



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS

**EXIGÊNCIA DE LISINA PARA JUVENIS DE
TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818)
COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO,
MORFOHISTOLÓGICO E FISIOLÓGICO**

ARIANY RABELLO DA SILVA LIEBL

MANAUS - AM
2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS
TRÓPICOS – PPG CIPET**

ARIANY RABELLO DA SILVA LIEBL

**EXIGÊNCIA DE LISINA PARA JUVENIS DE TAMBAQUI
(*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818)
COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO,
MORFOHISTOLÓGICO E FISIOLÓGICO**



Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos - Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Pesqueiras nos Trópicos.

Área de Concentração: Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais

Linha de Pesquisa: Biologia e Diversidade de Recursos Pesqueiros

ORIENTADOR: Professor Doutor Adriano Teixeira de Oliveira

COORIENTADORES: Professor Doutor Wilson Massamitu Furuya

Doutora Márcia Regina Fragoso Machado Bussons

Doutoranda com bolsa de estudos CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

**MANAUS - AM
2019**

ARIANY RABELLO DA SILVA LIEBL

EXIGÊNCIA DE LISINA PARA JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818) COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO, MORFOHISTOLÓGICO E FISIOLÓGICO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, área de concentração em Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais.

Aprovada em 30 de setembro de 2019

BANCA EXAMINADORA



Dr. Adriano Teixeira de Oliveira - Presidente
Instituto Federal do Amazonas - IFAM



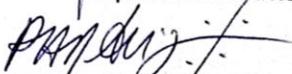
Dr^a Ana Cristina Belarmino de Oliveira - Membro
Universidade Federal do Amazonas - UFAM



Dr^a Alzira Miranda de Oliveira - Membro
Universidade Nilton Lins - UNL



Dr. Rogério Souza de Jesus - Membro
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA



Dr. Paulo Henrique Rocha Aride - Membro
Instituto Federal do Amazonas - IFAM

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

L716e Liebl, Ariany Rabello da Silva
Exigência de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) com base no desempenho produtivo, morfohistológico e fisiológico / Ariany Rabello da Silva Liebl. 2019
164 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Adriano Teixeira de Oliveira
Coorientador: Wilson Massamitu Furuya
Coorientador: Márcia Regina Fragoso Machado Bussons
Tese (Doutorado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Zootecnia. 2. Aquicultura. 3. Nutrição de peixes. 4.
Aminoácidos. 5. Hematologia. I. Oliveira, Adriano Teixeira de II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

DEDICATÓRIA

Ao Deus provedor, misericordioso,
e detentor do âmago da ciência.

Aos meus pais - Estelina Rabello da Silva e
José Antônio da Silva,
minha irmã – Ruth Rabello da Silva Rodrigues,
e meu esposo – Eduardo Liebl,

Pelo amor, paciência,
Por chorarem minhas lágrimas,
Por sorrirem com meus lábios,
e por acreditarem nos meus sonhos
até que eles se realizassem.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, por traçar planos tão lindos, bordados com amor e misericórdia, para minha vida errante, ínfima e necessitada da direção divina a todo momento; por ter me capacitado e me dado forças até aqui; por cuidar de todos os meus queridos e por ser sempre provedor nesta caminhada: Todo louvor e honra unicamente a ti. Obrigada meu Pai!

Aos meus pais, Estelina Rabello da Silva e José Antônio da Silva, por tanto amor, por uma vida inteira de planos abdicados só pra ver o meu sorriso, por apoiarem minhas decisões, pela ausência diária dos meus abraços mimados nos últimos anos, por entenderem meu silêncio e minha falação sem fim, por acreditarem mais em mim do que eu mesma, e pelas muitas orações: A vocês, meu eterno e mais sincero obrigada!

A minha irmã Ruth Rabello da Silva Rodrigues, que também é minha grande amiga, obrigada pelo carinho, pelo incentivo, orações, e pela parceria de uma vida toda.

Ao meu esposo Eduardo Liebl, pelo amor, pela amizade, pelo companheirismo, pela paciência, por adaptar sua vida a minha vindo para Manaus: Obrigada!

A toda família Rabello, que eu amo e me orgulho muito, obrigada pela herança da garra e dedicação, pelo incentivo, pelas tantas orações e pelo amor sempre.

Ao meu orientador Professor Doutor Adriano Oliveira Teixeira, que foi uma providência de Deus, obrigada por me aceitar e por conduzir tudo de uma forma tão leve, por não ter medo do novo, obrigada pela oportunidade de receber suas preciosas instruções, de aprender outros saberes, pela transmissão do seu amor pela ciência, por sempre se esforçar em prover todo necessário pra eu pudesse realizar as análises, pelo profissionalismo, pela presteza em me fazer sentir integrante da nova equipe e colega de trabalho. Obrigada pela liberdade, pela confiança e pela amizade: Muito obrigada!

Ao meu coorientador Professor Doutor Wilson Massamitu Furuya, pelo aceite e pela oportunidade única de receber preciosas orientações, por me proporcionar condições de trabalhar com a lisina, por providenciar todo necessário para confecção das dietas

(agradeço em meu nome e em nome dos tambaqui que se deliciaram com elas por meses – risos), pela disponibilidade e humildade em compartilhar saberes: Obrigada.

A minha coorientadora Doutora Marcia Regina Fragoso Machado Bussons, pelo aceite da orientação, pelo carinho, pelo acolhimento no laboratório, pela confiança no meu trabalho, pelas providencias para o desenvolvimento do trabalho, e por todo direcionamento: Muito obrigada.

As coordenadoras Professoras Doutoras Flávia Kelly S. Souza e Kedma Cristine Yamamoto, e a secretária do Programa de Pós – Graduação de Ciências Pesqueiras nos Trópicos – PPG CIPET, Antônia, pela dedicação e disponibilidade.

A todos os Professores do CIPET, Pela imensa contribuição na continuidade da minha formação. Peço licença para, através de vocês, agradecer também todos os meus ex-professores. Por tudo: Obrigada.

A todos dos tantos laboratórios que passei! E foram muitos!

Ao Professor Doutor Wallice Luiz Paxiúba Duncan, pela participação efetiva no trabalho, com horas de dedicação, dias de dedicação, abdicando até mesmo dos seus momentos de descanso para que as análises fossem concluídas. Obrigada pela paciência, pela amizade e principalmente por compartilhar seu rico saber e seu amor pelo aprendizado constante.

Ao Professor Doutor José Fernando Marques Barcellos e as técnicas do laboratório de Histologia Animal da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Maysa, e em especial, a Rose, por me salvarem com instruções técnicas, com reagentes e pelo carinho sempre.

Ao Professor Doutor Antônio José Inhamuns da Silva, Doutor Antônio Fábio Lopes de Souza, a Mestranda Paula Santos e a todos do laboratório de Tecnologia do Pescado - UFAM, por todo suporte nas análises bromatológicas, independente do dia da semana.

A Professora Doutora Ligia Uribe Gonçalves , Doutor Flávio Augusto Leão da Fonseca (Guto) e a Doutoranda Claudia Maiza Fernandes Epifânio, pelo empenho em colaborar, por disponibilizarem instrumentos, estrutura física e especialmente pelas orientações e condições para extrusão das dietas no laboratório de Aquicultura - INPA.

A Professora Doutora Marle Angelica Villacorta Correa, Doutora e amiga Joana Paula de S. Cornélio, e a graduanda de Engenharia de Pesca Sabrina Ishii, por serem tão disponíveis e por abrirem as portas do laboratório de Aquicultura da UFAM para mim e minhas pesadas caixas de lâminas.

A Professora Doutora Lucilene Paes, pelo carinho, amizade, por me receber no laboratório de Morfometria de Solos, plantas e animais do IFAM e pelo empenho em ajudar sempre!

Aos professores Doutores Spartaco Astolfi Filho, Adolfo José da Mota, e Doutora Enedina Nogueira de Assunção (Dina), pelas tantas vezes que os procurei pedindo suportes nos laboratórios da Biotecnologia da UFAM, e orientações para continuidade do trabalho, pela atenção e empenho em colaborar sempre.

Aos técnicos do laboratório de Biotecnologia - UFAM, em especial, ao Mestre Paulo Abraão Cavalcante Maranhão, meu muito obrigada pelo carinho, pela disposição em dedicar seu tempo para me ajudar com armazenamento no ultra freezer.

Aos coordenadores, funcionários e professores do Instituto Federal do Espírito Santo – IFES/ Campus Piúma, e ao professor Doutor Paulo Aride (IFAM/IFES), por me receber no IFES de Piúma e pelo orientação durante estágio doutoral nacional.

Aos técnicos do laboratório de química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas - IFAM, por serem solícitos e dispostos em colaborar com uso do espectrofotômetro.

A Estação de Piscicultura de Balbina - Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura - CTTA, por possibilitar que tivéssemos nossa matéria mais importante: Os juvenis de tambaqui (minhas crianças tão lindas)! Muito obrigada.

A Universidade Federal do Amazonas – UFAM, pelo acolhimento e pela infraestrutura.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM/ Campus Centro, e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – IFES/ Campus Piúma, pela estrutura física e pelo apoio de profissionais desejosos em colaborar: Obrigada.

Aos diretores, coordenadores, secretários e técnicos e funcionários em geral da Universidade Nilton Lins, por possibilitar todo trabalho de desempenho zootécnico disponibilizando a estrutura física necessária: Obrigada!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado, sendo amparo financeiro fundamental para estadia em Manaus durante todo período do curso.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM, pelo financiamento de projetos de pesquisas que tive a oportunidade de participar durante o doutorado.

A todos os amigos da equipe do IFAM, em especial, ao Mestre Maiko Ribeiro, e Biólogas Lucivânia Vale e Mônica França pela ajuda importante na coleta e análises hematológicas.

Aos amigos do laboratório de Morfologia Funcional - UFAM, Mestres (brevemente) Maria Glaucinei Fernandes Macedo (Glauci) e Raony Cesar Silva Belem, pela amizade, pelas conversas, ajuda e companhia durante minha temporada no laboratório.

