu L-isômero (NRC, 2011).

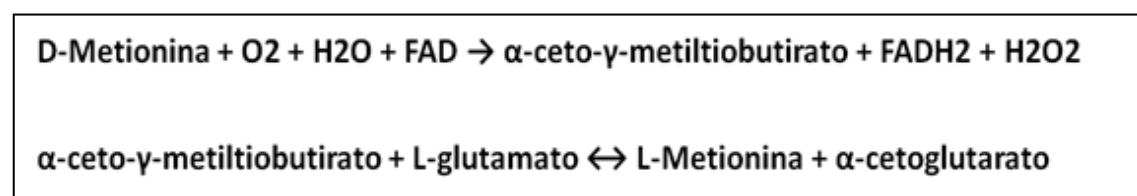


Figura 6 - Conversão de D-metionina a L-metionina em células animais. Adaptada de Wu (2013).

A exigência em metionina varia de acordo com a espécie, idade e estado fisiológico do animal (Ruchimat et al., 1997). Também está diretamente relacionada à

quantidade de cistina na dieta. A cistina é um aminoácido não essencial, pois pode ser sintetizada a partir da metionina (Figura 7). Quando o animal recebe uma dieta contendo metionina e isenta de cistina, parte da metionina ingerida é convertida em cistina e outra parte é utilizada para a síntese proteica. A cistina tem efeito poupador de metionina (Wilson & Halver, 1986) quando incluída na dieta, resultando em menor exigência de metionina pelo animal. Assim, para determinar a exigência em metionina, a cistina deve estar ausente ou em níveis constantes na dieta (Wilson, 2002).

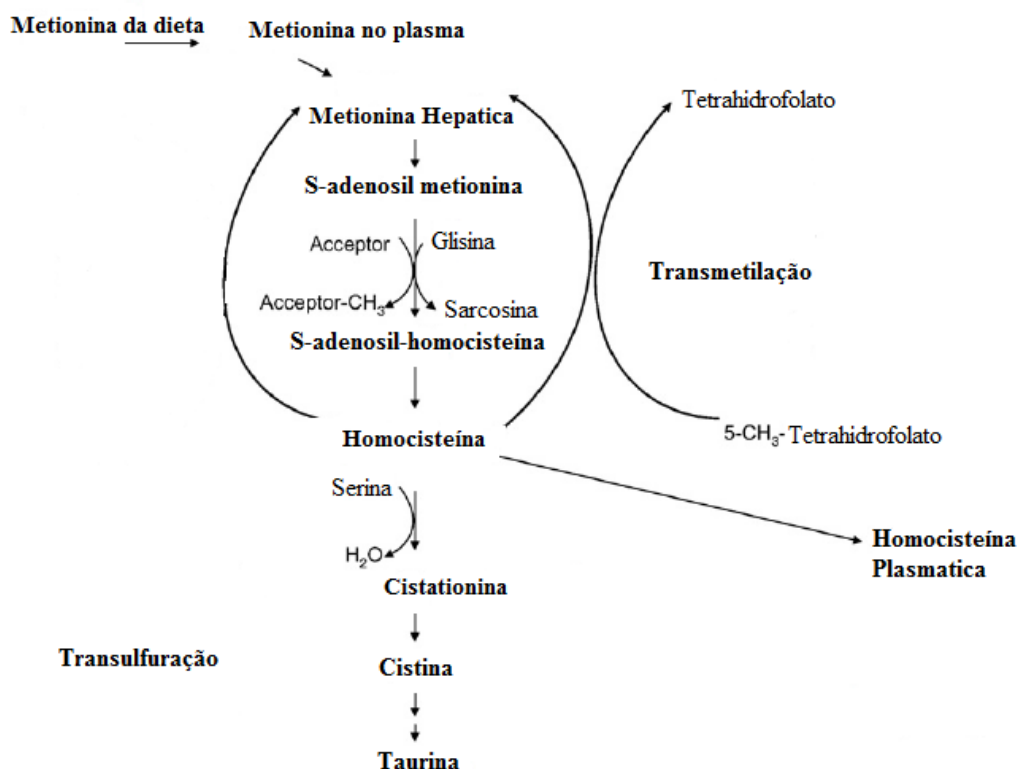


Figura 7 - Metabolismo hepático da metionina. Adaptado de Espe et al. (2008).

A metionina é essencial para o crescimento normal, sendo um aminoácido fundamental para que a síntese de proteínas ocorra normalmente (Ruchimat et al., 1997). Peixes alimentados com dietas deficientes em metionina apresentaram maior teor de aminoácidos livres no plasma sanguíneo, pela redução na síntese proteica (Schwarz et al., 1998). Além de melhorar os parâmetros de desempenho produtivo, a suplementação com metionina também pode reduzir o conteúdo corporal de lipídeos (Nwana et al., 2012). A metionina atua como agente lipotrófico pelo seu papel como doador do grupo metil, estando envolvida na síntese de lecitina, molécula que facilita o transporte de lipídeos pelo corpo (Chattopadhyay et al., 2006). Além disso, a metionina

pode ser utilizada como precursor na síntese de carnitina, molécula diretamente envolvida no catabolismo de ácidos graxos (Walton et al., 1984) e taurina, aminoácido envolvido diretamente na síntese de sais biliares (Espe et al., 2008).

Carpas (*Cyprinus carpio*) alimentadas com dietas, contendo níveis crescentes de metionina, apresentaram redução do teor de gordura corporal e aumento do teor de proteínas, demonstrando que níveis ideais de metionina também implicam em utilização mais eficiente da energia da dieta para deposição de proteína (Nwana et al., 2012).

A exigência dietética de metionina tem sido estimada para várias espécies de peixes, variando de 1,8 a 4,0% da proteína da dieta (Wilson, 2002). Com base na taxa de crescimento e na conversão alimentar, a exigência em metionina para corvina amarela foi determinada em 14,4 g kg⁻¹ (3,34% da proteína da dieta) e 13,9 g kg⁻¹ (3,22% da proteína da dieta), respectivamente, em dietas com 2,9 g kg⁻¹ de cistina (Mai et al., 2006a). Para juvenis de garoupa (*Epinephelus coioides*), a exigência em metionina foi determinada em 13,1 g kg⁻¹ (2,73% da proteína da dieta) com base no maior ganho de peso pela análise LRP e com 2,6 g kg⁻¹ de cistina (Luo et al., 2005). Quando o nível de cistina da dieta foi de 4,2 g kg⁻¹, a exigência em metionina para a carpa comum foi determinada em 8,55 g kg⁻¹ (2,13% da proteína da dieta), considerando a taxa de crescimento e a deposição de proteína pelo método LRP (Schwarz et al., 1998). Já para a carpa indiana (*Cirrhinus mrigala*), alimentada com dietas contendo 8,5 g kg⁻¹ de cistina, a exigência de metionina variou de 16,0 e 16,9 g kg⁻¹ (4,10 e 4,22% da proteína da dieta) (Khan & Abidi, 2013). Para juvenis de bijupirá, Zhou et al. (2006) determinaram a exigência de metionina em 11,9 g kg⁻¹ (2,64% da proteína da dieta), utilizando dietas com 6,7 g kg⁻¹ de cistina. Para alevinos de tilápia do Nilo, a exigência de metionina em dietas com 4,6 g kg⁻¹ de cistina foi estimada em 5,4 g kg⁻¹ (1,93% da proteína da dieta) (Furuya et al., 2004b).

Com base no conceito da proteína ideal e no coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos, a exigência em metionina digestível foi determinada para juvenis de pacu em 3,8 g kg⁻¹ (Abimorad et al., 2010). Para o lambari-do-rabo-amarelo, Abimorad & Castellani (2011) estimaram a exigência de metionina em 2,89%, com base na composição corporal, e em 2,29% com base na composição muscular. As diferenças entre as estimativas de exigência de metionina ocorrem pelas diferenças na composição da dieta basal, espécie, tamanho e idade do peixe, as diferenças genéticas e ao manejo alimentar utilizado durante os experimentos (Mai et al., 2006a).

2.6 Crescimento muscular em peixes

O músculo estriado esquelético forma o maior tecido constituinte do corpo dos vertebrados. As células musculares estriadas, denominadas de fibras musculares, são alongadas, estreitas e multinucleadas, com os núcleos localizados logo abaixo da membrana plasmática. O citoplasma das fibras, denominado de sarcoplasma, é constituído principalmente por miofibrilas que se estendem por todo o comprimento da fibra. Cortes longitudinais das fibras musculares estriadas permitem a observação das estriações transversais, resultado da organização das proteínas contráteis (Actina e Miosina) em unidades denominadas de sarcômeros (Dal Pai-Silva & Carvalho, 2007).

A musculatura estriada esquelética, na maioria das espécies de peixes, está organizada em unidades morfofuncionais denominadas miômeros. Os miômeros são separados por bainhas de tecido conjuntivo, os miosseptos, e se repetem ao longo do corpo do animal (Alexander, 1969) (Figura 8). Os miosseptos são responsáveis pelos movimentos de ondulação e propulsão do corpo dos peixes, transmitindo através dos tendões para o esqueleto axial e a nadadeira caudal a força de contração das fibras musculares (Sänger & Stoiber, 2001).

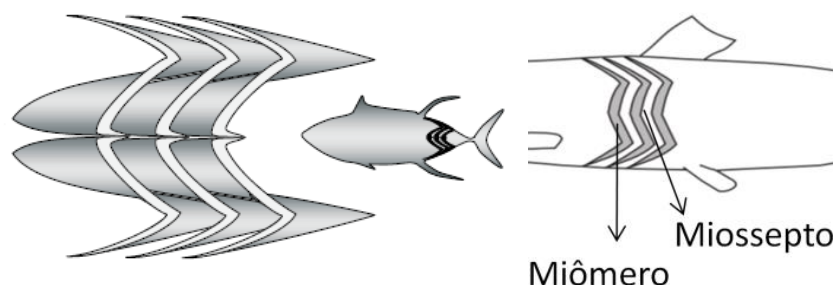


Figura 8 - Organização anatômica da musculatura estriada esquelética em miômeros e miosseptos. Adaptado de Katz (2002) e Altringhan & Ellerby (1999).

O tecido muscular esquelético apresenta três tipos básicos de fibras musculares, as vermelhas, as intermediárias e as brancas (Johnston, 1981), como podem ser observadas na Figura 9. Diferentemente da musculatura dos mamíferos, a musculatura dos peixes apresenta cada tipo de fibra em camadas anatomicamente separadas, sendo que as fibras vermelhas estão localizadas mais superficialmente, as fibras brancas mais profundas e entre ambas estão presentes as fibras intermediárias (Greek-Walker & Pull, 1975).

As fibras brancas podem corresponder a mais de 90% do volume total do tecido muscular (Weatherley & Gill, 1989) e são fibras de contração rápida e metabolismo

glicolítico (Driedzic & Hochachka, 1976), com baixa concentração de mioglobina, mitocôndrias, lipídeos e miofibrilas (Sänger & Stoiber, 2001). Essa musculatura é utilizada para movimentos rápidos, como a captura de alimento e a fuga de predadores (Johnston et al., 1977). As fibras vermelhas, geralmente, correspondem a menos de 10% da musculatura, sendo que nunca excedem 30% (Greek-Walker & Pull, 1975; Sänger & Stoiber, 2001). São fibras de contração lenta e metabolismo oxidativo, que apresentam alta concentração de mioglobina, mitocôndrias, lipídeos e maior suprimento sanguíneo (Bone, 1966; Sänger & Stoiber, 2001), utilizadas principalmente para movimentos lentos e de sustentação (Bone, 1966; Johnston et al., 1977). As fibras intermediárias compreendem em torno de 10% da massa miotomal (Weatherley & Gill, 1989) e apresentam propriedades morfofisiológicas intermediárias entre as fibras brancas e vermelhas, como contração rápida e metabolismo oxidativo/glicolítico (Johnston et al., 1977; Sänger & Stoiber, 2001).

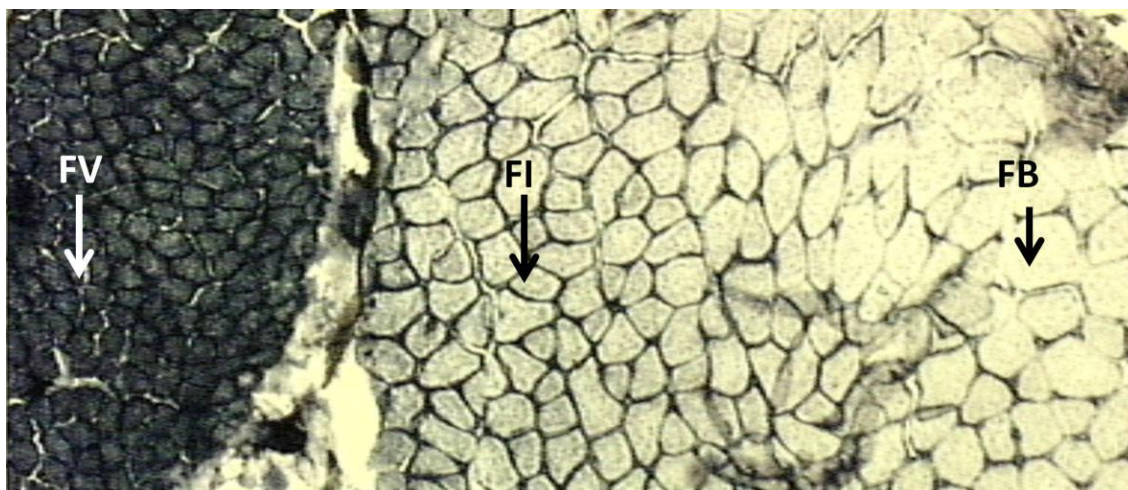


Figura 9 - Fotomicrografia explorando o tecido muscular estriado esquelético de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), evidenciando as fibras vermelhas (FV), intermediárias (FI) e brancas (FB), NADH, 40x (Furuya et al., 2005).

Nos peixes, o crescimento muscular pós-embrionário é dependente da proliferação e diferenciação das células satélites, que ficam localizadas entre a lâmina basal e a membrana plasmática da fibra e são responsáveis pelo crescimento hiperplásico e hipertrófico das fibras musculares (Campion, 1984; Koumans & Akster, 1995). Na hipertrofia, as células satélites fundem-se com as fibras musculares já existentes, aumentando o número de núcleos na célula e possibilitando maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento da área da fibra. Na hiperplasia, ocorre a formação de novos miotubos na superfície das fibras existentes, esses miotubos se diferenciam em

novas fibras musculares (Koumans & Akster, 1995; Johnston, 1999; Rowleron & Veggetti, 2001), conforme Figura 10.

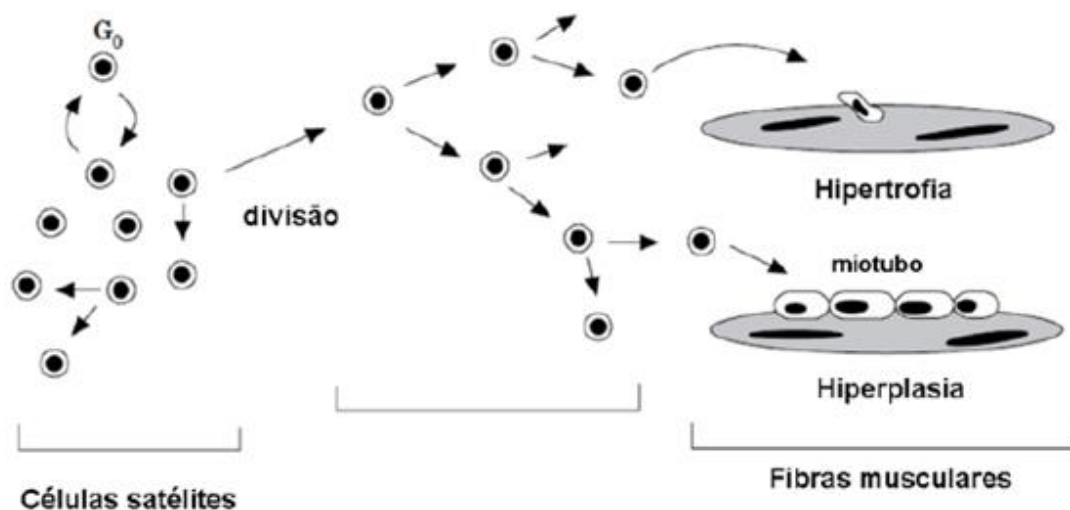


Figura 10 - População de mioblastos indiferenciados (células satélites). Proliferação e diferenciação dos mioblastos. Crescimento muscular por hipertrofia e hiperplasia. Adaptado de Johnston (1999).

A hiperplasia e a hipertrofia em peixes são os processos responsáveis pelo crescimento da musculatura estriada esquelética, porém a contribuição de cada processo é dependente da espécie, da fase de crescimento e do tipo de músculo (Dal Pai et al., 2000; Aguiar et al., 2005). Em espécies de pequeno porte, que atingem alguns centímetros de tamanho, o período de crescimento hiperplásico é mais curto e o crescimento muscular é principalmente por hipertrofia das fibras formadas nas fases iniciais da embriogênese. Nas espécies de maior porte, a formação de novas fibras musculares, hiperplasia, ocorre continuamente durante o período de crescimento (Weatherley et al., 1988; Alami-Durante et al., 1997; Rowleron & Veggetti, 2001).

O conhecimento sobre os mecanismos de crescimento muscular é fundamental para que o potencial genético de crescimento dos animais seja explorado ao máximo. Esse crescimento é influenciado por diversos fatores externos, como a nutrição (Koumans & Akster, 1995). O fornecimento adequado de proteínas e aminoácidos nas dietas possibilita ao animal aumentar sua taxa anabólica e, conseqüentemente, sua massa muscular (Houlihan et al., 1995). Assim, análises morfométricas das fibras musculares podem ajudar a caracterizar o envolvimento dos nutrientes no processo de crescimento muscular (Aguiar et al., 2005); a compreensão de como esses nutrientes modulam o crescimento muscular pode ajudar a determinar suas exigências.

Os efeitos da suplementação proteica e de aminoácidos na hiperplasia e hipertrofia das fibras musculares são contraditórios em peixes. O efeito positivo da suplementação de lisina sobre o aumento da taxa de hiperplasia dos peixes foi observado em larvas de tilápias (Aguilar et al., 2005). Porém, até o momento, não se sabe se os efeitos encontrados para larvas são válidos para juvenis ou adultos.

Juvenis de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis protéicos apresentaram poucas mudanças no tamanho das fibras musculares (Johnston et al., 2003). Por outro lado, a dinâmica de crescimento das fibras musculares de juvenis de truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foi afetada pelo perfil de aminoácidos das dietas (Alami-Durante et al., 2010). Os autores observaram que peixes que receberam dietas contendo baixa relação AAE/AAN (aminoácidos essenciais/não essenciais) apresentaram menos fibras com diâmetro menor que 20 μm , e mais fibras com diâmetros entre 20 e 40 μm , quando comparado com os peixes que receberam dietas com alta relação AAE/AAN, os autores não encontram diferenças no número de fibras musculares com diâmetro entre 40 e 80 μm ou maiores que 120 μm .

As mudanças relacionadas ao diâmetro das fibras musculares estão relacionadas a alterações no processo de crescimento muscular, resultado em maior crescimento por hiperplasia ou por hipertrofia. Ainda que não esteja diretamente relacionado com o ganho de peso do animal (Alami-Durante et al., 2010), possibilita maior entendimento sobre o crescimento muscular dos peixes, constituindo-se em ferramenta complementar em estudos de nutrição.