A todos os amigos do GPAqua, pela dedicação intensa, ajuda nos arraçoamentos dos peixes, pelas risadas, pelos almoços, pelo carinho, pelo aprendizado em grupo. Foram muitos colaboradores que passaram pelo laboratório de Nutrição de Peixes no período da equipe GPAqua, dificultando a citação e aumentando o risco de não incluir algum nome. Agradeço a amiga Nathália Flor (Breve Doutora), aos Mestres e amigos Anny Cristina Veras Leite, Cesar Augusto A. Gonçalves, Iurych Bussons e Fábio Holden, aos técnicos (na época) Elcimar Souza (brevemente, Mestre) e Jéssica Silva, aos estagiários

de Iniciação científica (na época) Micélia dos Santos Ferreira, Cynthia de Matos Antony, Tatiana Pedrosa e Luan Ferreira de Oliveira e a amiga Doutora Patrícia Monteiro pela participação na coleta: Meu muito obrigada.

Ao amigo Doutor Marcelo dos Santos Nascimento, pela excelente parceria. Obrigada pelas milhares de dúvidas e respostas compartilhadas, por dividir comigo o mesmo carinho pelos tambaqui, pelas muitas conversas, desabafos, ‘agonias’, cansaço, alívios depois de apertos, alegrias, risos, esperança.: Por tudo Marcelo, obrigada.

A amiga Doutora Mirleide Araújo Cao (Brevemente), pela amizade longa, iniciada na época da graduação no Centro de Ciências Agrárias na UFES – Campus de Alegre, cuja parceria perdura e culminou na imensa contribuição com análises hematológicas: Obrigada amiga!

A amiga Doutora Jôsie Schwartz Caldas, cuja amizade começou na época da FURG – Universidade Federal do Rio Grande, e foi literalmente de Sul a Norte do Brasil. Grande motivadora da minha vinda pra Manaus. Com amor, me recebeu na nova vida aqui. Sempre ajudadora. Por tudo: Amiga, por tudo, obrigada.

As amigas (brevemente Doutora) Carolina Laurent e Doutora Kauana Cipriano (Extensivo ao amigo desde a graduação na UFES, Doutor Filipe Cipriano), e ao professor Doutor Carlos Edwar de Carvalho Freitas, pela imensa ajuda com a estatística no R.

As queridas Cecília Maracajá e Suzi, pelo carinho com me receberam em Manaus, pelas risadas, pelas boas conversas ao redor da mesa da cozinha.

Aos tantos amados que, perto ou longe (as vezes muito longe) lembraram de mim e oraram a Deus para que ele me instrísse em todas coisas e para que seu amor, perdão, misericórdia e bênçãos não me faltasse: Amados, Ele ouviu todas as orações!

A todos que contribuíram com esse trabalho e que por um lapso natural (jamais por ingratidão!) não inclui nominalmente nesses agradecimentos: Muito obrigada! “Um

bom jogador vence uma partida, mas uma boa equipe vence o campeonato.” Michael Jordan.

“Todos os seus sonhos podem se tornar realidade
se você tiver coragem para persegui-los.”

Walt Disney

“Não que eu já tenha obtido tudo isso
ou tenha sido aperfeiçoado,
mas prossigo para alcançá-lo,
pois para isso também
fui alcançado por Cristo Jesus.

Não penso que eu mesmo já o tenha alcançado,
mas uma coisa faço: esquecendo-me das coisas que
ficaram para trás e avançando para as que estão adiante,
prossigo para o Alvo.”

Filipenses 3:12-14

SUMÁRIO

ORGANIZAÇÃO GERAL DA TESE.....	18
RESUMO.....	19
ABSTRACT.....	21
INTRODUÇÃO GERAL.....	23
HIPÓTESES.....	26
OBJETIVOS.....	27
Objetivo geral.....	27
Objetivos específicos.....	27
REFERÊNCIAS.....	29
Artigo I: EXIGÊNCIA E SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EXÓGENOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES.....	34
RESUMO.....	36
ABSTRACT.....	37
1. INTRODUÇÃO.....	38
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.1 Digestão, absorção, exigência e suplementação de aminoácidos exógenos.....	40
3.2 Métodos comumente utilizados na determinação das exigências de aminoácidos.....	43
3.3 Outros métodos utilizados na determinação das exigências de aminoácidos.....	46
3.4 Suplementação do aminoácido lisina.....	48
3.5 Suplementação da treonina, metionina e demais aminoácidos exógenos.....	51
4. CONCLUSÃO.....	54
5. REFERÊNCIAS.....	54
Artigo II: EXIGÊNCIA DE LISINA NAS DIETAS DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i> Cuvier, 1818) COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO E NAS RESPOSTAS DA MORFOHISTOLOGIA HEPÁTICA E INTESTINAL.....	66
RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	69
1. INTRODUÇÃO.....	70
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	71
2.1. Ética animal.....	71
2.2. Local do experimento, aquisição e aclimação dos peixes.....	71
2.2.1. Monitoramento da qualidade da água.....	72
2.3. Dietas experimentais.....	72
2.4. Coleta de dados.....	74
2.5. Desempenho Zootécnico.....	74
2.6. Morfohistologia.....	75
3. RESULTADOS.....	77
3.1. Desempenho zootécnico.....	77
3.2. Morfohistologia intestinal.....	80
3.3. Morfohistologia hepática.....	84
4. DISCUSSÃO.....	86
4.1. Desempenho zootécnico.....	86
4.2. Morfohistologia intestinal.....	89
4.3. Morfohistologia hepática.....	91
5. CONCLUSÃO.....	92
6. REFERÊNCIAS.....	92
Artigo III: EFEITO DE DIETAS COM NÍVEIS DE LISINA SOBRE O HEMOGRAMA, BIOQUÍMICA SÉRICA E ENZIMAS DIGESTIVAS DE JUVENIS DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i> CUVIER, 1818).....	101
RESUMO.....	103
ABSTRACT.....	104
1. INTRODUÇÃO.....	105
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	106
2.1. Ética animal.....	107
2.2. Considerações iniciais: aquisição, local e aclimação dos peixes.....	107
2.3. Dietas experimentais.....	107
2.4 Coleta e biometria.....	108

2.5 Hemograma.....	109
2.5.1 Eritrograma.....	110
2.5.2 Leucograma e trombograma.....	110
2.6 Bioquímica sérica.....	110
2.7 Enzimologia.....	110
2.7.1 Preparo dos homogeneizados celulares.....	111
2.7.2 Concentração de proteínas no trato gastrointestinal.....	111
2.7.3 Atividade da enzima digestiva lipase.....	111
2.7.4 Atividade da enzima digestiva amilase.....	111
2.8 Caracterização histológica do intestino.....	112
2.9 Análise Estatística.....	112
3. RESULTADOS.....	112
3.1 Biometria.....	112
3.2. Hemograma.....	113
3.2.1 Eritrograma.....	113
3.2.2 Leucograma e trombograma.....	114
3.3 Bioquímica sérica.....	115
3.4 Enzimologia.....	116
3.4.1 Concentração de proteínas no trato gastrointestinal.....	116
3.4.2 Atividade das enzimas digestivas lipase e amilase.....	117
4. DISCUSSÃO.....	118
4.2 Biometria.....	118
4.3 Hemograma.....	119
4.3.1 Eritrograma.....	119
4.3.2 Leucograma e trombograma.....	121
4.4 Bioquímica sérica.....	123
4.5 Enzimologia.....	125
4.5.1 Concentração de proteínas no trato gastrointestinal.....	125
4.5.2 Atividade das enzimas digestivas lipase e amilase.....	126
5. CONCLUSÃO.....	127
6. REFERÊNCIAS.....	127
Artigo IV: EFEITO DA LISINA NA CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ, SUBPRODUTOS, RESÍDUOS, E MORFOMETRIA DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i> CUVIER, 1818).....	137
RESUMO.....	139
ABSTRACT.....	140
1. INTRODUÇÃO.....	141
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	142
2.1. Ética animal.....	142
2.2. 2.2. Local do experimento, Dietas experimentais.....	143
2.3. Análise morfométrica.....	144
2.4. Caracterização do filé: Rendimentos do corte e composição química.....	145
2.5. Análise dos subprodutos e resíduos.....	146
2.6. Monitoramento da qualidade da água.....	147
2.7. Análise Estatística.....	147
3. RESULTADOS.....	148
3.1. Parâmetros morfométricos e razões morfométricas.....	148
3.2. Caracterização do filé: Rendimentos do corte e composição química.....	149
3.3. Subprodutos e resíduos.....	150
4. DISCUSSÃO.....	152
4.1 Parâmetros morfométricos e razão morfométrica.....	152
4.2. Caracterização do filé: Rendimentos do corte e composição química.....	153
4.3. Subprodutos e resíduos.....	155
5. CONCLUSÃO.....	158
6. REFERÊNCIAS.....	158
CONCLUSÃO GERAL.....	163

LISTA DE TABELAS

Artigo I: EXIGÊNCIA E SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EXÓGENOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES:

Tabela 1. Principais métodos utilizados na determinação de exigência nutricional em animais.....	47
Tabela 2. Determinação de exigência de lisina em dietas para peixes.....	49

Artigo II: EXIGÊNCIA DE LISINA NAS DIETAS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO E NAS RESPOSTAS DA MORFOHISTOLOGIA HEPÁTICA E INTESTINAL:

Tabela 1. Valores calculados e determinados para as dietas elaboradas com níveis crescentes de lisina para juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	73
Tabela 2. Valores médios de desempenho e taxas nutricionais de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	77
Tabela 3. Morfometria do intestino dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) sob dietas contendo níveis de lisina.....	80
Tabela 4. Densidade (volume fracional ou Delesse) das túnicas celulares serosa, muscular, submucosa e mucosa das porções anterior, média e posterior das vilosidades do intestino dos tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) sob dietas com inclusão de lisina (g. Kg ⁻¹).....	81
Tabela 5. Células caliciformes (CC), altura e perímetro das vilosidades intestinais nas porções anterior, média e posterior dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) sob dietas com inclusão de lisina (g. Kg ⁻¹).....	83