2.7 Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST)

A mensuração da atividade de enzimas específicas é muito utilizada para avaliar como o metabolismo animal reage a diferentes condições, sendo possível verificar situações metabólicas indesejáveis, como a utilização de proteína para obtenção de energia. A transaminação é o primeiro passo no processo de desaminação proteica, onde ocorre a transferência da amônia do grupo α -amino para um α -cetoácido.

As células possuem diferentes enzimas transaminases, ou aminotransferases, específicas para transferir o grupo α -amino do aminoácido para o α -cetoglutarato, cada enzima é específica para um determinado aminoácido e recebe seu nome em função deste aminoácido (Nelson & Cox, 2011). Segundo Cowey & Walton (1989), a alanina

aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST) são as transaminases mais importantes envolvidas neste processo.

Os grupos α -amino, que foram retirados dos aminoácidos utilizados como fonte de energia no músculo e em outros tecidos, têm que ser transportados até o fígado, local de formação da amônia (NH_3), molécula utilizada para a excreção do nitrogênio (N) em peixes. A alanina é um dos aminoácidos responsáveis por transportar o N, de forma não tóxica, para o fígado. Os grupos α -amino são coletados na forma de glutamato, no processo de transaminação; o glutamato pode ser convertido em glutamina ou pode transferir seu grupo α -amino para o piruvato. Essa transferência dá origem à alanina, que por sua vez passa para a corrente sanguínea e chega até o fígado, onde tem seu grupo α -amino transferido, pela ação da ALT, para o α -cetogluturato, formando piruvato e glutamato. O glutamato gerado no processo pode entrar na mitocôndria, para ser oxidado, ou pode ser transaminado junto com o oxaloacetato, para formar aspartato, outro doador de N (Nelson & Cox, 2011). As figuras 11 e 12 descrevem as reações de transaminação catalisadas pela ALT e AST.

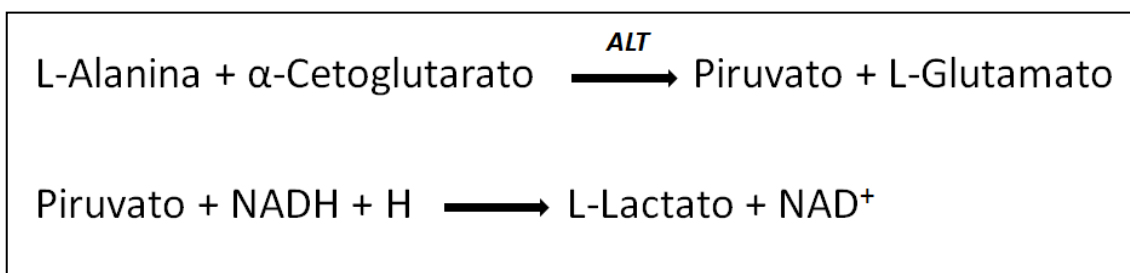


Figura 11 - Alanina aminotransferase (ALT) e sua ação na transferência do grupamento α -amino da alanina para o α -cetogluturato, levando à formação de piruvato e glutamato. O piruvato reage com o NADH, reduzindo-se a lactato e o NADH oxida-se a NAD^+ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT.

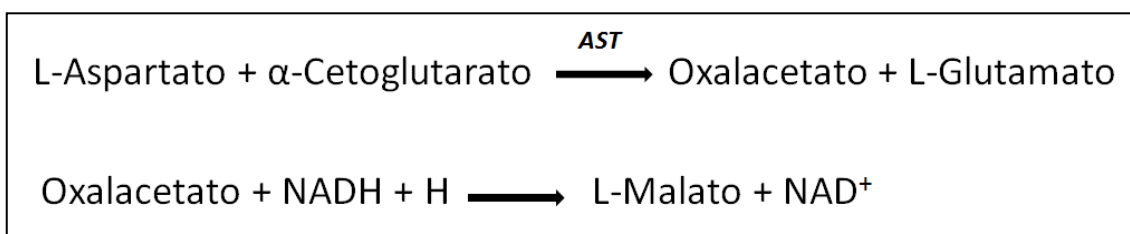


Figura 12 - Aspartato aminotransferase (AST) e sua ação na transferência do grupo α -amino do aspartato para o α -Cetogluturato, levando à formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato reage com o NADH, reduzindo-se a malato e o NADH oxida-se a NAD^+ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da AST.

A avaliação da atividade das enzimas ALT e AST é importante em estudos com aminoácidos, uma vez que são enzimas centrais no metabolismo dos aminoácidos e indicadoras da utilização metabólica das proteínas. Diversos autores quantificaram a atividade enzimática de ALT e AST para estudar o metabolismo proteico e o efeito poupador de proteína e concordaram que a atividade dessas transaminases é um indicador confiável (Enes et al., 2006; Kumar et al., 2009; Kumar et al., 2010). Aumentos das atividades de ALT e AST foram observados no fígado e músculo de tilápias do Nilo, assim como aumento da ALT sanguínea, quando o nível de proteína digestível da dieta passou de 25% para 45%, o que pode ser reflexo da maior utilização de aminoácidos para suprir demandas energéticas (Abdel-Tawwab et al., 2010). Alta relação proteína/carboidratos na alimentação de dourada (*Sparus aurata*) também resultou em aumento da atividade das ALT e AST no fígado (Metón et al., 1999), respostas similares foram observadas em truta-arco-íris para ALT (Sánchez-Muros et al., 1998) e em jundiá para AST e ALT (Melo et al., 2006). Alevinos de pargo negro (*Acanthopagrus schlegelii*), alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina e arginina apresentaram menor atividade de ALT plasmática quando receberam a dieta controle, a qual continha os níveis de exigência ótima, previamente determinados para ambos os aminoácidos (Zhou et al., 2011), os autores relacionaram este resultado a uma reduzida eficiência de retenção proteica nos peixes alimentados com dietas contendo níveis deficientes ou desequilibrados de aminoácidos. Assim, a determinação da atividade das enzimas AST e ALT é uma importante ferramenta complementar em estudos envolvendo proteína e aminoácidos em peixes.

A atividade destas enzimas no sangue também é importante para o diagnóstico de doenças e o acompanhamento do estado fisiológico dos peixes expostos a substâncias tóxicas (Adhikari et al., 2004). Níveis elevados de ALT e AST no sangue são vistos em casos de morte celular resultante de toxicidade (Adeyemi et al., 2009). Alterações na permeabilidade dos hepatócitos são detectadas por meio da avaliação da atividade das enzimas ALT e AST, sendo que em danos hepatocelulares leves a ALT aparece mais elevada no sangue, já em lesões graves ocorre também aumento da AST. Isso ocorre pela localização dessas enzimas no hepatócito, a ALT é encontrada principalmente no citoplasma, enquanto que 80% da AST estão presentes na mitocôndria destas células (Motta, 2000; Toledo et al., 2013). A atividade de AST e ALT aumentou no sangue de pargo negro alimentado com dietas contendo 20% de inclusão de alga vermelha (*Gracilaria lemaneiformis*), indicando que essa concentração de alga pode causar danos

hepatocelular (Xuan et al., 2013). Níveis elevados de farinha de colza em dietas para carpa capim também levaram a elevações na atividade de AST e ALT sanguíneas, sugerindo que esse ingrediente pode levar a danos no fígado dos peixes (Tan et al., 2013).

REFERÊNCIAS

- Abboudi T, Mambrini M, Ooghe W, Larondelle Y, Rollin X (2006) Protein and lysine requirements for maintenance and for tissue accretion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Aquaculture*, **261**, 369-383.
- Abdel-Tawwab M, Ahmad MH, Khattab YA, Shalaby AM (2010) Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, **298**, 267-274.
- Abimorad E, Favero G, Squassoni G, Carneiro D (2010) Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, **16**, 370-377.
- Abimorad EG, Castellani D (2011) Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. *Boletim do Instituto de Pesca*, **37**, 31-38.
- Adeyemi O, Oginni O, Osubor C, Adeyemi O, Oloyede O, Oladiji A, Adebayo E (2009) Effect of water contaminated with phthalate, benzene and cyclohexane on *Clarias gariepinus* cellular system. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 1941-1944.
- Adhikari S, Sarkar B, Chatterjee A, Mahapatra C, Ayyappan S (2004) Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **58**, 220-226.
- Aguiar D, Barros M, Padovani C, Pezzato L, Pai-Silva D (2005) Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*, **67**, 1287-1298.
- Alam M, Teshima S, Ishikawa M, Koshio S, Yaniharto D (2001) Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine. *Aquaculture Nutrition*, **7**, 201-210.
- Alami-Durante H, Wrutniak-Cabello C, Kaushik S, Médale F (2010) Skeletal muscle cellularity and expression of myogenic regulatory factors and myosin heavy chains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of changes in dietary plant protein sources and amino acid profiles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **156**, 561-568.
- Alami-Durante H, Fauconneau B, Rouel M, Escaffre A, Bergot P (1997) Growth and multiplication of white skeletal muscle fibres in carp larvae in relation to somatic growth rate. *Journal of Fish Biology*, **50**, 1285-1302.
- Alexander R (1969) The orientation of muscle in the myomers of fishes. *Journal of the Marine Biological Association*, **49**, 263-290.

- Altringham JD, Ellerby DJ (1999) Fish swimming: patterns in muscle function. *The Journal of Experimental Biology*, **202**, 3397-3403.
- Andrian IdF, Silva HBR, Peretti D (2001) Dieta de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758)(Characiformes, Characidae), da área de influência do reservatório de Corumbá, Estado de Goiás, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, **23**, 435-440.
- Baldisserotto B (2013) *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*, UFSM Rio Grande do Sul.
- Benevenga NJ, Blemings KP (2007) Unique aspects of lysine nutrition and metabolism. *The Journal of Nutrition*, **137**, 1610S-1615S.
- Bennemann ST, Gealh AM, Orsi ML, Souza Ld (2005) Ocorrência e ecologia trófica de quatro espécies de *Astyanax* (Characidae) em diferentes rios da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, **95**, 247-254.
- Berge G, Sveier H, Lied E (2002) Effects of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) imbalanced levels of lysine and arginine. *Aquaculture Nutrition*, **8**, 239-248.
- Berge GE, Bakke-McKellep AM, Lied E (1999) In vitro uptake and interaction between arginine and lysine in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, **179**, 181-193.
- Bicudo AJdA, Cyrino JEP (2009) Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society*, **40**, 818-823.
- Bomfim MAD, Lanna EAT, Donzele J, Quadros M, Ribeiro FB, SOUZA E (2010) Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **39**, 1-8.
- Bone Q (1966) On the function of the two types of myotomal muscle fibre in elasmobranch fish. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **46**, 1-349.
- Campelo DAV, Oliveira KRB, Batiston WP, Zuanon JAS, Furuya WM, Matsushita M, Salaro AL (2014) Conjugated linoleic acid in diets for lambari (*Astyanax altiparanae*)(Garutti & Britski, 2000). *Aquaculture Nutrition*.
- Campion DR (1984) The muscle satellite cells. *International Review of Cytology*, **87**, 225-251.
- Cao J, Chen Y, Zhu X, Huang Y, Zhao H, Li G, Lan H, Chen B, Pan Q (2012) A study on dietary L-lysine requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquaculture Nutrition*, **18**, 35-45.
- Carter CG, Hauler RC (2011) Effect of high digestible protein to digestible energy ratio on lysine utilisation by Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture*, **311**, 209-214.
- Chattopadhyay K, Mondal M, Roy B (2006) Comparative efficacy of DL-methionine and herbal methionine on performance of broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*, **5**, 1034-1039.
- Cheng ZJ, Hardy RW, Usry JL (2003) Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture*, **215**, 255-265.
- Cho C, Hynes J, Wood K, Yoshida H (1994) Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture*, **124**, 293-305.
- Choo P, Smith TK, Cho CY, Ferguson HW (1991) Dietary Excesses of Leucine Influence Growth and Body Composition of Rainbow Trout. *Journal of Nutrition*, **121**, 1932-1939.

- Colt J, Montgomery JM (1991) Aquaculture production systems. *Journal of Animal Science*, **69**, 4183-4192.
- Cotan JLV, Lanna EAT, Bomfim M, Donzele J, Ribeiro FB, Serafini MA (2006) Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **35**, 634-640.
- Cowey CB, Cho CY, Sivak JG, Weerheim JA, Stuart DD (1992) Methionine intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), relationship to cataract formation and the metabolism of methionine. *The Journal of Nutrition*, **122**, 1154-1163.
- Cowey CB, Walton MJ (1989) Intermediary catabolism. In: *Fish Nutrition* (ed by Halver JE). Academic Press, San Diego, CA, pp. 259-329.
- Dal Pai-Silva MDP, Carvalho RF (2007) Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento eo crescimento muscular. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **36**, 21-31.
- Dal Pai V, Pai-Silva D, Carvalho E, Fujihara C, Gregório E, Curi P (2000) Morphological, histochemical and morphometric study of the myotomal muscle tissue of the pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, **29**, 283-289.
- Davies S, Morris P, Baker R (1997) Partial substitution of fish meal and full-fat soya bean meal with wheat gluten and influence of lysine supplementation in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, **28**, 317-328.
- De Silva SS, Gunasekera RM, Gooley G (2000) Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) and the Australian shortfin eel *Anguilla australis* Richardson. *Aquaculture Research*, **31**, 195-205.
- Driedzic WR, Hochachka PW (1976) Control of energy metabolism in fish white muscle. *American Journal of Physiology*, **230**, 579-582.
- Emmert JL, Baker DH (1997) Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. *The Journal of Applied Poultry Research*, **6**, 462-470.
- Encarnação P, de Lange C, Bureau DP (2006) Diet energy source affects lysine utilization for protein deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **261**, 1371-1381.
- Enes P, Panserat S, Kaushik S, Oliva-Teles A (2006) Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **143**, 89-96.
- Espe M, Hevrøy EM, Liaset B, Lemme A, El-Mowafi A (2008) Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, **274**, 132-141.
- Fauconneau B (1985) Protein synthesis and protein deposition in fish. In: *Nutrition and feeding in fish* (ed by COWEY CB, MACKIE, A.M., BELL, J.G.), London: Academic Press, pp. 17-45.
- Ferreira PdMF, Nascimento LdS, Dias DC, Moreira DMdV, Salaro AL, Freitas Dd, Bontempo M, Carneiro APS, Zuanon JAS (2014) Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **45**, 28-34.
- Forster I, Ogata HY (1998) Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, **161**, 131-142.

- Furuya WM, Botaro D, Macedo Rd, Santos Vd, Silva LCR, Silva TdC, Furuya VRB, Sales PJP (2005) Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **34**, 1433-1441.
- Furuya WM, Botaro D, Neves PR, Silva LCR, Hayashi C (2004a) Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. *Ciência Rural*, **34**, 1933-1937.
- Furuya WM, Botaro D, Santos V, Silva L, Silva T, Furuya V, Sakaguti E (2006) Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **35**, 937-942.
- Furuya WM, Pezzato LE, Barros MM, Boscolo WR, Cyrino JEP, Furuya VRB (2010) *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*, GFM, Toledo, Brazil.
- Furuya WM, Silva LCR, Neves PR, Botaro D, Hayashi C, Sakaguti ES, Furuya VRB (2004b) Exigência de metionina+ cistina para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, **34**, 1933-1937.
- Garutti V (2003) *Piscicultura ecológica*, Editora UNESP, São Paulo.
- Garutti V, Britski H (2000) Descrição de uma espécie nova de Astyanax (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia*, **13**, 65-88.
- Gonçalves LU, Parisi G, Bonelli A, Sussel FR, Viegas EMM (2014) The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*)(Garutti & Britski, 2000) broodstock. *Aquaculture Research*, **45**, 195-203.
- Greek-Walker M, Pull G (1975) A survey of red and white muscle in marine fish. *Journal of Fish Biology*, **7**, 295-300.
- Griffin ME, Wilson KA, Brown PB (1994) Dietary arginine requirement of juvenile hybrid striped bass. *The Journal of nutrition*, **124**, 888-893.
- Grosell M, Farrell AP, Brauner CJ (2011) *Fish Physiology: The Multifunctional Gut of Fish*, Academic Press.
- Guillaume J, Kaushik S, Bergot P, Métailler R (2001) *Nutrition and feeding of fish and crustaceans*, Springer, Cornwall: Praxis Publishing Ltd.
- Hauler RC, Carter CG, Edwards SJ (2007) Feeding regime does not influence lysine utilisation by Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture*, **273**, 545-555.
- Hayashi C, Meurer F, Boscolo WR, Lacerda C, Kavata L (2004) Frequência de arraçoamento para alevinos de lambari do rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **33**, 21-26.
- Helland SJ, Grisdale-Helland B (2006) Replacement of fish meal with wheat gluten in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effect on whole-body amino acid concentrations. *Aquaculture*, **261**, 1363-1370.
- Hepher B (1988) *Nutrition of pond fishes*, Cambridge University Press.
- Houlihan D, Pedersen B, Steffensen J, Brechin J (1995) Protein synthesis, growth and energetics in larval herring (*Clupea harengus*) at different feeding regimes. *Fish Physiology and Biochemistry*, **14**, 195-208.
- Johnston I, Davison W, Goldspink G (1977) Energy metabolism of carp swimming muscles. *Journal of Comparative Physiology*, **114**, 203-216.
- Johnston IA (1981) Quantitative analysis of muscle breakdown during starvation in the marine flatfish *Pleuronectes platessa*. *Cell and Tissue Research*, **214**, 369-386.
- Johnston IA (1999) Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. *Aquaculture*, **177**, 99-115.

- Johnston IA, Manthri S, Alderson R, Smart A, Campbell P, Nickell D, Robertson B, Paxton CG, Burt ML (2003) Freshwater environment affects growth rate and muscle fibre recruitment in seawater stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Experimental Biology*, **206**, 1337-1351.
- Jones S (2012) Computational and structural characterization of protein associations. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **747**, 42–54.
- Jungas RL, Halperin ML, Brosnan JT (1992) Quantitative analysis of amino acid oxidation and related gluconeogenesis in humans. *Physiological Reviews*, **72**, 419-448.
- Katz SL (2002) Design of heterothermic muscle in fish. *Journal of Experimental Biology*, **205**, 2251-2266.
- Kaushik SJ, Seiliez I (2010) Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, **41**, 322-332.
- Khan M, Abidi S (2011) Effect of dietary L-lysine levels on growth, feed conversion, lysine retention efficiency and haematological indices of *Heteropneustes fossilis* (Bloch) fry. *Aquaculture Nutrition*, **17**, 657-667.
- Khan MA, Abidi SF (2013) Dietary methionine requirement of Indian major carp fry, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) based on growth, feed conversion and nitrogen retention efficiency. *Aquaculture Research*, **44**, 268-281.
- Kim J-D, Lall SP (2000) Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, **187**, 367-373.
- Kim K-I, Kayes TB, Amundson CH (1992) Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **106**, 333-344.
- Koumans J, Akster H (1995) Myogenic cells in development and growth of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **110**, 3-20.
- Kubitza F (2007) O mar está pra peixe pra peixe cultivado. In: *Panorama da Aquicultura*, Brazil, pp. 14-23.
- Kumar S, Sahu N, Pal A, Sagar V, Sinha AK, Baruah K (2009) Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous α -amylase in the diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, **35**, 301-315.
- Kumar V, Sahu N, Pal A, Kumar S, Sinha AK, Ranjan J, Baruah K (2010) Modulation of key enzymes of glycolysis, gluconeogenesis, amino acid catabolism, and TCA cycle of the tropical freshwater fish *Labeo rohita* fed gelatinized and non-gelatinized starch diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, **36**, 491-499.
- Lewis A, Baker D (1995) Bioavailability of D-amino acids and DL-hydroxymethionine. In: *Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals, and vitamins*. (ed. by Ammerman C, Baker D, Lewis A), San Diego - USA, pp. 67-81.
- Li P, Mai K, Trushenski J, Wu G (2009) New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino acids*, **37**, 43-53.
- Lin Y, Gong Y, Yuan Y, Gong S, Yu D, Li Q, Luo Z (2012) Dietary L-lysine requirement of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture Research*, 1–11.
- Lovell R (1998) *Nutrition and Feeding of Fish*, Massachusetts: Kluwer Academic Publishers.
- Luo Z, Liu Y-j, Mai K-s, Tian L-x, Yang H-j, Tan X-y, Liu D-h (2005) Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. *Aquaculture*, **249**, 409-418.