Artigo III: EFEITO DE DIETAS COM NÍVEIS DE LISINA SOBRE O HEMOGRAMA, BIOQUÍMICA SÉRICA E ENZIMAS DIGESTIVAS DE JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818):

Tabela 1. Componentes aminoácidos das dietas experimentais elaboradas com níveis de lisina para juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) (Liebl et al., 2019).....	108
Tabela 2. Biometria de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	112
Tabela 3. Efeito da inclusão de lisina na dieta sobre o eritrograma de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	113
Tabela 4. Trombócitos e leucócitos totais dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) sob dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	114
Tabela 5. Contagem diferencial de leucócitos dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) sob dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	115
Tabela 6. Bioquímica do sangue dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas contendo níveis de lisina.....	115
Tabela 7. Concentração de proteína nos tecidos do estômago, intestino anterior, médio e posterior, e nos cecos pilóricos dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) nutridos com níveis de lisina.....	117
Tabela 8. Atividade das enzimas lipase e amilase nos tecidos do estômago, intestino anterior, médio e posterior, e nos cecos pilóricos dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) nutridos com níveis de lisina.....	118

Artigo IV: EFEITO DA LISINA NA CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ, SUBPRODUTOS, RESÍDUOS, E MORFOMETRIA DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818):

Tabela 1. Dietas elaboradas com níveis de lisina para juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) (Liebl et al., 2019).....	143
Tabela 2. Caracterização morfológica dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas com níveis crescentes de lisina.....	148
Tabela 3. Razões morfológicas dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas com níveis crescentes de lisina.....	149
Tabela 4. Caracterização do filé e rendimento de carcaça dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas elaboradas com níveis crescentes de lisina.....	149
Tabela 5. Rendimentos médios dos subprodutos e resíduos do corte de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.....	150

LISTA DE FIGURAS

Artigo I: EXIGÊNCIA E SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EXÓGENOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES:

Figura 1. Infográfico do comportamento do peixe para um parâmetro analisado em relação a adição de um aminoácido testado pelo método dose-resposta, evidenciando os momentos caracterizados como: inicial, resposta, estável e tóxico.....	44
Figura 2. Infográfico da relação entre aminoácidos exógenos, incluindo cistina e tirosina, e o aminoácido referência lisina (AAE/L %) para tilápia do Nilo (<i>O. niloticus</i>) (Adaptado de Teixeira et al., 2008; Furuya et al., 2013).....	53
Figura 3. Infográfico da exigência de aminoácidos exógenos, incluindo cistina e tirosina, para os peixes onívoros juvenis pebbly (<i>Alestes baremoze</i>), tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), bagre do canal (<i>Ictalurus punctatus</i>), carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>), e aruanã africano (<i>Heterotis niloticus</i>), evidenciando o aminoácido limitante lisina (Adaptado de Kasozi et al., 2019).....	53

Artigo II: EXIGÊNCIA DE LISINA NAS DIETAS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1817) COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO E NAS RESPOSTAS DA MORFOHISTOLOGIA HEPÁTICA E INTESTINAL:

Figura 1. Efeito da regressão quadrática na relação da conversão alimentar aparente - CAA com os níveis de lisina em juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	79
Figura 2. Efeito da regressão quadrática sobre a taxa de crescimento relativo para o crescimento e sobre a taxa de eficiência alimentar dos juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com níveis de lisina.....	80
Figura 3. Fotomicrografia das vilosidades do intestino anterior evidenciando as túnicas serosa (SE), muscular (MU), submucosa (SM) e mucosa (MC) do juvenil de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) do período inicial da experimentação (isento da nutrição com dietas experimentais) (A) e do período final (alimentados com 15,96 g. Kg ⁻¹ de lisina) (B). Azul de toluidina, Objetiva 40x.....	82

Figura 4. Fotomicrografia do tecido hepático de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina sendo 0,4% de L-lisina: A) Lipídios no espaço porta – Moléculas de lipídios absorvidas da dieta, transportadas até o fígado e depositadas próximo a veia porta (a). Lipídios acumulados em veias e artérias (b). HE, Objetiva 20x. B) Presença multifocal de gotículas de lipídios nos hepatócitos próximos a vasos sanguíneos (a). Hepatócitos com formato poliedral, redondo irregular e hexagonal, com núcleo centralizado – regiões com citoplasmas claros (b). HE, Objetiva 40x85

Figura 5. Fotomicrografia do tecido hepático de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentado com 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina sendo 0,4% de L-lisina: A) Regiões com edemas. HE, objetiva 20x; B) Degeneração hidrópica caracterizada por edema celular (a), desarranjo cordonal (b) e hepatócitos com citoplasma claro (c). HE, Objetiva 40x85

Artigo III: EFEITO DE DIETAS COM NÍVEIS DE LISINA SOBRE O HEMOGRAMA, BIOQUÍMICA SÉRICA E ENZIMAS DIGESTIVAS DE JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818):

Figura 1. Fotomicrografia do intestino médio de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo lisina. Corante Tricrômico de Mallory: A) Colágeno evidenciado em toda vilosidade (verde) em meio a células absorptivas e células secretoras da mucosa intestinal. Objetiva 60x. B) Colágeno evidenciado nas túnicas celulares serosa (se), muscular (ms), submucosa (su) e mucosa (mu).....117

Artigo IV: EFEITO DA LISINA NA CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ, SUBPRODUTOS, RESÍDUOS, E MORFOMETRIA DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818): **Figura 1.** Medidas morfométricas em tambaqui (*Colossoma macropomum*) na fase juvenil: comprimento total - CT, comprimento padrão - CP, comprimento do tronco - CTR, comprimento da cabeça - CC, altura da cabeça - AC, altura do corpo - ACO, altura da cauda - ACD, comprimento da nadadeira caudal inferior - CNCI, comprimento da nadadeira caudal superior - CNCS e espessura lombar - EL.....145

Figura 2. Efeito da regressão quadrática sobre o percentual de rendimento da pele bruta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis lisina.....151

Figura 3. Efeito do modelo de regressão quadrática sobre o percentual (arc. sen. $\sqrt{P\%/100}$) de rendimento das nadadeiras de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis de lisina152

OGANIZAÇÃO GERAL DA TESE

A tese foi estruturada em uma parte introdutória contendo resumo e abstract, introdução geral, hipóteses, objetivo geral e objetivos específicos, seguida da parte de desenvolvimento contendo artigos resultantes dos trabalhos realizados.

Quatro artigos foram gerados em resposta aos objetivos específicos e fundamentados nas hipóteses alternativas estabelecidas.

O artigo I consiste em um trabalho de revisão de literatura sobre os aminoácidos exógeno, mais utilizados na nutrição de peixes, suas funções orgânicas, métodos de determinação e exigências estabelecidas.

No artigo II, o nível de exigência de lisina para os juvenis de tambaqui foi determinado através das respostas observadas no desempenho zootécnico, e na histomorfologia intestinal e hepática. No artigo III, foram verificados os efeitos da lisina da dieta sobre o hemograma, composição bioquímica e sobre a atividade das enzimas digestivas do tambaqui.

O último artigo desta tese apresenta análises da composição química do filé, tendências dos rendimentos de produtos, subprodutos e de resíduos potencialmente aproveitáveis, e a composição do filé de juvenis de tambaqui.

RESUMO

O nível de exigência de lisina pode ser determinado através de métodos como o dose-resposta associado ao conceito de proteína ideal, e tende a melhorias no desempenho produtivo, mantendo a saúde do peixe. O objetivo desta tese foi determinar a exigência de lisina para máximo desempenho de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), concomitante, verificar a influência do aminoácido no hemograma e na bioquímica do sangue, na atividade das enzimas digestivas, na histomorfologia intestinal e hepática, na composição química do filé e nas tendências de produção dos rendimentos do peixe. As variáveis analisadas foram validadas por ANOVA, teste de Tukey, e análise de regressão ($p < 0,05$). Os tambaquís ($33,88 \pm 2,47$ g e $11,72 \pm 0,36$ cm) foram alimentados com dietas contendo 6,60, 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 g. Kg^{-1} de lisina total (respectivamente: 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g. Kg^{-1} de L-lisina). O ganho de peso relativo, consumo da dieta, índices e teor de gordura, altura e perímetro do intestino anterior, as taxas de crescimento específico, de eficiência proteica e de crescimento relativo – peso, os pesos e comprimentos dos intestinos, a túnica serosa intestinal, o peixe eviscerado, e os teores proteicos e lipídicos dos filés, não foram alterados pelos níveis ($p > 0,05$). Outrossim, não foram constatadas diferenças para as concentrações de hemoglobina, hematócrito, CHCM, eosinófilos, monócitos, trombócitos, glicose, triglicerídeos, para atividade da amilase, lipase, e para as variáveis morfométricas do corpo do peixe ($p > 0,05$). No entanto, o peso final ($p = 0,01$), a taxa de crescimento relativo - comprimento ($p = 0,02$), ganho de peso total ($p = 0,04$), eficiência da lisina ($p = 0,00$) e a conversão alimentar aparente ($p = 0,00$), diferiram ao nível 15,96 g. Kg^{-1} de lisina total. O consumo da lisina ($p = 0,00$) e o comprimento das nadadeiras ($p = 0,00$) dos tambaquís aumentaram linearmente os níveis de lisina. Túnicas intestinais nas porções muscular anterior ($p = 0,00$), submucosa anterior ($p = 0,00$) e média ($p = 0,01$), e mucosa anterior ($p = 0,00$), foram influenciadas pela dieta, bem como, o tecido hepático, onde foram verificadas hepatodistrofias e aumento do índice hepatossomático ($p = 0,04$). A altura das vilosidades do intestino médio ($p = 0,01$) foi maior no nível de menor adição de L-lisina (9,72 g. Kg^{-1} de lisina total, 4,00 g de L-lisina) e o perímetro do nível 12,84 g. Kg^{-1} de lisina se sobrepôs ao do 22,20 g. Kg^{-1} de lisina. No intestino posterior, altura e perímetro ($p = 0,00$; $p = 0,02$) expressaram variações não relacionadas diretamente com os níveis de lisina. Mucinas ácidas foram mais elevadas no intestino anterior com 22,20 g. Kg^{-1} de lisina na dieta ($p = 0,001$). O VCM ($p = 0,00$), HCM ($p = 0,00$), eritrócitos totais ($p = 0,02$), linfócitos ($p = 0,00$) e neutrófilos ($p = 0,00$), foram alterados apenas no período inicial ($p < 0,05$). Colesterol ($p = 0,00$) e leucócitos totais ($p = 0,02$) expressaram influências não atribuídas à lisina ($p = 0,00$).