- Luo Z, Liu YJ, Mai KS, Tian LX, Tan XY, Yang HJ, Liang GY, Liu DH (2006) Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, **12**, 165-172.
- Mai K, Wan J, Ai Q, Xu W, Liufu Z, Zhang L, Zhang C, Li H (2006a) Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture*, **253**, 564-572.
- Mai K, Zhang L, Ai Q, Duan Q, Zhang C, Li H, Wan J, Liufu Z (2006b) Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture*, **258**, 535-542.
- Martino RC, Cyrino JEP, Portz L, Trugo LC (2002) Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. *Aquaculture*, **209**, 233-246.
- Mato J, Alvarez L, Ortiz P, Pajares MA (1997) S-adenosylmethionine synthesis: Molecular mechanisms and clinical implications. *Pharmacology & Therapeutics*, **73**, 265-280.
- Melo JFB, Lundstedt LM, Metón I, Baanante IV, Moraes G (2006) Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **145**, 181-187.
- Metón I, Mediavilla D, Caseras A, Cantó E, Fernández F, Baanante I (1999) Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis–gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *British Journal of Nutrition*, **82**, 223-232.
- Montes-Girao PJ, Fracalossi DM (2006) Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundiá, *Rhamdia quelen*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **37**, 388-396.
- Motta VT (2000) Bioquímica clínica: princípios e interpretações. *Porto Alegre: Editora Médica Missau*, **1**, 388.
- MPA (2013) Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. (ed Aquicultura MdPe), Brasília, Brazil.
- Nelson DL, Cox MM (2011) *Lehninger - princípios de bioquímica*, Artmed, Porto Alegre, Brazil.
- Newsholme P, Abdulkader F, Rebelato E, Romanatto T, Pinheiro C, Vitzel KF, Silva EP, Bazotte RB, Procopio J, Curi R (2010) Amino acids and diabetes: implications for endocrine, metabolic and immune function. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, **16**, 315-339.
- NRC (2011) National Research Council - Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Nwana L, Lemme A, Metwally A, Schwarz F (2012) Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to supplemental DL-methionine and different feeding strategies. *Aquaculture*, **356**, 365-370.
- Ozório R, Van Eekeren T, Huisman E, Verreth J (2001) Effects of dietary carnitine and protein energy: nonprotein energy ratios on growth, ammonia excretion and respiratory quotient in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) juveniles. *Aquaculture Research*, **32**, 406-414.
- Peres H, Oliva-Teles A (2008) Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, **275**, 283-290.
- Pezzato LE, Barros MM, Fracalossi DM, Cyrino JEP (2004) Nutrição de peixes. In: *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva* (ed by Cyrino JEP, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N), São Paulo: TecArt

- Porto-Foresti F, Castilho-Almeida RB, Senhorini JA, Foresti F (2010) Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (ed. by Baldisserotto B, Gomes LC). edioraufsm, Santa Maria, RS, BRASIL, pp. 101-115.
- Portz L, Furuya W (2012) Energia, proteína e aminoácidos. In: *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, pp. 65-77.
- Robinson EH, Wilson RP, Poe WE (1981) Arginine requirement and apparent absence of a lysine-arginine antagonist in fingerling channel catfish. *The Journal of Nutrition*, **111**, 46-52.
- Rotta MA (2003) *Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura*, Embrapa Pantanal, Corumbá: Série Documentos.
- Rowlerson A, Veggetti A (2001) 5. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. *Fish Physiology*, **18**, 103-140.
- Ruchimat T, Masumoto T, Hosokawa H, Shimeno S (1997) Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, **150**, 113-122.
- Rumsey GL, Page JW, Scott ML (1983) Methionine and cystine requirements of rainbow trout. *The Progressive Fish-Culturist*, **45**, 139-143.
- Sánchez-Muros MaJ, García-Rejón L, García-Salguero L, de laHiguera M, Lupiáñez JA (1998) Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. Adaptive response to starvation and a high-protein, carbohydrate-free diet on glutamate dehydrogenase and alanine aminotransferase kinetics. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **30**, 55-63.
- Sandell LJ, Daniel JC (1988) Effects of ascorbic acid on collagen mRNA levels in short term chondrocyte cultures. *Connective Tissue Research*, **17**, 11-22.
- Sänger A, Stoiber W (2001) 7. Muscle fiber diversity and plasticity. *Fish Physiology*, **18**, 187-250.
- Santiago CB, Lovell RT (1988) Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *The Journal of Nutrition*, **118**, 1540-1546.
- Saunderson CL, Mackinlay J (1990) Changes in body-weight, composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. *British Journal of Nutrition*, **63**, 339-349.
- Schwarz FJ, Kirchgessner M, Deuringer U (1998) Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, **161**, 121-129.
- Souza J, Andrade O (1983) Dados preliminares sobre nutrição de *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1958), Pisces: Characidae. *Seiva*, **2**.
- Suzuki FM, Orsi ML (2008) Formação de cardumes por *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae) no Rio Congonhas, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, **25**, 566-569.
- Tan Q, Liu Q, Chen X, Wang M, Wu Z (2013) Growth performance, biochemical indices and hepatopancreatic function of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*, would be impaired by dietary rapeseed meal. *Aquaculture*, **414**, 119-126.
- Teixeira EA, Crepaldi DV, Faria PMC, Ribeiro LP, Melo DCd, Euler ACC (2008) Composição corporal e exigências nutricionais de aminoácidos para alevinos de tilápia ("*Oreochromis*" sp.). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, **9**.
- Toledo RCL, Brito LF, Ribeiro SMR, Peluzio MdCG, de Siqueira CLM, de Queiroz JH (2013) Efeito da ingestão da polpa de manga (*Mangifera indica* L.) sobre os parâmetros bioquímicos séricos e integridade hepática em ratos. *Bioscience Journal*, **29**.

- Vargas RJ, Guimarães de Souza SM, Kessler AM, Baggio SR (2008) Replacement of fish oil with vegetable oils in diets for jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard 1824): effects on performance and whole body fatty acid composition. *Aquaculture Research*, **39**, 657-665.
- Vilela C, Hayashi C (2001) Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, **23**, 491-496.
- Vilella FS, Becker FG, Hartz SM (2002) Diet of *Astyanax* species (Teleostei, Characidae) in an Atlantic forest river in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **45**, 223-232.
- Walton M (1985) Aspects of amino acid metabolism in teleost fish. In: *Nutrition and feeding in fish* (ed by COWEY CB, MACKIE, A.M., BELL, J.G.), London: Academic Press, pp. 47-67.
- Walton M, Cowey C, Adron J (1984) The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*, **52**, 115-122.
- Walton MJ, Cowey CB, Adron JW (1982) Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content. *The Journal of Nutrition*, **112**, 1525-1535.
- Wang S, Liu Y-J, Tian L-X, Xie M-Q, Yang H-J, Wang Y, Liang G-Y (2005) Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, **249**, 419-429.
- Wang W, Qiao S, Li D (2009) Amino acids and gut function. *Amino acids*, **37**, 105-110.
- Weatherley A, Gill H (1989) The role of muscle in determining growth and size in teleost fish. *Experientia*, **45**, 875-878.
- Weatherley A, Gill H, Lobo A (1988) Recruitment and maximal diameter of axial muscle fibres in teleosts and their relationship to somatic growth and ultimate size. *Journal of Fish Biology*, **33**, 851-859.
- Wilson RP (2002) Amino acids and proteins. In: *Fish nutrition* (ed. by Halver JE, Hardy RW), Amsterdam, AM, The Netherlands.
- Wilson RP (2003) Amino acid requirements of finfish and crustaceans. In: *Amino Acids in Animal Nutrition* (ed by D'Mello JPF), International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, pp. 427-447.
- Wilson RP, Halver JE (1986) Protein and amino acid requirements of fishes. *Annual Review of Nutrition*, **6**, 225-244.
- Wu G (2013) *Amino acids: biochemistry and nutrition*, CRC Press.
- Xuan X, Wen X, Li S, Zhu D, Li Y (2013) Potential use of macro-algae *Gracilaria lemaneiformis* in diets for the black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, juvenile. *Aquaculture*, **412**, 167-172.
- Yuan Y-c, Gong S-y, Yang H-j, Lin Y-c, Yu D-h, Luo Z (2011) Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture*, **316**, 31-36.
- Zhang C, Ai Q, Mai K, Tan B, Li H, Zhang L (2008) Dietary lysine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture*, **283**, 123-127.
- Zhou F, Shao J, Xu R, Ma J, Xu Z (2010) Quantitative l-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*). *Aquaculture Nutrition*, **16**, 194-204.
- Zhou F, Shao Q-j, Xiao J-x, Peng X, Ngandzali B-O, Sun Z, Ng W-K (2011) Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance, nutrient utilization and tissue biochemical profile of black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, fingerlings. *Aquaculture*, **319**, 72-80.

- Zhou Q-C, Wu Z-H, Chi S-Y, Yang Q-H (2007) Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, **273**, 634-640.
- Zhou Q-C, Wu Z-H, Tan B-P, Chi S-Y, Yang Q-H (2006) Optimal dietary methionine requirement for Juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, **258**, 551-557.
- Zhou X (2005) Use of synthetic lysine in fish feeds: a review on research and application. *Feed Ind*, **27**, 1-7.

III – OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar as exigências dietéticas de lisina e metionina + cistina em dietas para fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanaxaltiparanae*) na terminação.

3.2 Objetivos específicos

- determinar as exigências dietéticas de lisina e metionina + cistina para fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação por meio do desempenho produtivo;
- avaliar a composição corporal de fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação, alimentadas com dietas com níveis crescentes de lisina e metionina + cistina;
- analisar a atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartatoaminotransferase (AST) no soro plasmático de fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação, alimentadas com dietas com níveis crescentes de lisina e metionina + cistina;
- caracterizar o crescimento muscular de fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação, alimentadas com dietas com níveis crescentes de lisina e metionina + cistina.

IV – Exigência de lisina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)

Resumo: O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar a exigência dietética de lisina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), na terminação, com base no desempenho produtivo, composição corporal, crescimento muscular e atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (n=480; 4,96±0,02 g) foram distribuídas em 24 aquários (70 L cada) em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições, sendo alimentadas seis vezes ao dia, até saciedade aparente, durante 95 dias. Foram formuladas seis dietas extrusadas, isoproteicas (345,0 g kg⁻¹ de proteína bruta) e isoenergeticas (19,51 MJ kg⁻¹ de energia bruta), contendo 0,00; 2,60; 5,20; 7,80; 10,40 e 13,00 g kg⁻¹ de L-lisina cristalina, resultando em dietas com 12,13; 13,31; 15,36; 18,79; 19,92 e 23,02 g kg⁻¹, respectivamente, com base na matéria seca. Com base na análise linear response plateau, os melhores resultados de ganho de peso e taxa de crescimento específico foram estimados para peixes que receberam dietas com 18,72 g kg⁻¹ e 18,91 g kg⁻¹ de lisina, valores correspondentes a 5,41 e 5,46% da proteína da dieta, respectivamente. Os peixes alimentados com níveis ótimos de lisina (18,76 g kg⁻¹) apresentaram redução da composição corporal de lipídeos totais (P<0,05). Os peixes que receberam os menores níveis de lisina apresentaram as menores atividades das enzimas AST e ALT (P<0,05) no soro sanguíneo. O crescimento muscular dos peixes dos diferentes tratamentos não apresentou diferenças (P>0,05). Conclui-se que a exigência dietética de lisina para lambari-do-rabo-amarelo na terminação é de 18,72 g kg⁻¹ (5,41% da proteína bruta).

Palavras-chave: Aminoácido essencial, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fibra muscular, lipídeo total, peixe nativo

Lysine requirement for females of “lambari-do-rabo-amarelo” (*Astyanax altiparanae*)

Abstract: This study aimed to evaluate the dietary lysine requirement for finishing “lambari-do-rabo-amarelo” (*Astyanax altiparanae*) female based on growth performance, whole body composition, muscle growth and aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activity. Females “lamari-do-rabo-amarelo” (n=480; 4.96±0.02 g) were randomly assigned to 24 aquaria (70 L each) in a completely randomized design with six treatments and four replicates, and fed six times daily, until apparent satiety, during 95 days. Six isonitrogenous (345.0 g kg⁻¹ crude protein) and isoenergetic (19.51 MJ kg⁻¹ gross energy) extruded diets were formulated to contain 0.00, 2.60; 5.20, 7.80, 10.40 and 13.00 g kg⁻¹ of crystalline L-lysine, resulting in diets containing 12.13; 13.31; 15.36; 18.79; 19.92 and 23.02 g kg⁻¹, respectively, based on dry matter. Based on the broken *linear response plateau* (LRP) analysis the best results for weight gain and specific growth ratio were observed in fish fed 18.72 g kg⁻¹ and 18.91 g kg⁻¹ of lysine diets, corresponding to 5.41 and 5.46% of crude protein, respectively. Fish fed with optimal level of lysine (18.76 g kg⁻¹) decreased (P<0.05) the whole body lipids. The activity of ALT and AST enzymes in the blood serum of fish was lower in fish fed with the lowest dietary lysine level. No significant differences (P>0.05) on muscle growth in fish fed with graded level of dietary lysine were observed. It was concluded that the dietary lysine requirement of finishing “lambari-do-rabo-amarelo” is 18.72 g kg⁻¹ (5.41% of crude protein).

Key words: alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, essential amino acid, muscle fiber, native fish, total lipid

Introdução

A proteína é o principal nutriente em dietas para peixes (Keembiyehetty & Gatlin, 1992), uma vez que apresenta importante papel estrutural e metabólico no corpo do animal (NRC, 2011). A farinha de peixe é o alimento utilizado como referência em dietas para peixes, principalmente em função do adequado balanceamento de aminoácidos de sua proteína (Hardy & Barrows, 2002). Porém, em função do elevado custo resultante da baixa disponibilidade do produto no mercado (Yang et al., 2011), a farinha de peixe tem sido substituída por ingredientes proteicos de origem vegetal (Zhou et al., 2010). No entanto, as proteínas vegetais muitas vezes apresentam deficiências de aminoácidos essenciais, como lisina, metionina e arginina (Hardy & Barrows, 2002).

Para a formulação de dietas balanceadas, que possibilitem o melhor desempenho produtivo dos animais, é importante avaliar o balanceamento de aminoácidos limitantes (Khan & Abidi, 2011), considerando a espécie e fase de crescimento do peixe (Peres & Oliva-Teles, 2008). A lisina é, geralmente, o primeiro aminoácido limitante quando coprodutos do milho são utilizados em dietas para peixes (Forster & Ogata, 1998; Cao et al., 2012). É o aminoácido essencial encontrado em maior concentração no corpo de muitas espécies de peixes (Kim & Lall, 2000); atua como precursor na síntese de carnitina, juntamente com a metionina (Walton et al., 1984), além de ser precursor da hidroxilisina, um dos principais constituintes do colágeno (Sandell & Daniel, 1988).

De acordo com o NRC (2011), a exigência dietética de lisina varia entre 12 a 28 g kg⁻¹, porém, alguns autores apontam para que as exigências de aminoácidos para peixe sejam descritos como porcentagem de proteína dietética (Santiago & Lovell, 1988). Nesse sentido, a exigência de lisina varia entre 3,32 a 6,61% da proteína da dieta (Cao et al., 2012), correspondendo em média a 5,0% da proteína, independentemente do hábito alimentar do peixe.

A mensuração da atividade de enzimas específicas é muito utilizada para avaliar como o metabolismo animal reage a diferentes condições, sendo possível verificar situações metabólicas indesejáveis, como a utilização de proteína para obtenção de energia. Alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST) são enzimas transaminases importantes envolvidas no processo de catabolismo dos aminoácidos (Cowey & Walton, 1989). Aumentos das atividades de ALT e AST podem

ser reflexos da maior utilização de aminoácidos para suprir as demandas energéticas (Abdel-Tawwab et al., 2010).

O crescimento muscular também é um indicativo importante da utilização metabólica dos aminoácidos. Nos peixes, a hiperplasia (aumento do número de células musculares) e a hipertrofia (aumento do volume das células musculares) são mecanismos responsáveis pelo crescimento muscular, porém a contribuição de cada mecanismo no crescimento é dependente da espécie, da fase de crescimento e do tipo de músculo (Dal Pai et al., 2000; Aguiar et al., 2005). Em espécies de pequeno porte, que atingem alguns centímetros de tamanho, o período de crescimento hiperplásico é mais curto e o crescimento muscular ocorre principalmente por hipertrofia das fibras formadas nas fases iniciais da embriogênese.

O lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) é uma espécie de pequeno porte nativa da América do Sul. Por apresentar maturidade sexual precoce, ciclo de produção curto e aceitar prontamente dietas processadas (Porto-Foresti et al., 2010), tem recebido destaque na produção nacional de pescado; possui mercado consumidor em expansão, em função da grande procura desse peixe na forma de petisco, como isca viva para a pesca esportiva e do potencial para ser comercializado enlatado ou em conserva (Ferreira et al., 2014). As fêmeas crescem mais que os machos, sendo preferidas para criação comercial e com o peso de abate de 5 a 10 g. Entretanto, ainda são poucas as pesquisas que avaliam as exigências nutricionais do lambari-do-rabo-amarelo, visando à formulação de rações completas de baixo custo e menor impacto ambiental (Cotan et al., 2006).

Apesar de a lisina ser o aminoácido mais estudado em nutrição de peixes, ainda não existem referências sobre sua exigência para fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação. Portanto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a exigência dietética de lisina para fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação, por meio da avaliação do desempenho produtivo, composição corporal, crescimento muscular e atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).

Material e Métodos

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil (processo nº 18/2013).

Dietas experimentais

Seis dietas isoproteicas (345,0 g kg⁻¹ de proteína bruta) e isoenergéticas (19,51 MJ kg⁻¹ de energia bruta) foram formuladas contendo seis níveis de inclusão de L-lisina cristalina-79% (0,00; 2,60; 5,20; 7,80; 10,40; 13,00 g kg⁻¹), resultando em dietas com 12,13; 13,31; 15,36; 18,79; 19,92 e 23,02 g kg⁻¹ de lisina, com base na matéria seca. A formulação das dietas experimentais, assim como a composição química e a composição de aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Para confecção das dietas, todos os macroingredientes foram moídos em moinho de martelos (TRF-400 Trapp, Jaraguá do Sul, SC, Brasil) com peneira de 0,5 mm de diâmetro. Após a moagem, os macro e microingredientes foram pesados em balança de precisão (MB45 Toledo[®] 0,01 g, PR, Brasil) e misturados em misturador tipo V (Ma200 Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) por 15min. As dietas foram então processadas em extrusora (Ex-Micro[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil) com 3,0 mm de diâmetro. Após extrusão, as dietas foram secas em estufa de ventilação forçada (TE-394/3 Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), a 50°C.

Tabela 1

Tabela 2

Peixes e condições experimentais

Fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação, 4,96±0,02 g, provenientes do setor de piscicultura da Universidade Federal de Viçosa, foram distribuídas em 24 aquários (70 L cada) na densidade de 20 peixes por aquário, em que cada aquário foi considerado uma unidade experimental. Os aquários foram mantidos em um sistema de recirculação de água, com filtro mecânico e biológico, aquecedor e termostato central, além de sistema de aeração constante. Os aquários foram cobertos com rede de *nylon* do tipo clarite, de 2,0 mm, para evitar fuga dos peixes. A taxa de reposição de água no sistema foi de cerca de 5% ao dia, e o fluxo de água de 2 a 3 L min⁻¹.

A temperatura da água foi mantida em 27,0±1,0°C por meio de aquecedores e termostato. O teor de oxigênio dissolvido permaneceu em 6,5±1,0 mg L⁻¹, o pH em 6,5±0,3 e a amônia em 0,00±0,02 mg L⁻¹, durante todo o período experimental. Foi realizada aeração suplementar por meio de soprador central (CR-20 Ibram, São Paulo,

SP, Brasil). Os parâmetros de qualidade da água foram aferidos semanalmente, apenas a temperatura foi aferida diariamente. O laboratório foi mantido em fotoperíodo de 12 h, controlado por um timer analógico. Os peixes foram alimentados seis vezes ao dia (8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h e 18 h), até a saciedade aparente, por um período de 95 dias.

Desempenho produtivo

No final do período experimental, após 24h de jejum, todos os peixes de cada unidade experimental foram anestesiados (20 mg L⁻¹ de eugenol) contados e pesados em balança de precisão (0,01 g), para avaliação da sobrevivência, ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica. Após a pesagem, os peixes de cada unidade experimental foram insensibilizados com superdosagem de eugenol (300 mg L⁻¹), para determinação do rendimento de carcaça, índice viscerossomático, índice gonadossomático e índice hepatossomático. O índice viscerossomático incluiu o peso do estômago, intestino, cecos pilóricos, gônadas, coração, fígado, vesícula e bexiga natatória. Também foi determinada a eficiência de retenção de proteína, utilizando os valores de proteína bruta dos animais.

Crescimento muscular

Para a avaliação do crescimento muscular foram utilizados oito peixes de cada tratamento, dois por unidade experimental. Após insensibilização com superdosagem de eugenol (300 mg L⁻¹), foi retirada uma amostra em formato retangular do músculo branco dorsal, acima da linha lateral, na altura do início da nadadeira dorsal. Essas amostras foram fixadas em formol tamponado 10% por 24 h, em temperatura ambiente, e transferidos para álcool 70%. Posteriormente, os músculos foram desidratados em séries crescentes de álcool etílico e incluídos em glicol metacrilato (Historesin[®], Leica, São Pulo, SP, Brasil). Foram realizados cortes transversais semisseriados, de 3 µm de espessura, obtidos com o auxílio de micrótomo com navalhas de vidro. Os cortes foram montados em lâminas de vidro e processados para a coloração com azul de toluidina. As lâminas histológicas foram fotodocumentadas em fotomicroscópio (Olympus[®] BX53, São Paulo, SP, Brasil) com câmera acoplada (Olympus[®] DP73, São Paulo, SP, Brasil). As fibras foram analisadas pelo pacote de análise de imagens ImagePro-Plus[®], onde foi determinado o menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal, as quais foram

agrupadas em classes de diâmetros ($<20 \mu\text{m}$, $20\text{-}50 \mu\text{m}$ e $>50 \mu\text{m}$) (Almeida et al., 2008). A frequência das fibras dentro de cada classe foi determinada em relação ao número total de fibras. Essas análises foram realizadas no laboratório de Biologia Celular e Estrutural do departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Atividade enzimática

Um pool de amostras de sangue por unidade experimental foi recolhido por meio do corte da nadadeira caudal, com auxílio de uma seringa heparinizada, 1,0 mL de soro foi separado por centrifugação (10000 rpm por 15 min a 4°C) e armazenado a -80°C para posterior análise da atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). A determinação da atividade das enzimas foi realizada utilizando kits comerciais Bioclin[®] (Quibasa - Química Básica, Belo Horizonte, MG, Brasil), em analisador automático de bioquímica (Alizè, Lisabio, França), seguindo as especificações do fabricante. Todas as análises foram feitas em duplicatas. Análises realizadas no departamento de Bioquímica, setor de enzimologia, da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Composição corporal

Todos os peixes foram liofilizados (Labconco, Kansas City, MO, EUA) com cabeça, escamas e conteúdo visceral. Após a liofilização foi determinado o teor de umidade das amostras (peso antes da liofilização – peso após liofilização), os animais liofilizados foram moídos em moinho do tipo faca. Posteriormente, foi determinado a proteína bruta pelo método semimicro Kjeldahl (Quimis, Diadema, SP, Brasil), lipídeos totais (extrator Soxtherm 2000 Gerhardt, New Orleans, EUA) e matéria mineral (calcinação das amostras a 550°C por 6 h), seguindo o preconizado pela AOAC (1995). A energia bruta dos peixes foi obtida em bomba calorimétrica. As análises de composição corporal foram realizadas em triplicatas.

Delineamento experimental e análise estatística

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos a análises de variância (Anova) a 5% de probabilidade. Para a determinação da exigência de lisina foi aplicado

o modelo de regressão polinomial quadrática e modelo linear response plateau (LRP). O modelo que apresentou o maior coeficiente de determinação (r^2) foi escolhido como o modelo de melhor ajuste.

Para a avaliação da atividade das enzimas AST e ALT foram realizadas análises de variância (Anova) e teste de Tukey ($P < 0,05$), em caso de diferença significativa. Todas as análises foram efetuadas por meio do programa computacional SAS 9.1.3.

Resultados

Desempenho produtivo

Sobrevivência, conversão alimentar e rendimento de carcaça, assim como os índices viscerossomático, gonadossomático e hepatossomático, das fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo alimentadas com diferentes níveis de lisina não apresentaram diferenças ($P > 0,05$). O mesmo foi observado para a taxa de eficiência proteica e a eficiência de retenção de proteína (Tabela 3). Não foram observados sinais de doenças ou anomalias externas nos peixes durante a fase experimental.

Os níveis de lisina influenciaram ($P < 0,05$) o ganho de peso e a taxa de crescimento específico (Tabela 3). Os valores de r^2 para o ganho de peso foram de 0,97 e 0,65 para os modelos LRP e regressão polinomial, respectivamente. Do mesmo modo, para a taxa de crescimento específico, esses valores foram de 0,98 e 0,69 para os modelos LRP e regressão polinomial, respectivamente. Com base no r^2 , o modelo LRP é o que apresentou melhor ajuste para as duas variáveis. Segundo este modelo, com base no ganho de peso e na taxa de crescimento específico, a exigência em lisina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na terminação foi de 18,72 g kg⁻¹ e 18,91 g kg⁻¹, correspondendo a 5,41 e 5,46% da proteína da dieta, respectivamente (Figuras 1 e 2).

O consumo de 0,18 g de lisina, por animal, foi a quantidade necessária para máximo ganho de peso ($y = -54,277x^2 + 19,735x + 0,627$; $r^2 = 0,67$) e maior taxa de crescimento específico ($y = -8,2517x^2 + 2,9553x - 0,0445$; $r^2 = 0,70$) em fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo.

Tabela 3

Figuras 1

Figuras 2

Composição corporal

O consumo de dietas contendo diferentes níveis de lisina não influenciou ($P>0,05$) a composição corporal das fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na terminação em umidade, proteína bruta, matéria mineral e energia bruta (Tabela 4). Foi observado efeito quadrático ($y = 0,0437272x^2 - 1,63695x + 24,9696$; $r^2=0,61$) dos níveis de lisina sobre a composição corporal de lipídeos totais dos peixes, em que o menor valor de lipídeo corporal foi encontrado em peixes alimentados com $18,76 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina (5,42% da proteína da dieta).

Tabela 4

Atividade enzimática

A atividade das enzimas AST e ALT no soro sanguíneo de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo em terminação foi influenciada ($P<0,05$) pelos níveis de lisina das dietas. Peixes alimentados com dietas com $12,13$ e $13,31 \text{ g kg}^{-1}$ apresentaram menores valores de atividade da enzima AST, em relação aos peixes que receberam as dietas com $15,36$ a $23,02 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina dietética. A maior atividade da enzima ALT foi observada em peixes que consumiram a dieta com $23,02 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina. Peixes alimentados com dietas com $12,13$ a $15,36 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina apresentaram as menores concentrações de ALT (Tabela 5).

Tabela 5

Crescimento muscular

Os peixes apresentaram fibras musculares distribuídas nas três classes de diâmetros estabelecidas (Figura 3). Os diferentes níveis de lisina dietética não influenciaram ($P>0,05$) a frequência de fibras musculares em nenhuma das três classes de diâmetros estabelecidas (<20 ; entre 20 e 50 e $>50 \mu\text{m}$) (Tabela 6).

Figura 3

Tabela 6

Discussão

O ganho de peso e a taxa de crescimento específico aumentaram com a suplementação de lisina na dieta e, com base nesses parâmetros, as exigências dietéticas de lisina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo foram estimadas em 18,72 g kg⁻¹ (5,41% da proteína da dieta) e 18,91 g kg⁻¹ (5,46% da proteína da dieta), respectivamente. Com base na exigência de lisina como porcentagem da proteína, os valores encontrados no presente estudo estão dentro da faixa estimada para outras espécies de peixes, de 3,32 a 6,61% da proteína da dieta (Wilson, 2003), assim como para a maioria das espécies descritas no NRC (2011), sendo próxima da exigência estimada para juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), de 5,44% da proteína da dieta (Wang et al., 2005) e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação, 5,70% da proteína da dieta (Furuya et al., 2004). No entanto, a exigência de lisina estimada para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na presente pesquisa foi maior que a estimada para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), de 4,5% da proteína da dieta (Montes-Girao & Fracalossi, 2006) e menor que a estimada para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), de 5,86% da proteína da dieta (Abimorad et al., 2010).

A exigência de lisina é variável de acordo com a espécie de peixe, idade dos animais, composição da dieta (Forster & Ogata, 1998), manejo dos peixes e condições experimentais (Forster & Ogata, 1998; Mai et al., 2006), digestibilidade da energia e dos nutrientes das dietas (De Silva et al., 2000). Além disso, as variações podem também ser atribuídas ao método estatístico utilizado para estimar a exigência (Mai et al., 2006). Destaca-se que, pelo modelo LRP, geralmente a estimativa da exigência é menor, quando comparado ao modelo de regressão polinomial (Baker, 1986). O modelo LRP é o modelo mais comum utilizado em experimentos de dose-resposta para estimar as exigências de lisina de animais aquáticos (Hauler & Carter, 2001; Hernandez-Llamas, 2009). No presente estudo, este modelo apresentou melhor coeficiente de determinação (r^2), sendo considerado o mais adequado para descrever a relação entre o nível de lisina e a resposta de desempenho produtivo dos peixes.

Vários estudos têm demonstrado que os peixes apresentam menor eficiência em utilizar aminoácidos cristalinos, quando comparada a utilização de aminoácidos ligados às proteínas (Zarate & Lovell, 1997). Isso pode ser explicado pela maior velocidade de absorção dos aminoácidos cristalinos (Ronnestad et al., 2000), uma vez que não necessitam ser digeridos. Essa absorção desproporcional altera o padrão dos

aminoácidos que entram no sistema circulatório, e provocam desequilíbrio no perfil de aminoácidos dos tecidos e reduz a eficiência da síntese de proteínas (Zarate & Lovell, 1997; Ambardekar & Reigh, 2007). Além disso, ocorre aumento no catabolismo de aminoácidos, resultado da redução dos processos anabólicos, levando ao aumento da excreção de nitrogênio (Cheng et al., 2003; Conceição et al., 2003). Aumentar a frequência de alimentação é uma estratégia utilizada para reduzir o excesso de lisina nas células e melhorar a utilização dos aminoácidos cristalinos. Bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (Zarate et al., 1999) e perca prateada (*Bidyanus bidyanus*) (Yuan et al., 2011) alimentados cinco vezes ao dia, apresentaram maior eficiência de utilização dos aminoácidos cristalinos. Diante disso, no presente estudo, os peixes foram alimentados seis vezes por dia para permitir maior utilização dos aminoácidos cristalinos e reduzir a lixiviação dos mesmos.

A suplementação de lisina é relacionada à redução no conteúdo corporal de lipídeos dos peixes (Mai et al., 2006; Zhang et al., 2008; Carter & Hauler, 2011) e aumento da taxa de retenção proteica (Wang et al., 2005; Abboudi et al., 2006; Lin et al., 2012). Esta tendência pode ser atribuída ao fato de que uma dieta balanceada, provavelmente, reduz o catabolismo de aminoácidos e aumenta a síntese de proteínas, reduzindo a utilização da proteína dietética para formação de gordura corporal (Rodehutschord et al., 2000; Tantikitti & Chimsung, 2001; Encarnação et al., 2004). A lisina também é percussora na síntese de carnitina, molécula envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para a mitocôndria, onde é realizada a β -oxidação (Walton et al., 1984), assim a lisina pode estimular indiretamente o catabolismo de lipídeos (Ozório et al., 2001; Zhou et al., 2010).

No presente estudo, o nível de lisina estimado para a menor composição corporal de lipídeos totais foi $18,76 \text{ g kg}^{-1}$, valor similar à exigência de lisina determinada com base no ganho de peso e na taxa de crescimento específica. Burtle & Liu (1994) relataram que o conteúdo de lipídeos do bagre do canal foi reduzido com a suplementação de carnitina, lisina ou ambos. Alguns autores observaram redução no conteúdo corporal de lipídeos em peixes alimentados com níveis ótimos de lisina, mesmo sem alteração do conteúdo proteico (Luo et al., 2006; Sánchez-Lozano et al., 2009; Deng et al., 2011).

O aumento da atividade das enzimas AST e ALT, no soro dos peixes que receberam as maiores proporções de lisina na dieta ($15,36$ a $23,02 \text{ g kg}^{-1}$), sugere aumento no catabolismo de aminoácidos. O excedente de aminoácidos fornecido não

pode ser armazenado pelos peixes, sendo desaminado e convertidos em compostos energéticos (Ballantyne, 2001; Stone et al., 2003), as enzimas ALT e a AST são as transaminases mais importantes envolvidas neste processo (Cowey & Walton, 1989). Isso também foi demonstrado em alevinos de pargo negro (*Acanthopagrus schlegelii*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina e arginina, que apresentaram menor atividade de ALT plasmática quando receberam a dieta controle, que atendia a exigência dos aminoácidos (Zhou et al., 2011). Aumento da atividade da ALT sanguínea também foi observado em larvas, alevinos e juvenis de tilápias do Nilo, quando o nível de proteína digestível da dieta passou de 25% para 45%. Os autores atribuíram o aumento da atividade da ALT à maior utilização de aminoácidos para produção energética (Abdel-Tawwab et al., 2010).

No presente trabalho, os peixes apresentaram crescimento muscular predominantemente por hipertrofia das células. A maioria das espécies de peixes apresenta crescimento muscular indeterminado, quando o aumento da musculatura ocorre através do recrutamento de novas fibras musculares (hiperplasia) e do aumento no tamanho das fibras musculares já existentes (hipertrofia) (Stickland, 1983). Diferente dos peixes, os mamíferos apresentam crescimento muscular determinado e o aumento da massa muscular pós-natal ocorre principalmente por hipertrofia (Johansen & Overturf, 2005). No entanto, em algumas espécies, como o peixe-zebra (*Danio rerio*), o crescimento muscular é determinado, com pouco crescimento por hiperplasia ocorrendo após a fase de juvenil (Biga & Goetz, 2006). O lambari-do-rabo-amarelo é uma espécie de pequeno porte, nessas espécies, em geral, o período de crescimento hiperplásico é mais curto e o crescimento muscular ocorre principalmente por hipertrofia das fibras musculares.

O crescimento muscular pode ser influenciado por vários fatores externos, como a nutrição (Johnston, 2006). Ainda são conflitantes os efeitos da suplementação proteica e aminoacídica na hiperplasia e hipertrofia das fibras musculares de peixes. Diferentes níveis de lisina, em dietas para larvas de tilápia do Nilo, resultaram em aumento da taxa de hiperplasia dos peixes (Aguiar et al., 2005). Por outro lado, juvenis de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) alimentados com diferentes níveis de proteína apresentaram poucas mudanças nos tamanhos das fibras musculares (Johnston et al., 2003). Para adultos de lambari-do-rabo-amarelo, os níveis de lisina avaliados não foram suficientes para refletir em diferenças nas frequências das classes de diâmetros das fibras musculares. Por outro lado, apesar da baixa taxa de crescimento dos peixes, a

suplementação com lisina pode ter impedido que as fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo apresentassem decréscimo na taxa de crescimento, devido ao maior gasto de energia para formar as gônadas, como relatado em salmonídeos durante a maturação sexual (Aksnes et al., 1986; Tveiten et al., 1998).

A adequada suplementação de lisina resultou em maior crescimento e redução corporal de lipídeos, em que os melhores resultados foram obtidos em peixes que receberam dietas com relação arginina:lisina próxima de 0,91:1,00. Além da exigência de lisina, a relação entre arginina e lisina deve ser considerada para evitar antagonismos entre os mesmos (Wu, 2013). Considerando que a criação de fêmeas resulta em animais com maior proporção corporal de lipídeos, a redução corporal de lipídeos por meio da adequada suplementação de lisina constitui-se em ferramenta nutricional para adequar o pescado para ser comercializado. Concluiu-se que, de acordo com o modelo LRP e com o ganho de peso dos peixes, a exigência dietética de lisina para fêmeas de lambaris-do-rabo-amarelo na terminação é de 18,72 g kg⁻¹ (5,41% da proteína bruta da dieta).

Referências

- Abboudi T, Mambrini M, Ooghe W, Larondelle Y, Rollin X (2006) Protein and lysine requirements for maintenance and for tissue accretion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Aquaculture*, **261**, 369-383.
- Abdel-Tawwab M, Ahmad MH, Khattab YA, Shalaby AM (2010) Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, **298**, 267-274.
- Abimorad E, Favero G, Squassoni G, Carneiro D (2010) Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, **16**, 370-377.
- Aguiar D, Barros M, Padovani C, Pezzato L, Pai-Silva D (2005) Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*, **67**, 1287-1298.
- Aksnes A, Gjerde B, Roald SO (1986) Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, **53**, 7-20.
- Almeida FLA, Carvalho RF, Pinhal D, Padovani CR, Martins C, Dal Pai-Silva M (2008) Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. *Micron*, **39**, 1306-1311.
- Ambardekar AA, Reigh RC (2007) Sources and utilization of amino acids in channel catfish diets: a review. *North American Journal of Aquaculture*, **69**, 174-179.
- Baker DH (1986) Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. *Journal of Nutrition*, **116**, 2339-2349.
- Ballantyne JS (2001) Amino acid metabolism. In: *Fish Physiology*, pp. 77-107.