Liebl (2019). Exigência de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) com base no desempenho produtivo, morfohistológico e fisiológico.

Os tambaquis do nível 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina alcançaram maior crescimento (p=0,01) e concentração de proteína intestinal (p=0,00) e sanguínea (p=0,01) mais elevada. A razão entre o comprimento padrão e total (p=0,00) do corpo dos peixes foi modificada nos níveis 12,84 e 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina (p=0,03). Para pele bruta (p=0,03), a melhor resposta foi verificada no nível de 12,84 g. Kg⁻¹ de lisina (p=0,03). O teor de umidade (p=0,00) e os minerais do filé (p=0,01) foram alterados, respectivamente, com lisina 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina, e 6,60 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina. O máximo de filé com pele foi estimado em 18,22 g.Kg⁻¹ de lisina total (p=0,001). Desta forma, conclui-se que juvenis de tambaqui possuem exigência de desempenho é 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total ou 5,91% da proteína da dieta.

Palavras-chave: zootecnia, aquicultura, nutrição de peixes, aminoácidos, hematologia.

ABSTRACT

The level of lysine requirement can be determined by methods such as dose response associated with the ideal protein concept, and tends to improve yield performance while maintaining fish health. The objective of this thesis was to determine the lysine requirement for maximum performance of tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles, concomitantly, to verify the influence of amino acid on blood count and blood biochemistry, activity of digestive enzymes, intestinal and hepatic histomorphology, fillet chemical composition and yield trends of fish. The variables analyzed were validated by ANOVA, Tukey's test, and regression analysis ($p < 0.05$). Tambaqui (33.88 ± 2.47 g and 11.72 ± 0.36 cm) were fed diets containing 6.60, 9.72, 12.84, 15.96, 19.08 and 22.20 g. Kg⁻¹ of total lysine (respectively: 0.00, 4.00, 8.00, 12.00, 16.00 and 20.00 g. Kg⁻¹ of L-lysine). Relative weight gain, diet intake, fat content and index, anterior bowel height and perimeter, specific growth rates, protein efficiency and relative growth - weight, bowel weights and lengths, intestinal serous tunic, the gutted fish, and the protein and lipid contents of the fillets were not altered by the levels ($p > 0.05$). Furthermore, no differences were found for hemoglobin, hematocrit, MCHC, eosinophil, monocyte, thrombocyte, glucose, triglyceride concentrations for amylase activity, lipase, and morphometric variables of the fish body ($p > 0.05$). However, final weight ($p = 0.01$), relative growth rate - length ($p = 0.02$), total weight gain ($p = 0.04$), lysine efficiency ($p = 0.00$) and apparent feed conversion ($p = 0.00$) differed at the level of 15.96 g. Kg⁻¹ of total lysine. Lysine consumption ($p = 0.00$) and fin length ($p = 0.00$) of tambourines linearly increased lysine levels. Intestinal tunics in the anterior muscle ($p = 0.00$), anterior submucosa ($p = 0.00$) and middle ($p = 0.01$), and anterior mucosa ($p = 0.00$) portions were influenced by diet as well as such as liver tissue, where hepatodystrophies were observed and increased hepatosomal index ($p = 0.04$). The height of the midgut villi ($p = 0.01$) was higher at the lowest L-lysine addition level (9.72 g.Kg⁻¹ total lysine, 4.00 g L-lysine) and the perimeter level 12.84 g.Kg⁻¹ of lysine overlapped with that of 22.20 g.Kg⁻¹ of lysine. In the posterior intestine, height and perimeter ($p = 0.00$; $p = 0.02$) expressed variations not directly related to lysine levels. Acid mucins were higher in the anterior intestine at 22.20 g.Kg of lysine in the diet ($p = 0.001$). MCV ($p = 0.00$), MCH ($p = 0.00$), total erythrocytes ($p = 0.02$), lymphocytes ($p = 0.00$) and neutrophils ($p = 0.00$) were changed only in the initial period ($p < 0.05$). Cholesterol ($p = 0.00$) and total leukocytes ($p = 0.02$) expressed influences not attributed to lysine ($p = 0.00$). The tambourines of level 15.96 g. Kg⁻¹ of lysine achieved higher growth ($p = 0.01$) and higher intestinal ($p = 0.00$) and blood ($p = 0.01$) protein concentration. The ratio between the standard and total length ($p = 0.00$) of the fish body was modified at levels 12.84 and 15.96 g. Kg⁻¹ of lysine ($p = 0.03$). For crude skin ($p = 0.03$), the best response was

Liebl (2019). Exigência de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) com base no desempenho produtivo, morfohistológico e fisiológico.

found at the level of 12.84 g. Kg⁻¹ of lysine (p=0.03). Moisture content (p=0.00) and fillet minerals (p=0.01) were altered, respectively, with lysine 22.20 g. Lysine kg⁻¹, and 6.60 and 22.20 g. Kg⁻¹ of lysine. The maximum fillet with skin was estimated at 18.22 g. Kg⁻¹ total lysine (p=0.001). Thus, it is concluded that tambaqui juveniles have a performance requirement of 15.96 g. Kg⁻¹ of total lysine or 5.91% of dietary protein.

Keywords: zootechnics, aquaculture, fish nutrition, amino acids, hematology.

INTRODUÇÃO GERAL

Segundo FAO (2018), a aquicultura mundial produziu 171 milhões de toneladas de peixes em 2016, e prossegue na previsão de 196 milhões de toneladas de pescado em 2025 (FAO, 2016), o que representa acréscimo de 17% em relação a produção de 2013 a 2015, e carrega a projeção de aumento em até 39,9 pontos percentuais para a área produtiva que inclui o Brasil. No entanto, a concretização desta expectativa aproveitando o potencial produtivo do pescado nativo brasileiro, requer inserção e aprimoramento de técnicas que impulsionem o desempenho do peixe, assegurem maior qualidade do produto, e retorno do investimentos no animal.

Do total dos investimentos na piscicultura, a nutrição onera de 60 a 80% e é a vertente primordial para a produção. A fração aminoacídica é a mais dispendiosa, necessitando inserção na dieta conforme a exigência de cada espécie produzida, evitando entraves para o peixe e perdas para o produtor (Furuya et al., 2011; NRC, 2011; Oliva-Teles, 2012; Souza et al., 2019).

Os aminoácidos são aglomerados químicos heterogêneos com disposição molecular estruturada, geralmente, em grupamentos carboxílico (-COOH) e amino (-NH₃) conectados ao carbono central (ou carbono alfa), ao hidrogênio (H) e a uma cadeia ramificada lateral (R), podendo, ainda, se ligar ao enxofre (S) (Campbell & Farrell, 2016; Nelson & Cox, 2018). Tais compostos são vitais para o funcionamento do sistema orgânico e cooperam com o fortalecimento e manutenção do sistema imune, formação, crescimento e regeneração de tecidos como filé e vasos sanguíneos, produção das células sanguíneas e das bases nitrogenadas dos nucleotídeos, degradação de compostos como gorduras, além de atuar na síntese e secreção de hormônios como a serotonina, que é moderadora do estresse.

Aminoácidos primários ou padrão possuem síntese exógena (essenciais ou indispensáveis) ou endógena (não-essenciais ou indispensáveis). Aminoácidos exógenos não são produzidos, ou são produzidos em porção não satisfatória a necessidade do sistema biológico dos animais, e a aquisição orgânica é realizada através do consumo de dietas balanceadas com nutrientes intactos (alimento natural) ou suplementadas com nutrientes cristalinos (processados industrialmente) de acordo com a exigência (Nelson & Cox, 2018).

As exigências de aminoácidos na nutrição de peixes são mais facilmente encontradas em plataformas digitais datadas a partir de 1970, sendo numerosas nas décadas de 80 e 90, com níveis de suplementação investigados sob abordagens diferentes na busca pela resposta mais eficiente e para retorno com maior produção animal (Ketola, 1982; Cowey, 1994; Ronnestad et al., 1999).

Por ser o aminoácido utilizado como referência no cálculo de determinação da exigência para peixes, a lisina ($C_6H_{14}N_2O_2$; ácido 2,6-diaminohexanóico) é o aminoácido com mais informações sobre o nível necessário para desempenho em muitas espécies. É o aminoácido mais limitante em alguns vegetais utilizados como fonte proteica na confecção das dietas para peixes e seu desbalanceamento interfere no aproveitamento de todos os nutrientes pelo organismo animal (Mai et al., 2006; Ebeneazar et al., 2019).

A proteína e demais nutrientes dietéticos são digeridos por enzimas no estômago e no intestino dos peixes. A hidrólise da fração energética da dieta (lipídios e carboidratos), possibilita o direcionamento da lisina para suas funções especializadas no crescimento do peixe, evitando seu desvio para suprir necessidades da manutenção que podem ser sanadas por nutrientes mais abundantes e com menor investimento, como os carboidratos (Sunde et al., 2001; Fountoulaki et al., 2005).