- Biga PR, Goetz FW (2006) Zebrafish and giant danio as models for muscle growth: determinate vs. indeterminate growth as determined by morphometric analysis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **291**, 1327-1337.
- Burtle GJ, Liu Q (1994) Dietary carnitine and lysine affect channel catfish lipid and protein composition. *Journal of the World Aquaculture Society*, **25**, 169-174.
- Cao J, Chen Y, Zhu X, Huang Y, Zhao H, Li G, Lan H, Chen B, Pan Q (2012) A study on dietary L-lysine requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquaculture Nutrition*, **18**, 35-45.
- Carter CG, Hauler RC (2011) Effect of high digestible protein to digestible energy ratio on lysine utilisation by Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture*, **311**, 209-214.
- Cheng ZJ, Hardy RW, Usry JL (2003) Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture*, **215**, 255-265.
- Conceição L, Grasdalen H, Rønnestad I (2003) Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture*, **227**, 221-232.
- Cotan JLV, Lanna EAT, Bomfim M, Donzele J, Ribeiro FB, Serafini MA (2006) Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **35**, 634-640.
- Cowey CB, Walton MJ (1989) Intermediary catabolism. In: *Fish Nutrition* (ed by Halver JE). Academic Press, San Diego, CA, pp. 259-329.
- Dal Pai V, Pai-Silva D, Carvalho E, Fujihara C, Gregório E, Curi P (2000) Morphological, histochemical and morphometric study of the myotomal muscle tissue of the pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, **29**, 283-289.
- De Silva SS, Gunasekera RM, Gooley G (2000) Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) and the Australian shortfin eel *Anguilla australis* Richardson. *Aquaculture Research*, **31**, 195-205.
- Deng J, Zhang X, Tao L, Bi B, Kong L, Lei X (2011) d-lysine can be effectively utilized for growth by common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, **17**, 467-475.
- Encarnação P, de Lange C, Rodehutsord M, Hoehler D, Bureau W, Bureau DP (2004) Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture*, **235**, 569-586.
- Ferreira PdMF, Nascimento LdS, Dias DC, Moreira DMdV, Salaro AL, Freitas Dd, Bontempo M, Carneiro APS, Zuanon JAS (2014) Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **45**, 28-34.
- Forster I, Ogata HY (1998) Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, **161**, 131-142.
- Furuya WM, Botaro D, Neves PR, Silva LCR, Hayashi C (2004) Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. *Ciência Rural*, **34**, 1933-1937.
- Hardy RW, Barrows FT (2002) Diet formulation and manufacture. In: *Fish nutrition* (ed. by Halver JE, Hardy RW), San Diego, CA, pp. 505-600.

- Hauler RC, Carter CG (2001) Reevaluation of the quantitative dietary lysine requirements of fish. *Reviews in Fisheries Science*, **9**, 133-163.
- Hernandez-Llamas A (2009) Conventional and alternative dose–response models to estimate nutrient requirements of aquaculture species. *Aquaculture*, **292**, 207-213.
- Johansen KA, Overturf K (2005) Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Biotechnology*, **7**, 576-587.
- Johnston IA (2006) Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 2249-2264.
- Johnston IA, Manthri S, Alderson R, Smart A, Campbell P, Nickell D, Robertson B, Paxton CG, Burt ML (2003) Freshwater environment affects growth rate and muscle fibre recruitment in seawater stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Experimental Biology*, **206**, 1337-1351.
- Keembiyehetty CN, Gatlin DM (1992) Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, **104**, 271-277.
- Khan M, Abidi S (2011) Effect of dietary L-lysine levels on growth, feed conversion, lysine retention efficiency and haematological indices of *Heteropneustes fossilis* (Bloch) fry. *Aquaculture Nutrition*, **17**, 657-667.
- Kim J-D, Lall SP (2000) Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, **187**, 367-373.
- Lin Y, Gong Y, Yuan Y, Gong S, Yu D, Li Q, Luo Z (2012) Dietary L-lysine requirement of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture Research*, 1–11.
- Luo Z, Liu YJ, Mai KS, Tian LX, Tan XY, Yang HJ, Liang GY, Liu DH (2006) Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, **12**, 165-172.
- Mai K, Zhang L, Ai Q, Duan Q, Zhang C, Li H, Wan J, Liufu Z (2006) Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture*, **258**, 535-542.
- Montes-Girao PJ, Fracalossi DM (2006) Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundiá, *Rhamdia quelen*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **37**, 388-396.
- NRC (2011) National Research Council - Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Ozório R, Van Eekeren T, Huisman E, Verreth J (2001) Effects of dietary carnitine and protein energy: nonprotein energy ratios on growth, ammonia excretion and respiratory quotient in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) juveniles. *Aquaculture Research*, **32**, 406-414.
- Peres H, Oliva-Teles A (2008) Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, **275**, 283-290.
- Porto-Foresti F, Castilho-Almeida RB, Senhorini JA, Foresti F (2010) Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (ed. by Baldisserotto B, Gomes LC). edioraufsm, Santa Maria, RS, BRASIL, pp. 101-115.
- Rodehutsord M, Borchert F, Gregus Z, Pack M, Pfeffer E (2000) Availability and utilisation of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): 1. Effect of dietary crude protein level. *Aquaculture*, **187**, 163-176.

- Rønnestad I, Conceição LE, Aragão C, Dinis MT (2000) Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *The Journal of Nutrition*, **130**, 2809-2812.
- Sánchez-Lozano NB, Martínez-Llorens S, Tomás-Vidal A, Cerdá MJ (2009) Effect of high-level fish meal replacement by pea and rice concentrate protein on growth, nutrient utilization and fillet quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.). *Aquaculture*, **298**, 83-89.
- Sandell LJ, Daniel JC (1988) Effects of ascorbic acid on collagen mRNA levels in short term chondrocyte cultures. *Connective Tissue Research*, **17**, 11-22.
- Santiago CB, Lovell RT (1988) Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *The Journal of Nutrition*, **118**, 1540-1546.
- Stickland NC (1983) Growth and development of muscle fibers in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Anatomy*, **137**, 323-333.
- Stone D, Allan G, Anderson A (2003) Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). III. The protein-sparing effect of wheat starch-based carbohydrates. *Aquaculture Research*, **34**, 123-134.
- Tantikitti C, Chimsung N (2001) Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). *Aquaculture Research*, **32**, 135-141.
- Tveiten H, Mayer I, Johnsen H, Jobling M (1998) Sex steroids, growth and condition of Arctic charr broodstock during an annual cycle. *Journal of Fish Biology*, **53**, 714-727.
- Walton M, Cowey C, Adron J (1984) The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*, **52**, 115-122.
- Wang S, Liu Y-J, Tian L-X, Xie M-Q, Yang H-J, Wang Y, Liang G-Y (2005) Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, **249**, 419-429.
- Wilson RP (2002) Amino acids and proteins. In: *Fish nutrition* (ed. by Halver JE, Hardy RW), Amsterdam, AM, The Netherlands.
- Wilson RP (2003) Amino acid requirements of finfish and crustaceans. In: *Amino Acids in Animal Nutrition* (ed by D`Mello JPF), International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, pp. 427-447.
- Wu G (2013) *Amino acids: biochemistry and nutrition*, CRC Press.
- Yang S-D, Liu F-G, Liou C-H (2011) Assessment of dietary lysine requirement for silver perch (*Bidyanus bidyanus*) juveniles. *Aquaculture*, **312**, 102-108.
- Yuan Y-c, Gong S-y, Yang H-j, Lin Y-c, Yu D-h, Luo Z (2011) Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture*, **316**, 31-36.
- Zarate DD, Lovell RT (1997) Free lysine (L-lysine· HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **159**, 87-100.
- Zarate DD, Lovell RT, Payne DM (1999) Effects of feeding frequency and rate of stomach evacuation on utilization of dietary free and protein-bound lysine for growth by channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture Nutrition*, **5**, 17-22.
- Zhang C, Ai Q, Mai K, Tan B, Li H, Zhang L (2008) Dietary lysine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture*, **283**, 123-127.
- Zhou F, Shao J, Xu R, Ma J, Xu Z (2010) Quantitative L-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*). *Aquaculture Nutrition*, **16**, 194-204.

Zhou F, Shao Q-j, Xiao J-x, Peng X, Ngandzali B-O, Sun Z, Ng W-K (2011) Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance, nutrient utilization and tissue biochemical profile of black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, fingerlings. *Aquaculture*, **319**, 72-80.

Tabela 1 - Formulação das dietas experimentais

Ingredientes	Nível de lisina (g kg ⁻¹)					
	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02
Farelo de soja	213,00	213,00	213,00	213,00	213,00	213,00
Glúten de milho 60	228,50	228,50	228,50	228,50	228,50	228,50
Fubá de milho	214,00	211,40	208,80	206,20	203,60	201,00
Farelo de trigo	244,00	244,00	244,00	244,00	244,00	244,00
Quirera de arroz	48,80	48,80	48,80	48,80	48,80	48,80
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
L- Lisina ¹	0,00	2,60	5,20	7,80	10,40	13,00
L-Triptofano ¹	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
L-Arginina ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL-Metionina ¹	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Vitamina C ²	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Sal comum	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Supl. min. e vit. ³	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
BHT ⁴	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico ⁵	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

¹L – Lisina, L-Triptofano, L-Arginina (Ajinomoto, São Paulo, SP, Brasil); DL – Metionina (MCassab, São Paulo, SP, Brasil).

²Vitamina C (Saint Charbel, Viçosa, MG, Brasil).

³Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI; Vit. D₃; 200.000UI; Vit. E, 12.000 mg; Vit. K₃, 2.400 mg; Vit. B₁, 4.800 mg; Vit. B₂, 4.800 mg; Vit. B₆, 4.000 mg; Vit. B₁₂, 4.800 mg; Ac. Fólico, 1.200 mg; Pantotenato Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; Biotina, 48 mg; Colina, 65.000 mg; Niacina, 24.000 mg; Ferro, 10.000 mg; Cobre, 6.000 mg; Manganês, 4.000 mg; Zinco, 6.000 mg; Iodo, 20 mg; Cobalto, 2 mg; Selênio, 20 mg.

⁴Butilhidroxi tolueno (antioxidante) (Isofar Ind., Rio de Janeiro, RJ, Brasil)

⁵Antifúngico (MoldZap Aquativa[®], - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Araucária, PR, Brasil). Composição: dipropionato de amônia, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico.

Tabela 2 - Composição química e de aminoácidos das dietas experimentais, base na matéria seca

Composição (g kg ⁻¹)	Nível de lisina (g kg ⁻¹)					
	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02
Matéria seca ¹	941,70	939,90	945,80	942,30	938,80	943,00
Proteína bruta ¹	339,60	346,31	349,86	349,78	342,46	346,87
Extrato etéreo ¹	135,98	133,11	133,78	132,11	132,80	134,66
Cinzas ¹	66,35	67,28	65,48	67,05	65,38	65,10
Fibra bruta ¹	26,76	27,56	26,45	26,96	27,69	26,52
Energia bruta (MJkg ⁻¹) ¹	19,45	19,30	19,41	19,54	19,68	19,72
Aminoácidos essenciais ²						
Lisina	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02
Metionina	6,91	6,82	6,98	7,15	7,21	7,32
Treonina	12,15	11,60	11,71	12,46	12,43	12,64
Triptofano	5,83	5,83	5,77	6,02	5,85	5,63
Arginina	16,84	15,55	15,93	17,04	16,61	16,69
Fenilalanina	18,47	16,78	17,03	17,99	18,16	18,49
Histidina	7,68	7,23	7,16	7,64	7,59	7,75
Isoleucina	12,92	11,86	12,05	12,97	12,98	12,96
Leucina	38,11	34,93	35,82	37,40	38,18	38,80
Valina	14,64	13,46	13,81	14,66	14,81	14,92
Aminoácidos não essenciais ²						
Alanina	21,97	19,45	20,41	21,47	21,56	21,60
Ácido aspártico	25,46	24,44	24,89	26,51	26,15	26,76
Ácido glutâmico	67,55	62,20	63,64	66,89	66,57	68,09
Cistina	5,29	4,77	5,03	5,27	5,14	5,26
Glicina	12,01	11,01	10,85	11,99	11,56	11,83
Serina	16,12	15,30	15,71	16,42	16,61	16,96
Tirosina	13,76	12,53	12,52	13,38	13,79	13,56

¹Valores determinados no laboratório de Nutrição Animal do departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

²Valores determinados no laboratório da Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., São Paulo, Brasil.

Tabela 3 - Desempenho produtivo de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina

Parâmetros	Nível de lisina (g kg ⁻¹)						Valor P
	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02	
^a GP (g)	1,66±0,09	1,85±0,27	2,00±0,41	2,24±0,07	2,48±0,26	2,31±0,14	0,0006
^b TCE (%)	0,11±0,01	0,14±0,03	0,16±0,06	0,20±0,01	0,23±0,03	0,21±0,02	0,0003
^c CA (g/g)	2,84±0,45	3,28±0,08	3,23±0,45	2,73±0,08	2,93±0,16	3,16±0,23	0,1824
^d TEP (%)	0,80±0,10	0,86±0,05	0,90±0,14	1,02±0,06	0,96±0,10	0,90±0,07	0,4095
^e ERP (%)	21,39±2,99	24,12±1,04	22,59±1,99	26,98±1,11	24,41±1,18	23,40±1,75	0,4517
^f RC (%)	73,06±1,55	72,52±2,25	73,05±1,24	72,23±2,40	74,43±2,96	73,31±1,34	0,7514
^g IVS (%)	20,51±1,29	20,63±1,91	20,36±1,37	20,53±1,03	20,06±1,74	19,95±1,32	0,9801
^h IGS (%)	15,94±1,19	15,22±1,91	15,09±0,43	15,90±0,68	15,89±1,78	15,63±1,47	0,9298
ⁱ IHS (%)	0,79±0,10	0,90±0,20	0,92±0,06	0,84±0,13	0,81±0,10	0,85±0,06	0,6929
^j SO (%)	75,44±24,31	85,97±8,04	96,49±6,08	91,23±3,04	87,72±3,04	92,32±9,14	0,3695

Diferença significativa entre os níveis de lisina foram determinadas pela análise de variância (ANOVA) seguida pela análise linear response plateau (LRP).

^aGP (Ganho de peso) = Biomassa média final – Biomassa média inicial

^bTCE (Taxa de crescimento específico) = (ln Peso final – ln Peso inicial)/dias x 100

^cCA (Conversão alimentar) = Consumo total de ração/Ganho de peso total

^dTEP (Taxa de eficiência proteica) = Ganho de peso/Proteína consumida

^eERP (Eficiência de retenção de proteína) = ((Conteúdo final de proteína da carcaça x Biomassa final) – (Conteúdo inicial proteína da carcaça x Biomassa inicial))/Proteína consumida

^fRC (Rendimento de carcaça) = Peso peixe eviscerado/Peso peixe inteiro x 100

^gIVS (Índice viscerossomático) = Peso da víscera/Peso do animal inteiro x 100

^hIGS (Índice gonadossomático) = Peso da gônada/Peso animal inteiro x 100

ⁱIHS (Índice hepatossomático) = Peso do fígado/Peso do animal inteiro x 100

^jSO (Sobrevivência) = Número final de peixes/Número inicial de peixes x 100

Tabela 4 - Composição corporal (% da matéria natural) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina

Parâmetros	Nível de lisina (g kg ⁻¹)						Valor P
	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02	
Umidade	67,47±1,53	68,00±0,48	68,89±0,38	68,90±0,70	68,57±0,50	68,35±1,81	0,4772
Proteína bruta	20,24±0,67	20,38±0,28	19,59±0,26	20,01±0,76	19,91±0,14	20,21±1,35	0,2942
Lípídeo total	11,52±1,06	10,92±0,52	10,27±0,28	9,48±0,55	9,80±0,39	10,47±0,58	0,0229
Matéria mineral	4,15±0,29	4,51±0,12	4,45±0,22	4,29±0,18	4,47±0,46	4,40±0,12	0,3044
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	1574,04±78,33	1582,21±38,84	1576,78±31,26	1549,55±66,35	1555,99±54,29	1585,09±84,40	0,7835

Diferença significativa entre os níveis de lisina foram determinadas pela análise de variância (Anova) seguida pela análise de regressão.

Tabela 5 - Atividade das enzimas AST e de ALT no soro (U L⁻¹) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina

Parâmetro	Nível de lisina (g kg ⁻¹)						Valor P
	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02	
AST	374,33±62,13 ^b	382,00±41,15 ^b	532,50±53,03 ^a	525,33±41,36 ^a	501,00±46,49 ^a	513,00±12,73 ^a	0,0008
ALT	25,00±9,85 ^c	29,33±13,87 ^c	35,33±1,53 ^{bc}	52,67±6,11 ^b	51,67±4,16 ^b	60,67±4,62 ^a	0,0003

Médias nas linhas seguidas por letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase).

Tabela 6 - Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm) em fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina

Diâmetros	Nível de lisina (g kg ⁻¹)						Valor P
	12,13	13,31	15,36	18,79	19,92	23,02	
<20 µm	0,69±1,00	0,50±0,53	0,17±0,26	1,13±0,86	0,75±1,25	0,44±0,61	0,4720
20-50 µm	34,00±11,83	28,71±9,70	28,58±10,08	29,50±12,34	27,69±9,43	26,76±6,90	0,8179
>50 µm	65,31±12,47	70,79±9,92	71,33±10,27	69,38±13,65	71,56±11,29	73,00±6,26	0,8234

Frequência de distribuição das fibras musculares expressas em %.

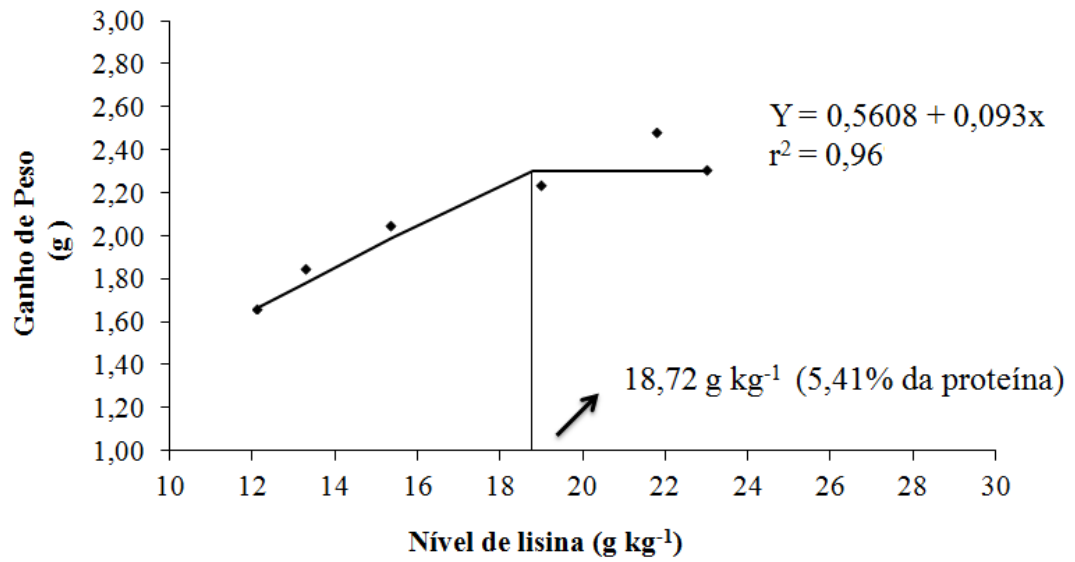


Figura 1 - Ganho de peso de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina.

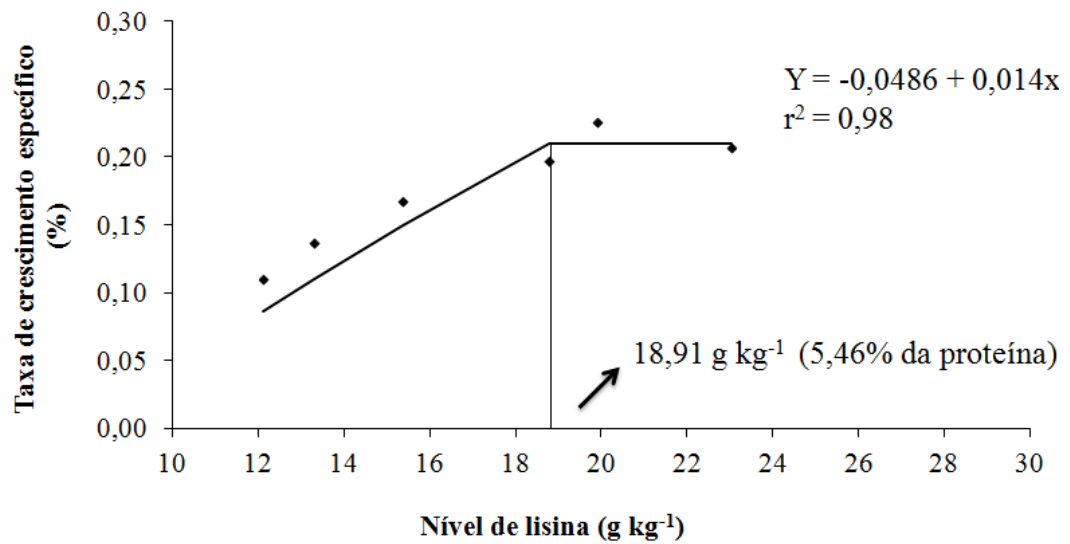


Figura 2 - Taxa de crescimento específico de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de lisina.

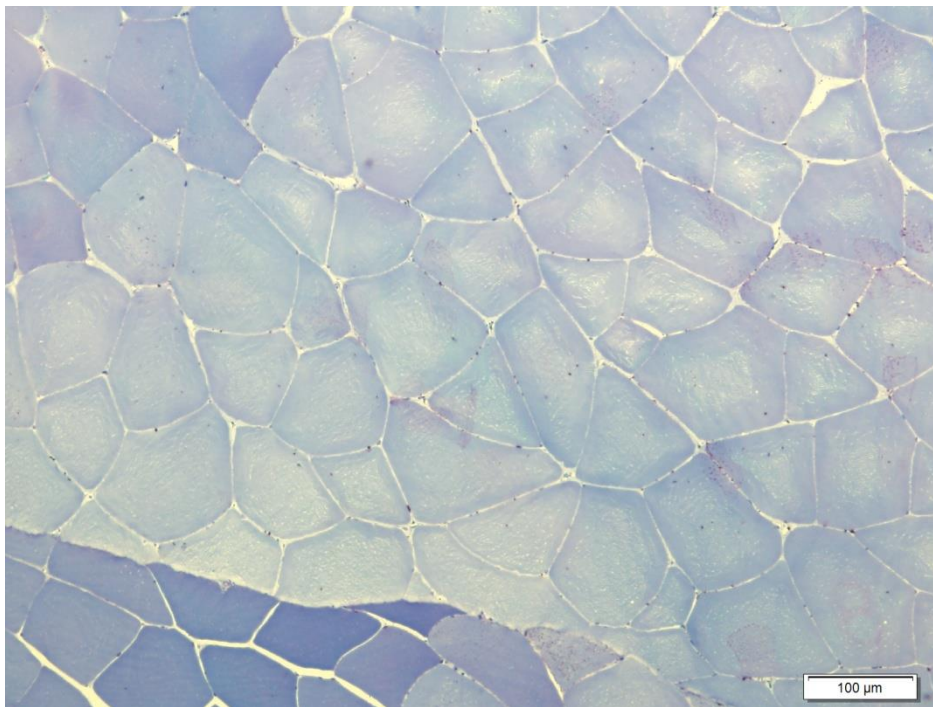


Figura 3 - Fotomicrografia representativa de corte transversal do músculo branco dorsal de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dieta basal, contendo $12,13 \text{ g kg}^{-1}$ de lisina. Azul de toluidina.

V – Exigência dietética de metionina + cistina para lambari-do-rabo-amarelo

(*Astyanax altiparanae*)

Resumo: Com este estudo objetivou-se determinar a exigência de metionina + cistina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) em fase de terminação, por meio da avaliação do desempenho produtivo, composição corporal, crescimento muscular e atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Os peixes (n=264; 6,10±0,11 g) foram distribuídos em 24 aquários (70 L cada) e alimentados seis vezes ao dia, durante 95 dias. Dietas isoproteicas (310,0 g kg⁻¹ de proteína bruta) e isoenergéticas (19,76 MJ kg⁻¹ de energia bruta) foram formuladas com seis níveis de DL-metionina cristalina, 0,00; 2,00; 4,00; 6,00; 8,00 e 10,00 g kg⁻¹, correspondendo a dietas com 6,71; 8,31; 11,31; 13,12; 15,59 e 19,74 g kg⁻¹ de metionina + cistina, respectivamente. Os diferentes níveis de metionina + cistina influenciaram (P<0,05) o ganho de peso, taxa de crescimento específica e taxa de eficiência proteica. O maior ganho de peso foi obtido para o nível estimado de 13,66 g kg⁻¹ de metionina + cistina (4,40% da proteína bruta da dieta). A maior taxa de crescimento específica foi estimada em peixes que receberam a dieta com 13,52 g kg⁻¹ de metionina + cistina (4,36% da proteína bruta da dieta). A máxima taxa de eficiência proteica foi obtida nos peixes alimentados com 13,17 g kg⁻¹ de metionina + cistina (4,25% da proteína bruta da dieta). Não foi observado diferença na composição corporal, crescimento muscular e atividade das enzimas ALT e AST nos peixes alimentados com diferentes níveis de metionina + cistina. Conclui-se que a exigência de metionina + cistina para lambari-do-rabo-amarelo em fase de terminação é de 13,52 g kg⁻¹ (4,36% da proteína bruta da dieta).

Palavras-chave: Aminoácido essencial, aminotransferase, aminoácido sulfurado, fibra muscular, peixe nativo

Dietary methionine + cystine requirement for “lambari-do-rabo-amarelo”*(Astyanax altiparanae)*

Abstract: This study aimed to determine the methionine + cystine requirement for finishing female lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), through the evaluation of the growth performance, whole body composition, muscle growth and aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activity. The fish (n=264; 6.10±0.11 g) were distributed into 24 (70 L each) and fed with extruded diets six times per day, during 95 days. An isonitrogenous (310.0 g kg⁻¹ crude protein) and isoenergetic (19.76 MJ kg⁻¹ gross energy) amino acid test diets were prepared to contain six levels of DL-methionine, 0.00; 2.00; 4.00; 6.00; 8.00 and 10.00 g kg⁻¹, corresponding to diets containing 6.71; 8.31; 11.31; 13.12; 15.59 and 19.74 g kg⁻¹ of methionine + cystine, respectively. The different levels of methionine influenced (P<0.05) the weight gain, specific growth rate and protein efficiency ratio. The higher weight gain was in fish fed 13.66 g kg⁻¹ of methionine + cystine (4.40% of the dietary protein). The higher specific growth rate was estimated in fish fed 13.52 g kg⁻¹ of methionine + cystine (4.36% of dietary protein). The maximum protein efficiency ratio was obtained in fish fed 13.17 g kg⁻¹ methionine + cystine (4.25% of dietary protein). No differences on whole body composition, muscle growth and ALT and AST activity of fish fed with graded levels of methionine were observed. It was concluded that the dietary methionine + cystine requirement for finishing “lambari-do-rabo-amarelo” is 13.52 g kg⁻¹ (4.36% the dietary protein).

Key words: Amninotransferase, essential amino acid, muscle fiber, native fish, sulfur amino acid

Introdução

O lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) é um peixe onívoro (Vilella et al., 2002; Bennemann et al., 2005) que aceita dietas processadas desde a fase larval. É uma espécie de pequeno porte que atinge a maturidade sexual aos quatro meses de idade (Porto-Foresti et al., 2010), características que podem viabilizar sua utilização como modelo experimental (Gonçalves et al., 2014). Apresenta dimorfismo sexual, sendo que os machos apresentam espículas ásperas na nadadeira anal durante o período reprodutivo (Porto-Foresti et al., 2010) e as fêmeas apresentam maior taxa de crescimento e são preferidas para criação. Lambaris são utilizados como isca viva para a pesca esportiva e consumido preferencialmente na forma de petisco (Hayashi et al., 2004; Ferreira et al., 2014), sendo comercializados entre 5 e 10 g.

Na alimentação animal é necessário o fornecimento contínuo de proteína para atender as exigências de manutenção e produção, uma vez que a proteína representa aproximadamente 65 a 75% da matéria seca corporal (Wilson, 2002) e desempenham importante papel estrutural e metabólico (NRC, 2011). A soja e seus coprodutos têm sido amplamente utilizados como ingredientes proteicos em dietas para organismos aquáticos. No entanto, possuem deficiência em metionina, um aminoácido essencial e o primeiro aminoácido limitante nesses alimentos (Dabrowski et al., 1989; Mai et al., 2006).

A metionina é indispensável para a síntese proteica e apresenta importantes funções fisiológicas (Lovell, 1998). Metionina e cistina são aminoácidos inter-relacionados e são as principais fontes de enxofre para o metabolismo normal do corpo (Zhou et al., 2006). A cistina não é considerada um aminoácido essencial, uma vez que pode ser sintetizada a partir de metionina por meio de transulfuração (Wu, 2013). Dietas deficientes em metionina resultam em piora no crescimento e na conversão alimentar, e podem causar catarata em alguns salmonídeos (Walton et al., 1982; Rumsey et al., 1983; Cowey et al., 1992). Por outro lado, o excesso de metionina na dieta pode ser tóxico para algumas espécies e, conseqüentemente, causar redução do crescimento e piora na conversão alimentar (Choo et al., 1991).

Os valores de exigências nutricionais dos aminoácidos sulfurados têm sido estimados para várias espécies de peixes, variando de 2,0 a 5,0% da proteína da dieta (NRC, 2011). As diferenças entre as estimativas de exigência destes aminoácidos podem ser pelas diferenças na composição da dieta basal, espécie, tamanho e idade do

peixe, as diferenças genéticas e ao manejo alimentar utilizado durante os experimentos (Mai et al., 2006). Dietas com níveis ótimos de metionina + cistina, além de melhorar os parâmetros de desempenho produtivo dos peixes, podem reduzir a quantidade de lipídeos corporal dos animais e aumentar a deposição de proteica (Nwanna et al., 2012), acarretando em maior crescimento muscular.

Nos peixes, a hiperplasia (aumento do número de células musculares) e a hipertrofia (aumento do volume das células musculares) são responsáveis pelo crescimento da musculatura, porém a contribuição de cada tipo de crescimento é dependente da espécie, da fase de crescimento e do tipo de músculo (Dal Pai et al., 2000; Aguiar et al., 2005). Os aminoácidos da dieta podem ser utilizados para deposição muscular, ou podem ser transaminados e utilizados no metabolismo energético (Newsholme et al., 2010). Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são transaminases importantes envolvidas no processo de catabolismo dos aminoácidos. Assim, a avaliação do crescimento muscular e da atividade das enzimas ALT e AST são ferramentas importantes em estudos de nutrição, pois possibilitam maior compreensão sobre a utilização metabólica dos aminoácidos.

Portanto, com o presente estudo, objetivou-se determinar a exigência de metionina + cistina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo em fase de terminação, por meio da avaliação do efeito de níveis crescentes de metionina + cistina na dieta sobre o desempenho produtivo, composição corporal, crescimento muscular e atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).

Material e métodos

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil (processo nº 18/2013).

Dietas experimentais

Seis dietas isoproteicas (310,0 g kg⁻¹ de proteína bruta) e isoenergéticas (19,76 MJ kg⁻¹ de energia bruta) foram formuladas contendo 3,94±0,24 g kg⁻¹ de cistina e seis níveis de DL-metionina cristalina - 99%, 0,00; 2,00; 4,00; 6,00; 8,00 e 10,00 g kg⁻¹, correspondendo a dietas com 6,71; 8,31; 11,31; 13,12; 15,59 e 19,74 g kg⁻¹ de metionina + cistina, respectivamente, com base na matéria seca. A formulação das

dietas experimentais, assim como a composição química e o perfil de aminoácidos (g kg^{-1} na matéria seca) são apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Para confecção das dietas, todos os macroingredientes foram moídos em moinhos do tipo martelo (TRF-400 Trapp, Jaraguá do Sul, SC, Brasil) com peneira com furos de 0,5 milímetros de diâmetro. Após a moagem, os macro e microingredientes foram pesados em balança de precisão (MB45 Toledo[®] 0,01 g, PR, Brasil) e misturados em misturador tipo V (Ma200 Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) por 15 min. As dietas foram processadas em extrusora (Ex-Micro[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil) com 3,0 mm de diâmetro. Após o processo de extrusão, as dietas foram secas em estufa de ventilação forçada (TE-394/3 Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), a 50°C.

Tabela 1

Tabela 2

Peixes e condições experimentais

Foram utilizadas 264 fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) na terminação, $6,10 \pm 0,11$ g, provenientes do setor de piscicultura da Universidade Federal de Viçosa e distribuídas em 24 aquários (70 L cada). Os aquários foram mantidos em sistema de recirculação de água, com filtro mecânico e biológico, aquecedor e termostato central, além de sistema de aeração constante. Cobertos com rede de *nylon* com malha de 2,0 mm de abertura, para evitar fuga dos peixes. A taxa de reposição de água no sistema foi de cerca de 5% ao dia e o fluxo de água dos aquários era de 2 a 3 L min^{-1} .

A temperatura da água foi mantida em $27,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ por meio de aquecedores e termostato. O teor de oxigênio dissolvido permaneceu em $6,5 \pm 1,0$ mg L^{-1} , o pH em $6,5 \pm 0,3$ e a amônia em $0,00 \pm 0,02$ mg L^{-1} , durante todo o período experimental. Foi realizada aeração suplementar por meio de soprador central (CR-20 Ibram, São Paulo, SP, Brasil). Os parâmetros de qualidade da água foram aferidos semanalmente, apenas a temperatura foi aferida diariamente. O laboratório foi mantido em fotoperíodo de 12 h, controlado por um timer analógico. Os peixes foram alimentados seis vezes ao dia (8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h e 18 h), até a saciedade aparente, por um período de 95 dias.

Desempenho produtivo

No final do período experimental, após 24h de jejum, todos os peixes de cada unidade experimental foram anestesiados (20 mg L⁻¹ de eugenol) contados e pesados em balança de precisão (0,01 g), para avaliação da sobrevivência, ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica. Após a pesagem, os peixes de cada unidade experimental foram insensibilizados com superdosagem de eugenol (300 mg L⁻¹), para determinação do rendimento de carcaça, índice viscerossomático, índice gonadossomático e índice hepatossomático. O índice viscerossomático incluiu o peso do estômago, intestino, cecos pilóricos, gônadas, coração, fígado, vesícula e bexiga natatória. Também foi determinada a eficiência de retenção de proteína, utilizando os valores de proteína bruta dos animais.

Crescimento muscular

Para a avaliação do crescimento muscular foram utilizados oito peixes de cada tratamento, dois por unidade experimental. Após insensibilização com superdosagem de eugenol, foi retirada uma amostra em formato retangular do músculo branco dorsal, acima da linha lateral. Essas amostras foram fixadas em formol tamponado 10% por 24 h, em temperatura ambiente, e transferidos para álcool 70%. Posteriormente, os músculos foram desidratados em séries crescentes de álcool etílico e incluídos em glicol metacrilato (Historesin[®], Leica, São Pulo, SP, Brasil). Foram realizados cortes transversais semisseriados, de 3 µm de espessura, obtidos com o auxílio de micrótomo com navalhas de vidro. Os cortes foram montados em lâminas de vidro e processados para a coloração azul de toluidina. As lâminas histológicas foram fotodocumentadas em fotomicroscópio (Olympus[®] BX53, São Paulo, SP, Brasil) com câmera acoplada (Olympus[®] DP73, São Paulo, SP, Brasil). As fibras foram analisadas pelo pacote de análise de imagens ImagePro-Plus[®], onde foi determinado o menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal, as quais foram agrupadas em classes de diâmetros (<20 µm, 20-50 µm e >50 µm) (Almeida et al., 2008). A frequência das fibras dentro de cada classe foi determinada em relação ao número total de fibras. Essas análises foram realizadas no laboratório de Biologia Celular e Estrutural do departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Atividade enzimática

Um pool de amostras de sangue por unidade experimental foi recolhido por meio do corte da nadadeira caudal, com auxílio de uma seringa heparinizada, 1,0 mL de soro foi separado por centrifugação (10000 rpm por 10 min a 4°C) e armazenado a -80°C para posterior análise da atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). A determinação da atividade das enzimas foi realizada utilizando kits comerciais Bioclin[®] (Quibasa- Química Básica, Belo Horizonte, MG, Brasil), em analisador automático de bioquímica (Alizè, Lisabio, França), seguindo as especificações do fabricante. Todas as análises foram feitas em duplicatas. Análises realizadas no departamento de Bioquímica, setor de enzimologia, da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Composição corporal

Todos os peixes foram liofilizados (Labconco, Kansas City, MO, EUA) com cabeça, escamas e conteúdo visceral. Após a liofilização foi determinado o teor de umidade das amostras (peso antes da liofilização – peso após liofilização), os animais liofilizados foram moídos em moinho do tipo faca. Posteriormente, foi determinada a proteína bruta pelo método semimicro Kjeldahl (Quimis, Diadema, SP, Brasil), lipídeos totais (extrator Soxtherm 2000 Gerhardt, New Orleans, EUA) e matéria mineral (calcinação das amostras a 550°C por 6 h), seguindo o preconizado pela AOAC (1995). A energia bruta dos peixes foi obtida em bomba calorimétrica. As análises de composição corporal foram realizadas em triplicatas.

Delineamento experimental e análise estatística

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos a análises de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade. Para a determinação da exigência de metionina foi aplicado o modelo de regressão polinomial ou o modelo linear response plateau (LRP). O modelo que apresentou o maior coeficiente de determinação (r^2) foi escolhido como o modelo de melhor ajuste. Todas as análises foram efetuadas por meio do programa computacional SAS 9.1.3.

Resultados

Desempenho produtivo

Os níveis crescentes de metionina + cistina influenciaram o ganho de peso e a taxa de crescimento específico dos peixes ($P < 0,05$). Ambos os parâmetros aumentaram com o aumento dos aminoácidos sulfura dos dietéticos de 6,71 para 13,12 g kg⁻¹, porém quando o aumento passou de 13,12 para 19,74 g kg⁻¹, estes parâmetros reduziram (Tabela 3). Utilizando regressão polinomial quadrática, entre os níveis de metionina + cistina das dietas e o ganho de peso dos animais, a exigência em metionina foi estimada em 13,66 g kg⁻¹, valor correspondente a 4,40% da proteína da dieta (Figura 1). Pelo mesmo modelo, a exigência em metionina com base na taxa de crescimento específico foi estimada em 13,52 g kg⁻¹, valor correspondente a 4,36% da proteína da dieta (Figura 2). O modelo LRP não se ajustou aos dados.

Os valores da taxa de eficiência proteica (Tabela 3) também demonstraram resultado significativo ($P < 0,05$). A exigência de metionina + cistina com base na taxa de eficiência proteica foi estimada em 13,17 g kg⁻¹, valor correspondente a 4,25% da proteína da dieta ($y = -0,0053x^2 + 0,1396x + 0,1259$; $r^2 = 0,65$).