Quando adicionada na dieta incluída na proteína intacta, a lisina provém da degradação proteica, gerando peptídeos que são clivados pela enzima tripsina liberando o aminoácido na sua forma biodisponível de L-lisina. No entanto, a lisina pode ser processada industrialmente e viabilizada para suplementação nas dietas como L-lisina (forma cristalina), estando preparada para absorção nos enterócitos das vilosidades intestinais (Rotta, 2003). Além dos enterócitos ou células absorptivas, as vilosidades do intestino são recobertas por células enteroendócrinas, células de paneth e caliciformes, que agem na detecção do conteúdo do lúmen, secreção da glicoproteína mucina, proteção da túnica mucosa, e na digestão e absorção de nutrientes, condicionada pela morfometria intestinal e densidade celular das túnicas, que podem ser alteradas nutrição (Silva et al., 2010; Honorato et al., 2013).

A lisina absorvida é transportada pela corrente sanguínea até os tecidos celulares em que atua sintetizando e depositando proteína no músculo, aumentando rendimentos do filé no processo de hipertrofia das fibras, elevando o peso e o comprimento do corpo, cooperando com melhorias nos índices de conversão alimentar e na ação do sistema imunológico e propicia melhor absorção dos demais aminoácidos da dieta (Furuya et al., 2006; Gaylord & Barrows, 2009; Furuya et al., 2013; Michelato et al., 2016; Chu et al., 2018; Hua et al., 2019).

Em associação com o aminoácido exógeno metionina, a lisina estimula a síntese do composto quaternário de amônio L-carnitina, que captura e mobiliza lipídios de cadeia longa para a parte interna da mitocôndria nas células do fígado (hepatócitos), onde são catabolizados e proveem energia (Furuya et al., 2013). Desta forma, quantidades insuficientes de lisina na dieta podem propiciar o acúmulo de lipídios sobre os hepatócitos (esteatose), interferindo

negativamente nos níveis de colesterol (Gridale-Helland et al., 2011; Furuya et al., 2013; Michelato et al., 2016; Hua et al., 2019).

Quando associada a vitamina C, a lisina é modificada em hidroxilisina, e participa da constituição das fibras do colágeno juntamente com os aminoácidos endógenos glicina, prolina e alanina, que produzem a elastina e conferem resistência a matéria, sendo o componente primordial do tecido conjuntivo (Silva & Penna, 2012).

Por propiciar a liberação ou a captura de metabólitos da corrente sanguínea, atuando sobre a eficácia das defesas orgânicas, o nível de lisina na dieta pode se manifestar sobre as características hematológicas do peixe. Os estudos hematológicos são utilizados no acompanhamento das expressões fisiológicas dos peixes e contribuem para atestar a saúde do animal sob a dieta fornecida e demais condições do cultivo, oportunizando modificações no processo de produção que beneficiem o peixe, caso necessário (Hesser, 1960; Higuchi et al., 2011; Pereira et al., 2016).

O hemograma consiste na análise dos eritrócitos, leucócitos e trombócitos, podendo tornar-se mais eficiente quando associado a análise dos componentes químicos como a concentração de proteínas, glicose, colesterol e triglicerídeos (Prado et al., 2016). Os leucócitos, em suas diferenciações (linfócitos, monófilos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos), os trombócitos e os eritrócitos, atuam, respectivamente, na defesa, na coagulação e no transporte de nutrientes pelo sangue (Ishikawa et al., 2008; Ngugi et al., 2015; Lemos et al., 2018).

A nutrição dos peixes modula características histomorfológicas e morfofisiológicas no trato digestório, bem como, a morfometria do corpo dos animais e os rendimentos dos produtos e subprodutos do peixe (Rotta, 2003; Maghelly et al., 2018). As projeções das medidas, rendimentos e composição do filé do peixe são fatores determinantes na decisão da espécie a ser cultivada, tecnologias aplicáveis ao cultivo e tipo de processamento, sendo relevante e sustentável a inserção de informações sobre subprodutos e sobre resíduos possivelmente gerados (Mafra et al., 2016).

A logística que envolve dietas com exigências nutricionais supridas para desempenho do peixe, efeitos da nutrição sobre a fisiologia e tendências sobre os rendimentos do pescado, resulta na padronização do produto e no planejamento das técnicas a serem utilizadas durante o cultivo e processamento, demandado para peixes produzidos industrialmente como o tambaqui.

O tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), peixe da ordem Characiformes e família Serrasalminidae, endêmico dos rios Amazonas e Orinoco, possui produção estabelecida

na indústria pesqueira, diminuindo a retirada do peixe do ambiente natural, sendo a espécie nativa mais produzida no Brasil, com maiores índices na região Norte, onde é por tradição altamente valorizado pelo mercado (Araújo-Lima & Gomes, 2005). É um peixe com adaptações morfológicas que condicionam o hábito alimentar onívoro, expressa produtividade elevada através de manejo simples, possui bom rendimento de filé, rápido crescimento, carne com consistência e sabor atrativos, é rústico e adaptado aos sistemas de cultivos comuns no país (Araújo-Lima & Gomes, 2005; Souza & Inhamuns, 2011; Rodrigues et al., 2014; Buzollo et al., 2019).

No entanto, apesar do bom desempenho tambaqui sob consumo de dietas generalistas elaboradas para peixes onívoros, a dieta atualmente fornecida nas pisciculturas não permite a expressão do máximo potencial da espécie por não considerar a exigência do peixe para nutrientes fundamentais no crescimento e formação de carne como a lisina.

Diante da extrema carência de informações sobre exigências de aminoácidos para tambaqui, e necessidade em viabilizar dietas formuladas considerando aspectos intrínsecos da espécie, como morfologia hepática e intestinal, rendimentos, comportamento das enzimas e dos componentes do sangue, o objetivo desta tese foi determinar o nível de exigência da lisina nas dietas para maior desempenho produtivo de juvenis de tambaqui e verificar a influência da nutrição sobre os parâmetros morfohistológicos e hematológicos do peixe.

HIPÓTESES

As hipóteses estabelecidas nesta tese tem como base os parâmetros de desempenho zootécnico, hematologia, enzimas digestivas, morfohistologia e rendimentos do corte de indivíduos de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis de lisina.

As hipóteses nulas contrariam as hipóteses alternativas e consideram que a exigência de lisina na nutrição de juvenis de tambaqui lisina não é influenciada pelas variáveis analisadas. As hipóteses alternativas foram elaboradas com conjuntos de variáveis com potencial para elucidar sobre a exigência de lisina para tambaqui e consistem em:

- Hipótese alternativa 1 (H₁): Os parâmetros de desempenho produtivo, a morfometria intestinal e a histologia do fígado de juvenis de tambaqui alteram de acordo com os níveis de lisina adicionadas na dieta;

- Hipótese alternativa 2 (H₂): A concentração do leucograma, do trombograma, do eritrograma, da bioquímica do sangue e das enzimas digestivas, são influenciadas pela quantidade de lisina ofertada na dieta para juvenis de tambaqui;
- Hipótese alternativa 3 (H₃): Os rendimentos dos produtos, subprodutos e resíduos, assim como a composição química do filé e a morfometria do corpo dos juvenis de tambaqui, tendem a modificar com os percentuais de lisina adicionados na dieta.

Aceitando as hipóteses alternativas como verdadeiras, e por consequência rejeitando hipóteses nulas, fica determinada uma nutrição específica para tambaqui na fase juvenil, com dieta nutricionalmente balanceada, contendo a concentração de lisina que atenda às exigências do tambaqui e viabilize aumento nos parâmetros de desempenho produtivo sem maiores danos para o peixe.

Aceitando a hipótese nula como verdadeira, fica explícito que a opção da nutrição de juvenis de tambaqui com as técnicas e concentrações de aminoácidos propostas neste trabalho não foram eficientes. Assim, permanece a recomendação da concentração de lisina seguindo as concentrações já descritas na literatura para outras espécies onívoras e atualmente utilizadas para tambaqui.

Para tanto, as hipóteses foram testadas por meio de investigações com objetivos claros e previamente determinados.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Determinar a exigência de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) nutridos com dietas contendo diferentes níveis de lisina considerando aspectos do desempenho produtivo, morfohistologia, hematologia e rendimentos.

Objetivos específicos

- Avaliar os parâmetros do desempenho produtivo, como o ganho de peso e a conversão alimentar aparente, dos juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis de lisina, sob influência da nutrição;

- Analisar se a densidade das túnicas celulares, concentração de células caliciformes, altura e perímetro das vilosidades intestinais alteram com os níveis de lisina balanceados na dieta para juvenis de tambaqui;
- Averiguar a interferência dos níveis de lisina das dietas na organização e características dos hepatócitos, armazenamento lipídico, e peso do fígado de juvenis de tambaqui;
- Analisar possíveis modificações nas concentração do leucograma, trombograma, eritrograma, de acordo com a adição de lisina na dieta para juvenis de tambaqui;
- Verificar se a lisina da dieta modifica a composição bioquímica plasmática e a atividade das enzimas lipase e amilase em tambaqui na fase juvenil;
- Estimar os rendimentos dos produtos, subprodutos e resíduos de juvenis de tambaqui;
- Verificar a composição bromatológica do filé e a morfometria corporal dos juvenis de tambaqui sob nutrição com níveis de lisina.

REFERÊNCIAS

Araújo-Lima, C. A. R. M.; Gomes, L. C. 2005. *Tambaqui (Colossoma macropomum) IN: Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. (Ed). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Cap. Tambaqui*, v. 2. Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, p. 67-104.

Buzollo, H., Sandre, L. C. G., Neira, L. M., Nascimento, T. M. T., Jomori, R. K., & Carneiro, D. J. (2019). Digestible protein requirements and muscle growth in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Nutrition*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12888>.

Campbell, M. K. & Farrel, S. O. (2016). *Bioquímica*. Cengage Learning. 864 p. ISBN: 9788522118700.

Chu, W., Chen, D., Li, Y., Wu, P., Zhang, J., & Liu, L. (2018). Muscle Fiber Differentiation and Growth Patterns During Hyperplasia and Hypertrophy in the Ricefield Eel Regulated by Myogenic Regulatory Factors. *North American Journal of Aquaculture*, 80(2), 180-186. <https://doi.org/10.1002/naaq.10025>.