Considerando o consumo de metionina + cistina pelos peixes, o valor de 0,11 g de metionina por animal foi a quantidade necessária para que as fêmeas de lambari-dorabo-amarelo atingissem o máximo ganho de peso ($y = -154,43x^2 + 35,094x + 0,5854$; $r^2 = 0,48$) e a maior taxa de crescimento específico ($y = -20,862x^2 + 4,6379x - 0,1065$; $r^2 = 0,55$).

O consumo de dietas com níveis crescentes de metionina + cistina não influenciou ($P > 0,05$) os demais parâmetros de desempenho, sobrevivência, conversão alimentar e rendimento de carcaça, assim como os índices viscerossomático, gonadossomático e hepatossomático e a eficiência de retenção de proteína (Tabela 3). Também não foram observados sinais de doenças ou anomalias nos peixes durante o experimento.

Tabela 3

Figura 1

Figura 2

Composição corporal

O consumo de dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina não influenciou ($P>0,05$) a composição corporal de umidade, proteína bruta, lipídeos totais, matéria mineral e energia bruta de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na terminação (Tabela 4).

Tabela 4

Atividade enzimática

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre as atividades das enzimas ALT e AST no soro sanguíneo de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na terminação, alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina (Tabela 5).

Tabela 5

Crescimento muscular

Os peixes apresentaram fibras nas três classes de diâmetros estabelecidas (Figura 3). Os níveis de metionina + cistina dietética não influenciaram ($P>0,05$) a frequência de fibras musculares em nenhuma das três classes de diâmetros estabelecidas (<20 ; entre 20 e 50 e $>50 \mu\text{m}$) (Tabela 6).

Figura 3

Tabela 6

Discussão

No presente estudo, peixes alimentados com dietas deficientes ou com excesso de metionina apresentaram menor ganho de peso, taxa de crescimento específica e taxa de eficiência proteica, o que indica que o balanceamento da metionina nas dietas é essencial para o desenvolvimento de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo em fase de terminação. Determinar a exigência dietética dos aminoácidos sulfurados é importante, pois a maioria dos compostos do corpo animal que contém enxofre são derivados de

metionina e cistina (Ruchimat et al., 1997). Experimentos de dose-resposta, com o fornecimento de dietas contendo níveis crescentes de aminoácidos são bem aceitos para determinar as exigências nutricionais de peixes (Cowey, 1995). Assim, pela análise de regressão polinomial quadrática, a exigência em metionina + cistina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo em terminação foi estimada em 13,66 g kg⁻¹ (4,40% da proteína da dieta) quando os resultados de ganho de peso foram utilizados e em 13,52 g kg⁻¹ (4,36% da proteína da dieta), quando a taxa de crescimento específica foi considerada. A exigência média de metionina foi de 9,87 g kg⁻¹. Esses valores foram superiores à exigência de metionina + cistina determinada para alevinos e adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de 10,00 g kg⁻¹ (3,57% da proteína da dieta) e 9,90 g kg⁻¹ (3,77% da proteína da dieta), respectivamente (Furuya et al., 2004; Michelato et al., 2013). Os autores estimaram a exigência de 5,40 g kg⁻¹ e 5,70 g kg⁻¹ de metionina, respectivamente, valores também inferiores ao estimado no presente estudo. Em juvenis de bijupirá (*Rachycentron canadum*), a exigência em metionina + cistina foi estimada em 20,40 g kg⁻¹ (4,53% da proteína da dieta), valor superior ao estimado no presente estudo, porém os autores utilizaram maior nível de cistina, 8,5 g kg⁻¹ (Zhou et al., 2006). Do mesmo modo, para alevinos de carpa indiana (*Cirrhinus mrigala*) alimentados com dietas contendo 8,5 g kg⁻¹ de cistina, a exigência de metionina + cistina foi estimada entre 24,50 e 25,40 g kg⁻¹ (6,28 e 6,34% da proteína da dieta), valores superiores aos estimados para o lambari-do-rabo-amarelo (Khan & Abidi, 2013).

Para as diversas espécies de peixes, as exigências nutricionais dos aminoácidos sulfurados foram estimadas entre 2,0 e 5,0% da proteína da dieta (NRC, 2011). Existem vários fatores que podem influenciar as exigências de aminoácidos em peixes, como a espécie, a fase de vida, as condições experimentais e a composição, palatabilidade e digestibilidade das dietas (Rodehutscord et al., 1997; Forster & Ogata, 1998). Porém, na determinação da exigência em metionina, o nível de cistina nas dietas é um fator importante a ser considerado, uma vez que parte da metionina ingerida pode ser convertida em cistina quando necessário. Assim, em dieta com maior concentração de cistina, a exigência dietética de metionina pode ser inferior, quando comparado com peixes que recebem dietas com baixas concentrações de cistina (Mai et al., 2006). Esse efeito poupador de metionina decorrente do conteúdo de cistina nas dietas para lambari-do-rabo-amarelo ainda não foi avaliado, sendo necessário mais estudos. Porém, estudos com juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) demonstraram que a cistina foi capaz de substituir 42% da metionina (Kim et al., 1992), enquanto que em juvenis de

perca amarela (*Perca flavescens*) (Twibell et al., 2000) e em juvenis de corvinão-de-pintas (*Sciaenops ocellatus*) (Goff & Gatlin, 2004) a cistina foi capaz de poupar 50% da metionina.

Os peixes que receberam dietas contendo os menores (6,71 e 8,31 g kg⁻¹) e o maior (19,74 g kg⁻¹) nível de metionina + cistina apresentaram menor taxa de eficiência proteica, demonstrando que as dietas não continham os aminoácidos sulfurados em proporção satisfatória para adequada utilização da proteína. Por outro lado, dietas contendo níveis mais adequados de metionina + cistina, proporcionaram melhor balanceamento de aminoácidos, refletindo em melhor utilização da proteína, demonstrado pela maior taxa de eficiência proteica. Resultado similar foi obtido em alevinos de carpa indiana (*Catla catla*), que apresentaram melhor utilização da proteína quando alimentadas com dietas contendo 12,80 g kg⁻¹ de metionina + cistina (3,57% da proteína da dieta) (Zehra & Khan, 2014). No presente estudo, o nível de metionina + cistina para maior taxa de eficiência proteica dos peixes, foi estimado em 13,17 g kg⁻¹ (4,25% da proteína da dieta).

O excesso de aminoácidos sulfurados pode ser tóxico para algumas espécies de peixes (Zhou et al., 2006). Para o lambari-do-rabo-amarelo, redução no desempenho produtivo foi observada quando as fêmeas receberam dietas contendo mais de 15,59 g kg⁻¹ de metionina + cistina, porém não foram observados sinais visuais de toxicidade nos peixes. Alevinos de carpa indiana também apresentaram redução no desempenho quando foram alimentados com dietas contendo mais de 20,00 g kg⁻¹ de metionina + cistina (Ahmed et al., 2003). O mesmo efeito foi observado em juvenis de bijupirá alimentados com mais de 19,70 g kg⁻¹ de metionina + cistina (Zhou et al., 2006) e em curvina amarela (*Pseudosciaena crocea*) alimentada com dieta com mais de 16,90 g kg⁻¹ de metionina + cistina (Mai et al., 2006), sendo que os peixes apresentaram piora nos parâmetros de desempenho produtivo sem apresentar sinais de toxicidade. A metionina em excesso é oxidada, levando a formação de cetonas e outros metabólitos que podem prejudicar o desempenho dos peixes (Murthy & Varghese, 1998). Além disso, o consumo em excesso de metionina pode afetar a absorção de outros aminoácidos (Ingham & Arme, 1977). Como os aminoácidos cristalinos não passam por processos de digestão, eles são absorvidos mais rapidamente que os aminoácidos ligados à proteína (Ronnestad et al., 2000), o que leva a alteração no padrão dos aminoácidos que entram no sistema circulatório e, conseqüentemente, reduz a eficiência da síntese de proteínas (Zarate & Lovell, 1997; Ambardekar & Reigh, 2007).

Em vários estudos é possível observar que a metionina está relacionada com a redução no conteúdo de gordura corporal (Luo et al., 2005; Nwanna et al., 2012; Khan & Abidi, 2013; Michelato et al., 2013). A metionina atua como agente lipotrófico por atuar como doadora de grupo metil, envolvido na síntese de lecitina, molécula que atua no transporte de lipídeos pelo corpo (Chattopadhyay et al., 2006). Além disso, a metionina é precursora na síntese de carnitina, molécula diretamente envolvida no catabolismo de ácidos graxos (Walton et al., 1984), e taurina, aminoácido envolvido diretamente na síntese de sais biliares (Espe et al., 2008). Porém, no presente trabalho, não foram verificadas alterações na composição corporal das fêmeas de lambari-dorabo-amarelo, alimentadas com os diferentes níveis de metionina + cistina, concordando com estudos realizados com outras espécies, também alimentadas com diferentes níveis de metionina + cistina (Li & Robinson, 1998; Zhou et al., 2006; Mai et al., 2006).

Diversos autores quantificaram a atividade enzimática de ALT e AST para avaliar o metabolismo proteico e o efeito poupador de proteína e concordaram que a avaliação da atividade dessas transaminases é um indicador confiável para tais estudos (Enes et al., 2006; Kumar et al., 2009; Kumar et al., 2010). Fígado, músculo e sangue são os locais onde normalmente é mensurada a atividade destas enzimas. No presente estudo, apesar do maior acúmulo de gordura corporal em fêmeas aptas para reprodução, não foram observados efeitos dos níveis de metionina sobre as atividades das enzimas AST e ALT no soro sanguíneo. Aumentos das atividades de ALT e AST foram observados no fígado e músculo de tilápias do Nilo, como também aumento da ALT sanguínea, quando o nível de proteína digestível da dieta passou de 25 para 45%, o que pode ser reflexo da maior utilização de aminoácidos para suprir demandas energéticas (Abdel-Tawwab et al., 2010). Estudos relatam que as atividades dessas enzimas podem aumentar ou se manter constante quando alterado teor de proteína da dieta (Cowey et al., 1974; Jürss, 1981).

Foi observada predominância de fibras musculares com diâmetro maior que 50 µm, indicando que o crescimento por hipertrofia foi superior ao crescimento por hiperplasia. Nos peixes, a hiperplasia e a hipertrofia são responsáveis pelo crescimento da musculatura estriada esquelética, porém essa contribuição é dependente da espécie, da fase de crescimento e do tipo de músculo (Dal Pai et al., 2000; Aguiar et al., 2005). A maioria das espécies de peixes apresenta crescimento muscular indeterminado, e o aumento no tamanho e no número de fibras pode continuar durante toda a vida do animal (Mommsen, 1998). No entanto, em algumas espécies de pequeno porte, como o

peixe-zebra (*Danio rerio*), o crescimento muscular é determinado e o aumento da massa muscular ocorre principalmente por hipertrofia (Biga & Goetz, 2006).

Foi observada a presença de fibras com diâmetros inferiores a 20 μm em todos os peixes, porém em proporção muito inferior às fibras maiores. Assim, é possível inferir que o lambari-do-rabo-amarelo apresenta crescimento determinado, pois a presença de fibras com diâmetros maiores que 50 μm está relacionada com hipertrofia das fibras (Rowlerson & Veggetti, 2001). Porém, o crescimento observado nas fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo, que receberam os níveis ótimos de metionina + cistina, não foi suficiente para refletir em diferenças nas frequências das classes de diâmetros das fibras musculares. Neste experimento, como foram utilizadas fêmeas adultas, grande parte da energia consumida pelos peixes foi utilizada para o desenvolvimento das gônadas do animal, resultando em baixa taxa de crescimento e alto índice gonadossomático. Em salmonídeos, durante a maturação sexual, ocorre atrofia muscular e decréscimo na taxa de crescimento pelo aumento da energia necessária para o crescimento das gônadas e produção de ovos (Aksnes et al., 1986; Tveiten et al., 1998).

O presente trabalho mostra evidências de que o fornecimento de dietas contendo DL-metionina é eficaz para melhorar os parâmetros de desempenho produtivo em fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na terminação, uma vez que a adequada suplementação deste aminoácido resultou em maior crescimento e melhor utilização da proteína da dieta. Determinar a exigência dos aminoácidos essenciais é fundamental para a formulação de dietas balanceadas, que possibilitem ao animal expressar seu máximo potencial genético. Concluiu-se, com base na regressão polinomial quadrática e na taxa de crescimento específica, que a exigência dietética de metionina + cistina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo na terminação é de 13,52 g kg^{-1} (4,36% da proteína da dieta). Com base no mesmo parâmetro e na mesma análise, a exigência de metionina para fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo foi estimada em 9,86 g kg^{-1} (3,17% da proteína da dieta).

Referências

Abdel-Tawwab M, Ahmad MH, Khattab YA, Shalaby AM (2010) Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, **298**, 267-274.

- Aguiar D, Barros M, Padovani C, Pezzato L, Pai-Silva D (2005) Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*, **67**, 1287-1298.
- Ahmed I, Khan MA, Jafri A (2003) Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture international*, **11**, 449-462.
- Aksnes A, Gjerde B, Roald SO (1986) Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, **53**, 7-20.
- Almeida FLA, Carvalho RF, Pinhal D, Padovani CR, Martins C, Dal Pai-Silva M (2008) Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. *Micron*, **39** 1306-1311.
- Ambardekar AA, Reigh RC (2007) Sources and utilization of amino acids in channel catfish diets: a review. *North American Journal of Aquaculture*, **69**, 174-179.
- Bennemann ST, Gealh AM, Orsi ML, Souza Ld (2005) Ocorrência e ecologia trófica de quatro espécies de *Astyanax* (Characidae) em diferentes rios da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, **95**, 247-254.
- Biga PR, Goetz FW (2006) Zebrafish and giant danio as models for muscle growth: determinate vs. indeterminate growth as determined by morphometric analysis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **291**, 1327-1337.
- Chattopadhyay K, Mondal M, Roy B (2006) Comparative efficacy of DL-methionine and herbal methionine on performance of broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*, **5**, 1034-1039.
- Choo P, Smith TK, Cho CY, Ferguson HW (1991) Dietary Excesses of Leucine Influence Growth and Body Composition of Rainbow Trout. *Journal of Nutrition*, **121**, 1932-1939.
- Cowey C, Brown D, Adron J, Shanks A (1974) Studies on the nutrition of marine flatfish. The effect of dietary protein content on certain cell components and enzymes in the liver of *Pleuronectes platessa*. *Marine Biology*, **28**, 207-213.
- Cowey CB (1995) Protein and amino acid requirements: a critique of methods. *Journal of Applied Ichthyology*, **11**, 199-204.
- Cowey CB, Cho CY, Sivak JG, Weerheim JA, Stuart DD (1992) Methionine intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), relationship to cataract formation and the metabolism of methionine. *The Journal of Nutrition*, **122**, 1154-1163.
- Dabrowski K, Poczyczynski P, Köck G, Berger B (1989) Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New in vivo test for exocrine pancreatic secretion. *Aquaculture*, **77**, 29-49.
- Dal Pai V, Pai-Silva D, Carvalho E, Fujihara C, Gregório E, Curi P (2000) Morphological, histochemical and morphometric study of the myotomal muscle tissue of the pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, **29**, 283-289.
- Enes P, Panserat S, Kaushik S, Oliva-Teles A (2006) Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **143**, 89-96.
- Espe M, Hevrøy EM, Liaset B, Lemme A, El-Mowafi A (2008) Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, **274**, 132-141.

- Ferreira PdMF, Nascimento LdS, Dias DC, Moreira DMdV, Salaro AL, Freitas Dd, Bontempo M, Carneiro APS, Zuanon JAS (2014) Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **45**, 28-34.
- Forster I, Ogata HY (1998) Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, **161**, 131-142.
- Furuya WM, Silva LCR, Neves PR, Botaro D, Hayashi C, Sakaguti ES, Furuya VRB (2004) Exigência de metionina+ cistina para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, **34**, 1933-1937.
- Goff JB, Gatlin DM (2004) Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. *Aquaculture*, **241**, 465-477.
- Gonçalves LU, Parisi G, Bonelli A, Sussel FR, Viegas EMM (2014) The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*)(Garutti & Britski, 2000) broodstock. *Aquaculture Research*, **45**, 195-203.
- Hayashi C, Meurer F, Boscolo WR, Lacerda C, Kavata L (2004) Frequência de arraçoamento para alevinos de lambari do rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **33**, 21-26.
- Ingham L, Arme C (1977) Intestinal absorption of amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Journal of Comparative Physiology*, **117**, 323-334.
- Jürss K (1981) Influence of temperature and ratio of lipid to protein in diets on aminotransferase activity in the liver and white muscle of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **68**, 527-533.
- Khan MA, Abidi SF (2013) Dietary methionine requirement of Indian major carp fry, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) based on growth, feed conversion and nitrogen retention efficiency. *Aquaculture Research*, **44**, 268-281.
- Kim KI, Kayes TB, Amundson CH (1992) Requirements for sulfur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **101**, 95-103.
- Kumar S, Sahu N, Pal A, Sagar V, Sinha AK, Baruah K (2009) Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous α -amylase in the diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, **35**, 301-315.
- Kumar V, Sahu N, Pal A, Kumar S, Sinha AK, Ranjan J, Baruah K (2010) Modulation of key enzymes of glycolysis, gluconeogenesis, amino acid catabolism, and TCA cycle of the tropical freshwater fish *Labeo rohita* fed gelatinized and non-gelatinized starch diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, **36**, 491-499.
- Li MH, Robinson EH (1998) Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **163**, 297-307.
- Lovell R (1998) *Nutrition and feeding of fish*, Massachusetts: Kluwer Academic Publishers.
- Luo Z, Liu Y-j, Mai K-s, Tian L-x, Yang H-j, Tan X-y, Liu D-h (2005) Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. *Aquaculture*, **249**, 409-418.

- Mai K, Wan J, Ai Q, Xu W, Liufu Z, Zhang L, Zhang C, Li H (2006) Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture*, **253**, 564-572.
- Michelato M, Furuya WM, Graciano TS, Vidal LVO, Xavier TO, Moura LBd, Furuya VRB (2013) Digestible methionine+ cystine requirement for Nile tilapia from 550 to 700 g. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **42**, 7-12.
- Mommsen TP (1998) Growth and Metabolism. In: *The physiology of fishes* (ed by Raton B), pp. 65.
- Murthy H, Varghese T (1998) Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition*, **4**, 61-66.
- NRC (2011) National Research Council - Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Nwanna L, Lemme A, Metwally A, Schwarz F (2012) Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to supplemental DL-methionine and different feeding strategies. *Aquaculture*, **356**, 365-370.
- Newsholme P, Abdulkader F, Rebelato E, Romanatto T, Pinheiro C, Vitzel KF, Silva EP, Bazotte RB, Procopio J, Curi R (2010) Amino acids and diabetes: implications for endocrine, metabolic and immune function. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, **16**, 315-339.
- Porto-Foresti F, Castilho-Almeida RB, Senhorini JA, Foresti F (2010) Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (ed. by Baldisserotto B, Gomes LC). edioraufsm, Santa Maria, RS, BRASIL, pp. 101-115.
- Rodehutsord M, Becker A, Pack M, Pfeffer E (1997) Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to supplements of individual essential amino acids in a semipurified diet, including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids. *The Journal of Nutrition*, **127**, 1166-1175.
- Rønnestad I, Conceição LE, Aragão C, Dinis MT (2000) Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *The Journal of nutrition*, **130**, 2809-2812.
- Rowlerson A, Veggetti A (2001) Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: *Fish physiology* (ed by Johnston IA). Academic Press, London, UK, pp. 103-140.
- Ruchimat T, Masumoto T, Hosokawa H, Shimeno S (1997) Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, **150**, 113-122.
- Rumsey GL, Page JW, Scott ML (1983) Methionine and cystine requirements of rainbow trout. *The Progressive Fish-Culturist*, **45**, 139-143.
- Tveiten H, Mayer I, Johnsen H, Jobling M (1998) Sex steroids, growth and condition of Arctic charr broodstock during an annual cycle. *Journal of Fish Biology*, **53**, 714-727.
- Twibell RG, Wilson KA, Brown PB (2000) Dietary sulfur amino acid requirement of juvenile yellow perch fed the maximum cystine replacement value for methionine. *The Journal of Nutrition*, **130**, 612-616.
- Vilella FS, Becker FG, Hartz SM (2002) Diet of *Astyanax* species (Teleostei, Characidae) in an Atlantic forest river in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **45**, 223-232.
- Walton M, Cowey C, Adron J (1984) The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*, **52**, 115-122.

- Walton MJ, Cowey CB, Adron JW (1982) Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content. *The Journal of Nutrition*, **112**, 1525-1535.
- Wilson RP (2002) Amino acids and proteins. In: *Fish nutrition* (ed. by Halver JE, Hardy RW), Amsterdam, AM, The Netherlands.
- Wu G (2013) *Amino acids: biochemistry and nutrition*, CRC Press.
- Zarate DD, Lovell RT (1997) Free lysine (L-lysine· HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **159**, 87-100.
- Zehra S, Khan MA (2014) Total sulphur amino acid requirement and maximumcysteine replacement value for methionine forfingerling *Catla catla* (Hamilton). *Aquaculture Research*, 1-14.
- Zhou Q-C, Wu Z-H, Tan B-P, Chi S-Y, Yang Q-H (2006) Optimal dietary methionine requirement for Juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, **258**, 551-557.

Tabela 1 - Formulação das dietas experimentais

Ingredientes	Níveis de metionina + cistina (g kg ⁻¹)					
	6,71	8,31	11,31	13,12	15,59	19,74
Fubá de milho	548,00	548,00	548,00	548,00	548,00	548,00
Concentrado proteico de soja ¹	331,00	331,00	331,00	331,00	331,00	331,00
Óleo de soja	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Fosfato bicálcico	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
L-lisina ²	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
L-treonina ²	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
L-alanina ²	28,00	26,00	24,00	22,00	20,00	18,00
DL-metionina ²	0,00	2,00	4,00	6,00	8,00	10,00
Vitamina C ³	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Sal comum	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Supl. min. e vit. ⁴	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
BHT ⁵	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico ⁶	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

¹Concentrado proteico de soja, 60% proteína bruta (Selecta, Goiânia, GO, Brasil).

²L-lisina, L-treonina, L-alanina Ajinomoto, São Paulo, SP, Brasil); DL-metionina (MCassab, São Paulo, SP, Brasil).

³Vitamina C (Saint Charbel, Viçosa, MG, Brasil).

⁴Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI; Vit. D₃; 200.000UI; Vit. E, 12.000 mg; Vit. K₃, 2.400 mg; Vit. B₁, 4.800 mg; Vit. B₂, 4.800 mg; Vit. B₆, 4.000 mg; Vit. B₁₂, 4.800 mg; Ac. Fólico, 1.200 mg; Pantotenato Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; Biotina, 48 mg; Colina, 65.000 mg; Niacina, 24.000 mg; Ferro, 10.000 mg; Cobre, 6.000 mg; Manganês, 4.000 mg; Zinco, 6.000 mg; Iodo, 20 mg; Cobalto, 2 mg; Selênio, 20 mg.

⁵Butilhidroxi tolueno (antioxidante) (Isofar Ind., Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

⁶Antifúngico (MoldZapAquativa[®], - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Araucária, PR, Brasil). Composição: dipropionato de amônia, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico.

Tabela 2 - Composição química e de aminoácidos das dietas experimentais, base na matéria seca

Composição (g kg ⁻¹)	Nível de metionina + cistina (g kg ⁻¹)					
	6,71	8,31	11,31	13,12	15,59	19,74
Matéria seca ¹	941,10	928,40	933,70	932,80	911,90	932,30
Proteína bruta ¹	319,31	316,57	309,95	309,82	303,98	301,19
Extrato etéreo ¹	268,72	264,98	263,23	262,28	266,33	262,98
Cinzas ¹	65,96	65,27	65,96	65,37	65,82	65,27
Fibra bruta ¹	18,17	18,73	18,36	18,44	18,29	18,03
Energia bruta (MJkg ⁻¹) ¹	19,70	19,79	19,64	19,55	20,21	19,78
Aminoácidos essenciais ²						
Lisina	17,29	16,84	17,59	17,33	18,00	18,49
Metionina	3,61	4,76	7,42	9,05	11,54	15,49
Treonina	13,61	13,03	13,99	13,52	13,78	13,83
Triptofano	3,52	3,44	3,48	3,18	3,26	3,26
Arginina	18,70	17,80	19,17	17,97	18,88	19,23
Fenilalanina	14,63	14,20	14,87	14,19	14,62	14,85
Histidina	7,63	7,25	7,20	7,28	7,40	7,87
Isoleucina	12,08	11,82	12,31	11,85	12,11	12,43
Leucina	23,39	22,91	23,58	22,82	23,28	23,95
Valina	12,62	12,41	12,95	12,53	12,91	13,21
Aminoácidos não essenciais ²						
Alanina	41,11	38,44	38,35	35,15	34,63	33,10
Ácido aspártico	29,88	28,74	30,33	29,13	29,65	30,49
Ácido glutâmico	50,98	48,78	51,43	49,55	50,80	52,65
Cistina	3,10	3,55	3,89	4,07	4,05	4,25
Glicina	11,28	10,80	11,36	11,00	11,36	11,57
Serina	14,37	13,69	14,64	13,98	14,12	14,41
Tirosina	10,24	10,01	10,70	9,89	10,06	10,37

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

²Valores determinados no laboratório da Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., São Paulo, Brasil.

Tabela 3 - Desempenho produtivo de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina

Parâmetro	Nível de metionina + cistina (g kg ⁻¹)						Valor P
	6,71	8,31	11,31	13,12	15,59	19,74	
^a GP (g)	1,73±0,05	2,19±0,11	2,80±0,22	2,72±0,33	2,44±0,24	2,09±0,15	0,0062
^b TCE (%)	0,05±0,01	0,10±0,01	0,18±0,02	0,17±0,03	0,14±0,02	0,09±0,02	0,0023
^c CA (g/g)	3,68±0,08	3,68±0,19	3,02±0,43	3,21±0,23	3,26±0,08	3,78±0,69	0,1065
^d TEP (%)	0,85±0,02	0,86±0,04	1,09±0,12	1,01±0,07	1,01±0,03	0,81±0,10	0,0381
^e ERP (%)	27,60±1,17	24,66±1,27	30,70±1,15	29,32±3,49	29,72±3,68	28,52±4,62	0,3298
^f RC (%)	71,99±2,97	71,67±1,56	70,38±1,31	71,46±0,64	71,83±1,16	71,84±2,17	0,7929
^g IVS (%)	22,05±2,57	21,08±0,90	22,45±1,78	21,20±0,49	21,05±0,40	20,74±1,87	0,6168
^h IGS (%)	17,90±2,05	16,74±0,97	17,61±1,60	16,93±0,65	17,09±0,42	16,74±2,13	0,6667
ⁱ IHS (%)	0,76±0,24	0,82±0,05	0,81±0,15	0,98±0,29	0,78±0,19	0,77±0,12	0,8511
^j SO (%)	69,70±22,88	75,76±5,25	87,88±5,25	72,73±15,74	75,76±10,50	93,94±5,25	0,2150

Diferença significativa entre os níveis de lisina foram determinadas pela análise de variância (Anova) seguida pela análise de regressão.

^aGP (Ganho de peso) = Biomassa média final – Biomassa média inicial

^bTCE (Taxa de crescimento específico) = (ln Peso final – ln Peso inicial)/dias x 100

^cCA (Conversão alimentar) = Consumo total de ração/Ganho de peso total

^dTEP (Taxa de eficiência proteica) = Ganho de peso/proteína consumida

^eERP (Eficiência de retenção de proteína) = ((conteúdo final de proteína da carcaça x biomassa final) – (conteúdo inicial proteína da carcaça x biomassa inicial))/proteína consumida

^fRC (Rendimento de carcaça) = Peso peixe eviscerado/Peso peixe inteiro x 100

^gIVS (Índice viscerossomático) = Peso da víscera/Peso do animal inteiro x 100

^hIGS (Índice gonadossomático) = Peso da gônada/Peso animal inteiro x 100

ⁱIHS (Índice hepatossomático) = Peso do fígado/Peso do animal inteiro x 100

^jSO (Sobrevivência) = Número final de peixes/Número inicial de peixes x 100

Tabela 4 - Composição corporal (% da matéria natural) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina

Parâmetros	Nível de metionina + cistina (g kg ⁻¹)						Valor P
	6,71	8,31	11,31	13,12	15,59	19,74	
Umidade	66,55±0,82	66,98±0,96	66,69±0,67	66,61±0,82	67,81±1,11	66,70±0,39	0,7033
Proteína bruta	20,58±0,47	20,41±0,36	20,63±0,56	20,87±0,82	20,83±0,82	20,94±0,45	0,9306
Lípido total	11,87±0,54	12,26±0,83	12,37±0,51	12,12±1,24	10,91±0,92	12,33±0,45	0,2592
Matéria mineral	3,77±0,41	4,23±0,24	4,33±0,06	4,66±0,28	4,33±0,52	4,14±0,40	0,1353
Energia bruta(kcal kg ⁻¹)	1636,98±109,99	1698,91±66,46	1652,04±52,94	1628,30±57,64	1577,13±90,99	1673,39±25,84	0,2681

Diferença significativa entre os níveis de metionina foram determinadas pela análise de variância (Anova) seguida pela análise de regressão.

Tabela 5 - Atividade das enzimas AST e de ALT no soro ($U L^{-1}$) de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina

Parâmetros	Nível de metionina + cistina ($g kg^{-1}$)						Valor P
	6,71	8,31	11,31	13,12	15,59	19,74	
AST	337,00±99,35	404,00±49,57	417,00±60,61	417,00±37,69	443,00±56,05	417,00±47,92	0,1230
ALT	41,00±7,09	50,00±6,43	40,00±10,82	39,00±7,00	33,00±8,72	48,00±1,15	0,1545

AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase).

Tabela 6 - Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm) em fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina

Diâmetros	Nível de metionina + cistina (g kg ⁻¹)						Valor P
	6,71	8,31	11,31	13,12	15,59	19,74	
<20 µm	0,44±0,50	0,25±0,38	0,38±0,62	0,25±0,38	0,56±0,78	0,75±1,16	0,6961
20-50 µm	34,19±9,10	32,63±11,98	38,31±10,52	31,88±14,59	38,00±12,93	43,94±11,23	0,3407
>50 µm	65,38±9,19	67,13±12,29	61,31±10,98	67,88±14,51	61,44±13,37	55,31±11,68	0,3232

Frequência de distribuição das fibras musculares expressas em %.

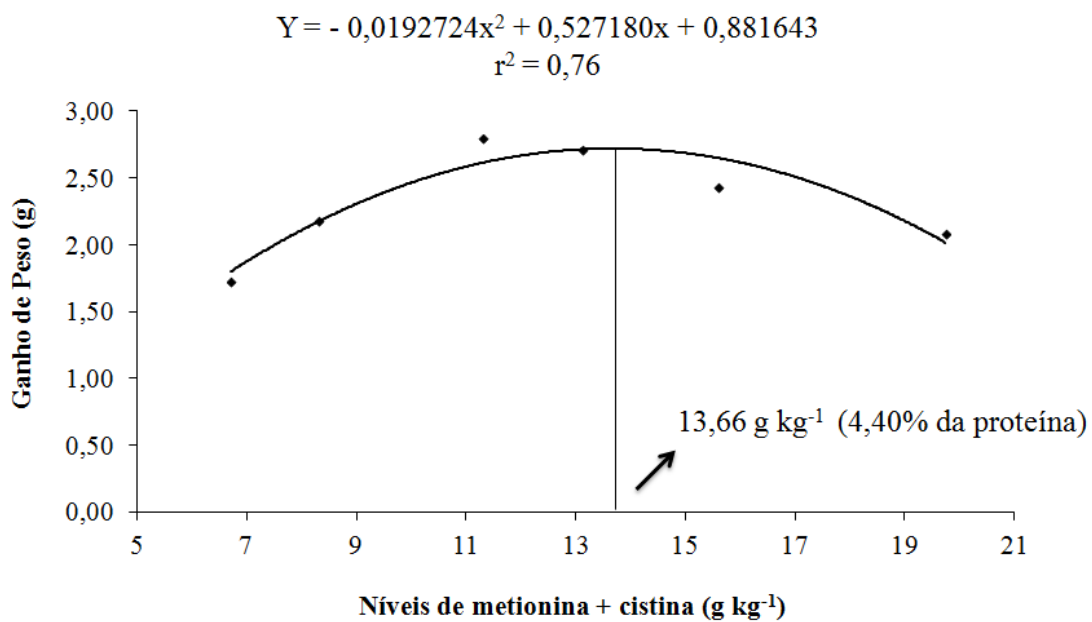


Figura 1 - Ganho de peso de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina.

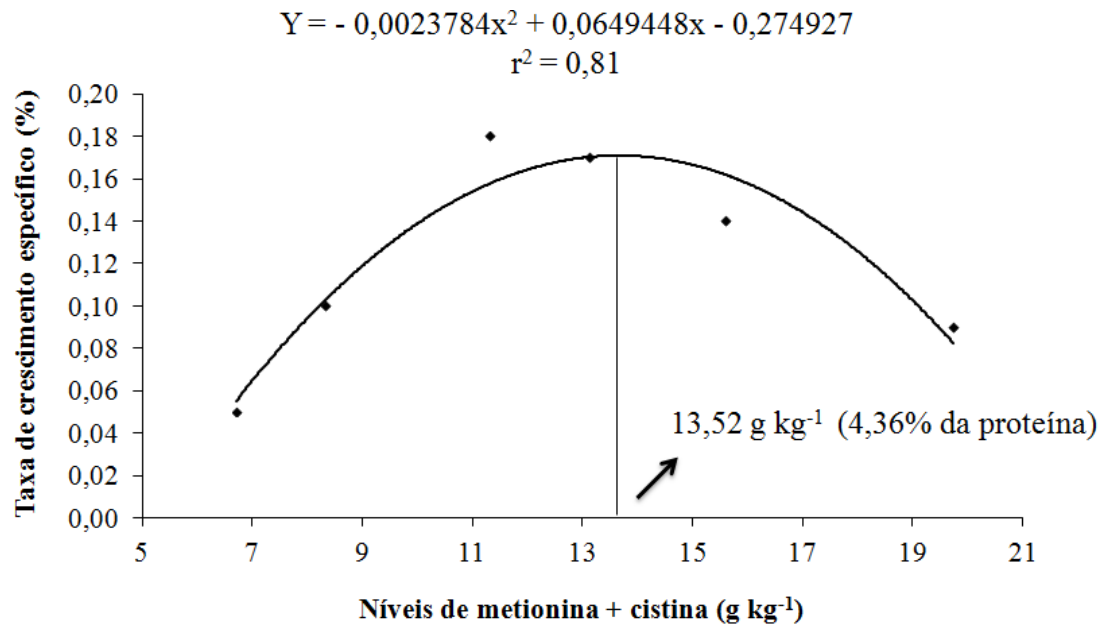


Figura 2 - Taxa de crescimento específico de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentadas com dietas contendo níveis de metionina + cistina.

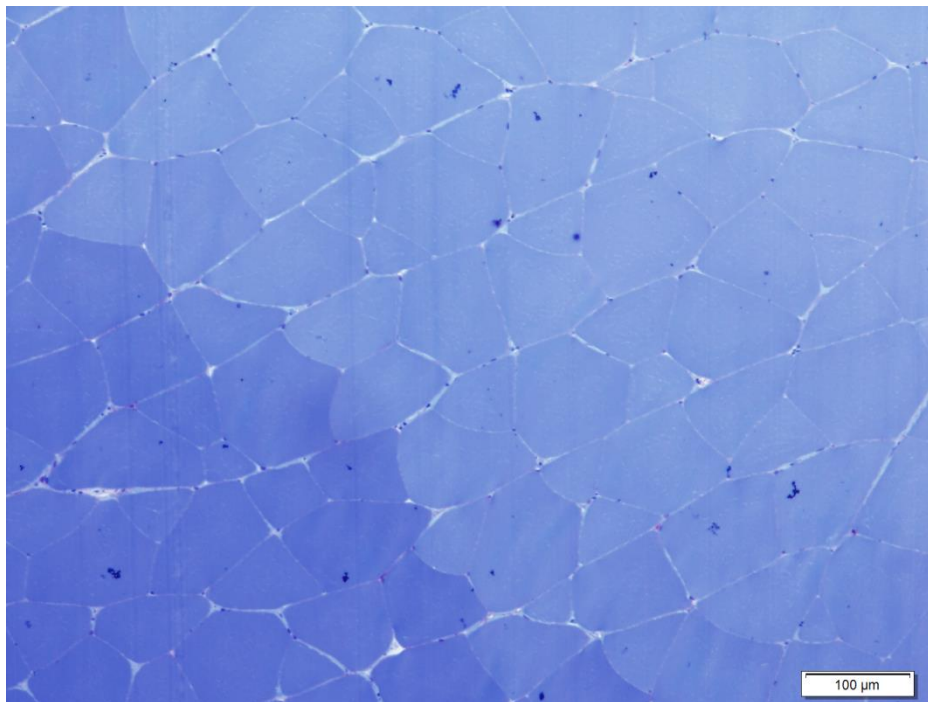


Figura 3 - Fotomicrografia representativa de corte transversal do músculo branco dorsal de fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentados com dieta basal, contendo $6,71 \text{ g kg}^{-1}$ de metionina + cistina. Azul de toluidina.

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, a produção de espécies nativas representa menos de 30% do total cultivado pela aquicultura. Porém, existe potencial para criação e comercialização de peixes nativos, pois existe grande demanda no mercado para estas espécies. Desta forma, pesquisas com espécies nativas são importantes para determinar o manejo adequado para as diferentes espécies e fases de criação.

A criação de lambaris é uma alternativa promissora para piscicultores de pequeno e grande porte. O aumento no consumo deste peixe no Brasil vem exigindo maior conhecimento das exigências nutricionais, para produção de rações que permitam ao animal expressar seu máximo potencial genético de crescimento, assim como produção de pescado que atenda às exigências do consumidor.

Tanto a lisina quanto a metionina são aminoácidos limitantes em vários ingredientes e que influenciam o crescimento dos peixes. O aumento nos parâmetros de desempenho produtivo dos peixes demonstra que esta espécie é capaz de utilizar aminoácidos cristalinos em sua dieta.

A avaliação do crescimento muscular e da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são ferramentas importantes em estudos de nutrição, pois possibilitam um entendimento sobre a utilização metabólica dos aminoácidos.

Informações sobre as exigências nutricionais dos lambaris, visando à formulação de dietas completas de baixo custo e menor impacto ambiental são importantes para o contínuo crescimento da piscicultura de peixes nativos no Brasil.

A tendência dos consumidores é buscar cada vez mais alimentos saudáveis. Nesse sentido, reduzir a concentração de lipídeos do corpo do animal é uma variável economicamente interessante e que deve ser considerada na formulação da dieta.