Cowey, C. B. (1994). Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture*, 124(1-4), 1-11. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90349-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90349-2).

Ebenezzar, S., Vijayagopal, P., Srivastava, P. P., Gupta, S., Varghese, T., Prabu, D. L., ... & Wilson, L. (2019). Dietary lysine requirement of juvenile Silver pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801). *Aquaculture*, 734234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734234>.

FAO (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 p. ISBN 978-92-5-109185-2.

FAO (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome. ISBN 978-92-5-130562-1.

Fountoulaki, E., Alexis, M. N., Nengas, I., & Venou, B. (2005). Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research*, 36(13), 1243-1251. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01232.x>.

Furuya, W. M., Michelato, M., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Furuya, V. R. B., & de Moura, L. B. (2013). Exigência de lisina digestível para a tilápia do Nilo de 87 a 226

g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina: lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4), 1945-1954. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1945>.

Furuya, W. M., Santos, V. D., Silva, L. C. R., Furuya, V. R. B., & Sakaguti, E. S. (2006). Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 937-942. ISSN on-line: 1806-9290.

Furuya, W. M.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E.; Cyrino, J. E. P. (2011). Exigências nutricionais e alimentação de tilápia. In: Cyrino, J. E. P E Fracalossi, D.M. *Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira* (2011). ISBN: 978-85-60190-03-4.

Gaylord, T. G., & Barrows, F. T. (2009). Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds. *Aquaculture*, 287(1-2), 180-184. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.037>.

Grisdale-Helland, B., Hatlen, B., Mundheim, H., & Helland, S. J. (2011). Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. *Aquaculture*, 315(3-4), 260-268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.015>.

Hesser, E. F. (1960). Methods for routine fish hematology. *The Progressive Fish-Culturist*, 22(4), 164-171. DOI: [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1960\)22\[164:MFRFH\]2.0.CO:2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1960)22[164:MFRFH]2.0.CO:2).

Higuchi, L. H., Feiden, A., Maluf, M. L. F., Dallagnol, J. M., Zaminhan, M., & Boscolo, W. R. (2011). Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis protéicos e energéticos. *Ciência Animal Brasileira*, 12(1), 70-75. DOI: <https://doi.org/10.5216/cab.v12i1.8986>.

Honorato, C. A., Assano, M., da Cruz, C., Carneiro, D. J., & Machado, M. R. F. (2013). Histologia do intestino de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes fontes de proteína. *Nucleus Animalium*, 5(1). DOI: <http://dx.doi.org/10.3738//1982.2278.771>.

Hua, K., Suwendí, E., & Bureau, D. P. (2019). Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 505, 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.030>.

- Ishikawa, N. M., Ranzani-Paiva, M. J. T., & Lombardi, J. V. (2008). Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe *Oreochromis Niloticus*. *Archives of Veterinary Science*, 54-63. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v13i1.11560>.
- Ketola, H. G. (1982). Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Comparative Biochemistry*, 73(1), 17-24. DOI: [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(82\)90197-3](https://doi.org/10.1016/0305-0491(82)90197-3).
- Lemos, C. H. P., Ribeiro, C. V. D. M., Oliveira, C. P. B., Couto, R. D., & Copatti, C. E. (2018). Effects of interaction between pH and stocking density on the growth, haematological and biochemical responses of Nile tilapia juveniles. *Aquaculture*, 495, 62-67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.037>.
- Mafra, D. P., Dresch, R. T., Costa, L. H. C., Costa, C. S., Klein, S., & Diemer, O. (2016). Características morfológicas, rendimento corporal e composição química da piranha. *Agrarian*, 9(34), 383-389. ISSN 1984-2538.
- Maghelly, O. R., Huergo, G. M., Zaniboni Filho, E., & Enke, D. B. S. (2018). Características morfológicas e rendimento corporal do Suruvi *Steindachneridion scriptum* agrupados por sexo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(3), 419-430. ISSN 1678-2305.
- Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., ... & Liufu, Z. (2006). Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 258(1-4), 535-542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.043>.
- Michelato, M., de Oliveira Vidal, L. V., Xavier, T. O., de Moura, L. B., de Almeida, F. L. A., Pedrosa, V. B., ... & Furuya, W. M. (2016). Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. *Aquaculture*, 457, 124-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.022>.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2018). *Princípios de Bioquímica de Lehninger-7*. Artmed Editora. ISBN: 97814641226116.
- Ngugi, C.C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P.S., Chemoiwa, E.J., Aloo, P.A., 2015. Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 44, 533–541. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.025>.

- NRC - National Research Council. *Nutrient requirement of fish and shrimp*. Washington, D.C.: *National Academy of Science* (2011). DOI: <https://doi.org/10.17226/13039>.
- Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of fish diseases*, 35(2), 83-108. doi:10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x.
- Pereira, D. S. P., Guerra-Santos, B., Moreira, E. L. T., Albinati, R. C. B., & Ayres, M. C. C. (2018). Parâmetros hematológicos e histológicos de tilápia-do-Nilo em resposta ao desafio de diferentes níveis de salinidade. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(3), 635-647. DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p635>.
- Prado, R. R., Mendonça, E. P., Monteiro, G. P., Melo, R. T., & Rossi, D. A. (2016). Eritrograma em Medicina Veterinária: Apostila. *PUBVET*, 10(1), 61-82. ISSN: 1982-1263.
- Rodrigues, A. P. O. (2014). Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 40, 135-145.
- Rønnestad, I., Thorsen, A., & Finn, R. N. (1999). Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177(1-4), 201-216. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00082-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00082-4).
- Rotta, M. A. (2003). Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. *Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)*. ISSN: 1517-1973.
- Silva, L. C. R., Furuya, W. M., Natali, M. R. M., Schamber, C. R., SANTOS, L. D., & Vidal, L. V. O. (2010). Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(6), 1175-1179. ISSN 1806-9290.
- Silva, T. F. D., & Penna, A. L. B. (2012). Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 530-539.
- Souza, A. D., & Inhamuns, A. J. (2011). Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 41(2), 289-296.
- Souza, F. O., Bomfim, M. A. D., Ribeiro, F. B., Lanna, E. A. T., Sousa, T. J. R. D., & Costa, D. D. C. D. (2019). Methionine plus cystine to lysine ratio in diets for tambaqui

juveniles. *Revista Caatinga*, 32(1), 243-250. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252019v32n124rc>.

Sunde, J., Taranger, G. L., & Rungruangsak-Torrissen, K. (2001). Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 25(4), 335-345. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1023233024001>.

ARTIGO I

Liebl, A.R.S., Bussons, M.R.F.M., Furuya, W.M., Oliveira, A.T. (2019). Revisão: Exigência e suplementação de aminoácidos exógenos na nutrição de peixes. Formatado segundo *Aquaculture Nutrition*, 34 p.

REVISÃO: EXIGÊNCIA E SUPLEMENTAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EXÓGENOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

Ariany Rabello da Silva Liebl^{1*}, Márcia Regina Fragoso Machado², Wilson Massamitu Furuya³, Adriano Teixeira de Oliveira⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos-CIPET, Faculdade de Ciências Agrárias-FCA, Universidade Federal do Amazonas-UFAM, Avenida General Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 6200-Coroado I, Manaus-AM, 69067-005, Brazil.

² Supervisora Técnica Operacional, Fazenda Dona Branca, 28860-000, Casimiro de Abreu, RJ, Brasil.

³ Departamento de Zootecnia - Bloco Z, Sala 101, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Avenida General Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas, 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

⁴ Instituto Federal do Amazonas – IFAM, Avenida Sete de Setembro, Centro, Manaus – AM.

*** Correspondência**

Ariany Rabello da Silva Liebl, Universidade Federal do Amazonas, Avenida General Rodrigo Octávio, Coroado I, 69077-000, Manaus, Amazonas, Brazil. Phone: +55 0923305 4063;

Email: ny.rabello@gmail.com

RESUMO

Os aminoácidos exógenos estão entre os componentes de dietas com formulações nutricionalmente ricas utilizadas na nutrição de peixes. Este trabalho objetivou investigar qualitativamente abordagens com experimentações, teorias basais e metodologias utilizadas para determinar as exigências dos aminoácidos suplementados em dietas para peixes, com a finalidade de viabilizar informações que possam contribuir com trabalhos futuros. Foram utilizados 94 artigos, publicados nas plataformas digitais Science Direct, World wide science, SciELO e Google Scholar, com as seguintes chave de busca: peixe, aminoácido, lisina, treonina, metionina, exigência e nutrição. Embora melhorias no desempenho do peixe sejam observadas sob oferta de aminoácidos respeitando a exigência determinada através de métodos como, o perfil corporal, o dose-resposta e o conceito de proteína ideal, os vários métodos utilizados dificultam a visualização dos resultados de modo mais generalista, e expressa necessidade de padronização. Lisina, metionina e treonina destacam-se em maior número de trabalhos devido ao elevado requerimento dos peixes, facilidade de aquisição e de determinação. A lisina possui maior limitação nas dietas para peixes e atua em conjunto com a metionina na síntese proteica, enquanto a treonina restringe a síntese de glicoproteínas e de globulinas. Tais nutrientes e demais aminoácidos não possuem exigência determinada para algumas espécies de alta produtividade, especialmente, as nativas. Diante do exposto, as considerações finais são de que é essencial a continuidade de pesquisas em peixes cultiváveis em pisciculturas verificando todos os aminoácidos exógenos, acrescentando análises diversas biológicas e comportamentais, e incluindo espécies nativas.

Palavras-chave: aquicultura, piscicultura, nutriente, lisina, metionina, treonina

ABSTRACT

Amino acids are among the components of diets with nutritionally rich formulations used in fish nutrition. This work aimed to qualitatively investigate approaches with experiments, basal theories and methodologies used to determine the requirements of supplemented amino acids in fish diets, in order to provide information that may contribute to future work. We used 94 articles, published in the digital platforms Science Direct, World wide science, SciELO and Google Scholar, with the following search key: fish, amino acid, lysine, threonine, methionine, requirement and nutrition. Although improvements in fish performance are observed under amino acid supply while respecting the requirement determined through methods such as body profile, dose response and ideal protein concept, the various methods used make it difficult to see results more generally, and expresses need for standardization. Lysine, methionine and threonine stand out in a larger number of works due to the high requirement of fish, ease of acquisition and determination. Lysine has a higher limitation in fish diets and acts in conjunction with methionine in protein synthesis, while threonine restricts glycoprotein and globulin synthesis. Such nutrients and other amino acids have no specific requirement for some high yield species, especially native ones. Given the above, the final considerations are that it is essential to continue research on fish farms checking all exogenous amino acids, adding various biological and behavioral analyzes, and including native species..

Keywords: aquaculture, fish farming, nutrient, lysine, methionine, threonine.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, concomitante ao avanço das pesquisas com nutrição de peixes, alguns autores se dedicaram a revisar a literatura e reunir, qualitativamente ou quantitativamente, informações obtidas por experimentação empírica ou por modelagens matemática sobre a exigência de aminoácidos exógenos, discutindo os valores obtidos pelos artigos, a eficiência da abordagem utilizada, prováveis entraves, e as tendências para análises futuras em peixes (Ketola, 1982; Cowey, 1994; Ronnestad et al., 1999; Hauler & Carter, 2001; Bureau & Encarnação, 2006; Furuya & Furuya, 2010; Nunes et al., 2014).

Tal sùmula de conhecimentos promove elucidatões claras e de modo abrangente sobre aspectos da exigência de aminoácidos em várias espécies de peixes, sendo consolidada como uma ferramenta útil na etapa precedente a investigação do nutriente para espécies de interesse econômico que ainda não possuem os valores de exigência determinados, e como uma fonte segura de recomendações a serem seguidas pelas indústria de produção da dieta animal.

A nutrição de peixes com interesse no aproveitamento dos índices zootécnicos, requer com primazia a elaboração e oferta de dietas com alto valor nutricional, compostas essencialmente por aminoácidos que supram as exigências do peixe (Wilson, 2002; Furuya et al., 2011; Hua et al., 2019).

Aminoácidos são compostos estruturais das proteínas que, de modo geral, diferem entre si pela constituição da cadeia lateral e atuam em diversos locais do organismo animal executando funções distintas (Lehninger et al., 2002; Nelson & Cox, 2018). São precursores das bases nitrogenadas que formam os nucleotídeos e dos compostos de nitrogênio com origem não proteica e podem ou não ser sintetizados em quantidade suficiente pelo organismo animal (Nelson & Cox, 2018). Esta condição propiciou a classificação utilizada que os diferenciam em essenciais e não essenciais. Porém, tais terminologias vem sendo questionadas sob o discurso de que a essencialidade é uma característica abrangente a todos os aminoácidos da dieta, exógenos ou endógenos, que a contribuição individual com maior ou menor influência tem sua importância assegurada no balanceamento, e que para alguns, ainda que não sejam produzidos em quantidade satisfatória para ganhos produtivos, a síntese orgânica ocorre.

Dentre os aminoácidos de produção exógena, cuja suplementação dietética é indispensável, encontram-se a lisina, a treonina e a metionina, que possui exigência nutricional determinada através de métodos como o dose-resposta, o perfil de aminoácidos e o conceito de proteína ideal, podendo ser expressa pelo porcentual de proteína bruta tal como ocorre na determinação de exigências de animais terrestres (Andrade et al., 2015).

Os altos níveis de proteínas e aminoácidos nas dietas dos peixes eleva a taxa de excreção de nitrogênio, comprometendo a qualidade da água e o maior retorno financeiro dos investimentos com a parcela. O entrave é contornado com o conhecimento da exigência aminoacídica e inclusão de nutrientes cristalinos que permitem elaboração da dieta com níveis correspondentes ao máximo proveito do sistema biológico do peixe, reduzindo o desperdício de nitrogênio, favorecendo a sustentabilidade do meio (Araripe et al., 2011; Zaniboni et al., 2018).

A suplementação com aminoácidos nos níveis de exigência promovem condições benéficas como maior eficiência na rede imunológica e preservação da saúde do peixe, aumento no ganho de peso, maior rendimento do filé, melhor composição da carne e menor conversão alimentar, impulsionando o crescimento da indústria de pescado que contribui na manutenção dos recursos naturais das espécies cultivadas (Encarnação et al., 2004; Ahmed & Khan 2004; Brandão et al., 2009; Abimorad et al., 2010; Bomfim et al., 2010; Helland & Grisdale-Helland, 2011; Vásquez-Torres & Arias-Castellanos, 2013; Dairiki et al., 2013; Furuya et al., 2013).

O exposto evidencia a relevância das pesquisas com exigência e suplementação de aminoácidos para peixes em piscicultura e a importância em agrupar estudos sobre a fisiologia, metabolismo, e que apresentem os níveis de aminoácidos a serem incluídos nas dietas para ganhos zootécnicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de revisão literária foi realizado utilizando 94 artigos, e citações incluídas, publicados nas plataformas digitais Science Direct, World wide science, SciELO (Scientific Electronic Library Online) e Google Scholar, inserindo como chave de busca, nos idiomas português e inglês, as palavras peixe, aminoácido, lisina, treonina, metionina, exigência e nutrição.

O estudo foi organizado com abordagens sobre a utilização de aminoácidos na dieta de peixes, expondo o modo de absorção dos nutrientes e os resultados da participação na fisiologia e metabolismo, no primeiro tópico. No tópico seguinte, ocorre a descrição dos métodos utilizados para determinar a exigência aminoacídica. No penúltimo e no último tópico são apresentadas informações substanciais, tradicionais e atuais, sobre a suplementação de pesquisas com determinação da exigência de lisina, metionina, treonina e demais aminoácidos exógenos ao peixe.

Este conjunto de abordagens objetivou revisar informações sobre a importância da suplementação de aminoácidos exógenos nas dietas para peixes, respostas experimentais, métodos para determinação da exigência nutricional, e identificar exigências já determinadas a fim de apresentar de forma reunida níveis de exigências determinadas e contribuir para elaboração e análises de trabalhos futuros.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Digestão, absorção, exigência e suplementação de aminoácidos exógenos

Após a dieta ser desmembrada mecanicamente na cavidade bucal, as frações nutricionais seguem pelo trato digestivo até o estômago, onde são clivadas em meio ácido, e vão até o intestino, para continuidade do processo em pH alcalino com consequente absorção dos nutrientes (NRC, 2011; Portz & Furuya, 2012). No intestino dos peixes, as enzimas ativadas pelas enteroquinases, como a amilase, a lipase e as proteinases, degradam quimicamente as partículas que possuem maior quantidade de nutrientes organizados na dieta em porções energética (lipídios e carboidratos) e proteica (proteína e aminoácidos) (NRC, 2011).

As proteínas consumidas pelos peixes são catabolizadas durante a digestão enzimática resultando em aminoácidos biodisponíveis, ou livres, que são absorvidos na membrana plasmática dos enterócitos (células intestinais absorptivas e digestivas) presentes nas túnica intestinais (Rotta, 2003; Portz & Furuya, 2012). Apesar da possibilidade de absorção da macromolécula proteica, geralmente, os peixes absorvem com mais eficácia os aminoácidos que compõem a proteína, sendo o processo realizado por transportadores dependentes ou não de Na^+ , e por difusão, impulsionados pela bomba de sódio e potássio (Na^{+1}K^+). Na difusão os aminoácidos adentram os vasos sanguíneos distribuídos pelo intestino e são transportados para tecidos onde realizarão funções diversas (Rotta, 2003; NRC, 2011; Portz & Furuya, 2012).

Deste modo, o transporte de nutrientes, o fluxo sanguíneo, a captação do nutriente pelos tecidos dos órgãos e a atividade enzimática, estão entre os fatores que moderam o sistema metabólico singular e de alta complexidade dos aminoácidos (NRC, 2011).

O processo de transaminação inicia o catabolismo na maioria dos aminoácidos, por ação de aminotransferases, formando ácido glutâmico perante transferência do grupo α -amino para o carbono α -cetoglutarato. Os aminoácidos glicogênicos e cetogênicos como a treonina, triptofano, tirosina, isoleucina e fenilalanina, produzem glicose e corpos cetônicos, enquanto a

lisina e a leucina são exclusivamente cetogênicos, gerando metabólitos como acetoacetil-CoA ou acetil-CoA (Nelson & Cox, 2011).

Dentre os vários fatores que causam o catabolismo de aminoácidos, um fator comum é o desequilíbrio entre a oferta e a utilização do nutriente no organismo animal, todavia, aminoácidos ofertados em níveis equilibrados, respeitando características intrínsecas de cada espécie e a etapa de desenvolvimento da vida do peixe, proporcionam melhorias no desempenho zootécnico, no índice de sobrevivência, rendimento das porções comercializáveis, composição química do filé e do plasma, além de estimular a produção de metabólitos que colaboram na manutenção do sistema imunológico (Takishita et al., 2009; NRC, 2011; Ovie & Eze, 2013; Furuya et al., 2013).

Os aminoácidos catabolizados promovem grande contribuição no suprimento da demanda energética dos peixes, considerada baixa em relação a animais terrestres, sendo a explicação para maior exigência de proteína no crescimento dos teleósteos (Kaushik & Seiliez, 2010).

A proteína da dieta não possui controle absoluto sobre o catabolismo aminoacídico nos peixes e as exigências são influenciadas pelo consumo até o requerimento para máximo crescimento, o que esclarece a adaptação orgânica aos níveis elevados de proteínas nas dietas, e o metabolismo enzimático positivo perante ingestão de aminoácidos em algumas espécies (Dabrowski & Guderley, 2002; Kaushik & Seiliez, 2010; Hauler & Carter, 2011).

No entanto, é notada uma prevalência na expressão dos dados de exigência de aminoácidos para peixes em função da proteína da dieta por ser considerada uma relação que colabora com estabilidade dos valores para uma mesma espécie (Cowey, 1994; Hauler & Carter, 2011). Tal afirmativa não ocorre com todos os aminoácidos e em todas as espécies (Cowey, 1994), sendo sugestiva nestes casos específicos a utilização de valores percentuais dos aminoácidos em função do total da dieta.

Para otimizar a utilização dos aminoácidos pelos peixes, algumas estratégias são trabalhadas com base em pesquisas que consideraram o percentual e a relação de energia e proteína digestível, condicionando o “efeito poupador”, que os dispensa da função de prover energia para executar outras habilidades funcionais de interesse para produção, saúde ou manutenção da vida (Cho & Bureau, 2001; Nyina Wamwiza et al., 2005).

Peixes de piscicultura obtêm os aminoácidos não sintetizados pelo organismo e necessários para os sistemas biológicos, quase que totalmente das dietas comerciais, inseridos na forma intacta através do ingrediente natural como grãos e cereais, ou processadas industrialmente como cristais. Para espécies com exigência definidas, o uso dos aminoácidos

crystalinos auxilia na suplementação em níveis mais próximos da real necessidade de consumo, assegurando maior aproveitamento pelo organismo e promovendo diminuição do desperdício de nutrientes e redução de custos com a fração proteica da dieta, que é a parcela mais onerosa e infere até 70% dos investimentos com nutrientes (Furuya & Furuya, 2010; Silva et al., 2018). Porém, em função da preocupação existente com a eficiência dos nutrientes processados industrialmente, aminoácidos cristalinos ainda não são largamente utilizados na piscicultura, necessitando maior proximidade entre pesquisas, indústria de dieta animal e piscicultores (NRC, 2011).

Apesar de muitos estudos afirmarem a ação eficiente dos aminoácidos cristalinos na nutrição de peixes especialmente para aumentar o desempenho animal, mais estudos são necessários e tem sido realizados considerando a origem e o processamento do aminoácido, a influência do nutriente sobre a saúde, a genética, o metabolismo, a fisiologia, e o comportamento dos peixes, utilizando ferramentas como a hematologia, histologia, enzimologia, perfil aminoacídico e nutrigenômica.

É provável que a interferência na exigência nutricional de aminoácidos extrapole as condicionantes da dieta, e envolvam fatores ainda não considerados nos modelos analisados para exigência e que necessitam de maiores investigações, como qualidade da água, sistemas de produção e nível de estresse.

O hábito alimentar e a idade estão entre os fatores conhecidos que influenciam a exigência proteica, assim como os fatores antinutricionais e outros elementos associados ao alimento, como os baixos níveis de lisina ou metionina (Portz & Furuya, 2012).

Dietas para peixes, precisam conter todos os aminoácidos requeridos e não produzidos pelo sistema orgânico, que são a lisina, a treonina, metionina, arginina, triptofano, histidina, fenilalanina, valina, leucina e a isoleucina (Ruchimat et al., 1997; Wilson, 2002; Mai et al., 2006). No entanto, a quantidade necessária de cada aminoácido, para a maioria das espécies de peixes cultivadas ainda não está estipulada (Wilson, 2002; Tibaldi & Kaushik, 2005; NRC, 2011).

Mesmo que desafiador, considerando a variedade de espécies de peixes cultivadas mundialmente, e que necessitam dos valores exatos dos dez aminoácidos para melhor desempenho em cada fase da vida, balanceados na dieta com níveis ideais dos aminoácidos produzidos pelo corpo, e dos demais nutrientes, conhecer tais valores intrínsecos é essencial para o sucesso produtivo de cada espécie, proporcionando maiores ganhos para produtores. Desta forma, pesquisas com aminoácidos na nutrição de peixes são fundamentais para obtenção destas respostas imprescindíveis e, conseqüentemente, para a expansão da piscicultura.

Os aminoácidos lisina, treonina e metionina, tem sua importância ressaltada por atuarem diretamente na maximização do crescimento animal, condicionando performance mais elevada das fibras musculares no período do crescimento hipertrófico (Righetti et al., 2011; Michelato et al., 2016) e são largamente testados em diversos estudos experimentais utilizando várias espécies de peixes (Silva et al., 2006; Dairiki et al., 2007; Bomfim et al., 2008; Abimorad et al., 2010; Furuya et al., 2013; Bomfim et al., 2010).

De igual forma, outros aminoácidos exógenos, como a arginina e o triptofano, também são testados quanto ao uso e eficiência na nutrição de peixes. Além de ser precursor da síntese da creatina e de estimular produção de insulina e hormônios de crescimento, a arginina atua na excreção de nitrogênio, em especial, quando há excesso de aminoácidos essenciais na dieta ofertada, agindo antagonicamente sobre a lisina quando há desbalanceamento na relação entre estes aminoácidos (Furuya et al., 2013; Tu et al., 2015). Este mecanismo da arginina na eliminação de nitrogênio ao reagir com a lisina, para peixes, ainda requer mais pesquisas para elucidação.

Dietas suplementadas com triptofano proporcionam inibição da agressividade entre os peixes, redução do canibalismo, e diminui a reativação do eixo hipotálamo-pituitária - interrenal, quando há redução do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e cortisol. Esta redução hormonal proporciona melhoria das condições estressantes que, oportunamente, reduzem a frequência e a quantidade de alimentos ingeridos pelo peixe (Larson et al., 200; Cavalheiro et al., 2014).

3.2 Métodos comumente utilizados na determinação das exigências de aminoácidos

A exigência nutricional é a quantidade do nutriente necessária para que o animal mantenha suas atividades metabólicas e produtivas, e é determinada através de métodos científicos. Embora os estudos sobre exigências de aminoácidos em peixe sejam realizados há mais de seis décadas, o consenso sobre a utilização de um método único na determinação não foi estabelecido, o que facilitaria a posterior comparação dos resultados entre as pesquisas.

Dentre as várias técnicas utilizadas, o método quantitativo dose-reposta é a escolha de muitos pesquisadores para determinar a exigência de aminoácidos para as espécies de peixes (Tabela 1). Consiste na oferta de doses diferentes do aminoácido teste, com concomitante avaliação da resposta no animal, através de parâmetros do desempenho como a conversão alimentar e o ganho de peso (Furuya et al., 2006; Botaro et al., 2007; Abimorad et al., 2010; Zehra & Khan, 2014). As informações fornecidas pelo método possibilitam elaborar curvas

com tendência crescente até a inflexão, onde por análise de regressão é possível verificar o menor nível de adição para maior desempenho, e é seguido com projeções de formação de platô e de respostas decrescentes perante supersaturação (Euclides & Rostagno, 2001). Tais momentos da curva podem ser descritos, considerando o retorno fornecido pelo animal, como inicial, quando o nutriente apenas assegura a manutenção, como resposta, quando há melhorias nos parâmetros analisados, como estável, quando a evolução da resposta positiva cessa, e como tóxico, quando a adição do nutriente pode ocasionar prejuízos ao animal em função de interações antagônicas (Figura 1) (Euclides & Rostagno, 2001; Sakomura & Rostagno, 2007).

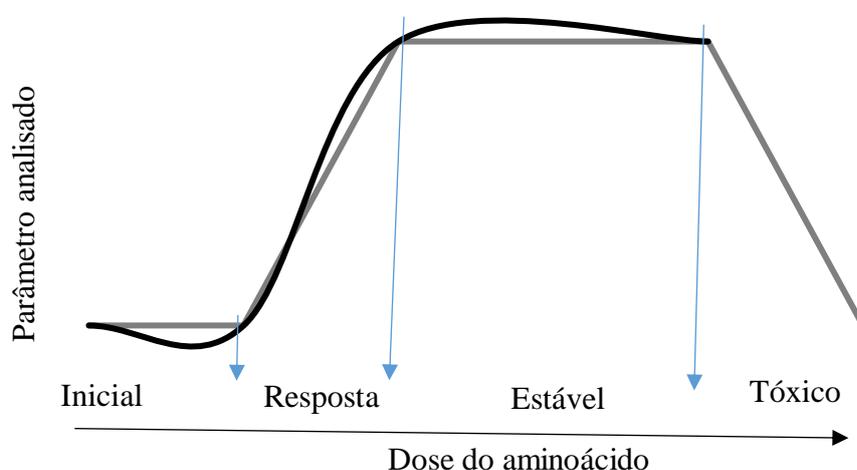


Figura 1. Infográfico do comportamento do peixe para um parâmetro analisado em relação a adição de um aminoácido testado pelo método dose-resposta, evidenciando os momentos caracterizados como: inicial, resposta, estável e tóxico.

Alguns entraves são detectados nas análises com dose resposta como a imprecisão na interpretação das curvas e resultados que não expressam a exigência dos aminoácidos através do alimento natural com proteína intacta. No entanto, peixes de produção são alimentados com dietas comercializadas, balanceadas com a proteína intacta, provenientes de vegetais, e aminoácidos cristalinos, e modelos matemáticos são estudados de modo que os dados equacionados se ajustem cada vez a realidade da relação biológica real entre o animal e o aminoácido.

Embora os dados obtidos sejam verificados com análise de variância seguida de teste de comparação de média, isoladamente, o modelo não confere a precisão necessária (Sakomura & Rostagno, 2007). Desta forma, as verificações prosseguem com análises de regressão em modelos lineares e não lineares como o *linear response plateau* (LRP) ou *broken line*,

exponencial, quadrático, quadrático com regressão segmentada e quadrático com platô, de acordo com adaptações estatística. Métodos lineares como o LRP não consideram aspectos fisiológicos e podem subestimar as informações, enquanto o modelo quadrático tende a superestimar a dose ótima, no entanto, modelos quadráticos se ajustam bem aos dados obtidos em análises de determinação de exigência nutricional (Sakomura & Rostagno, 2007).

O perfil de aminoácidos corporal é outra metodologia também utilizada por estudiosos para definir a exigência de aminoácidos em peixes, onde o perfil de aminoácidos disponibilizado na dieta supre toda demanda nutricional orgânica e propicia o crescimento ótimo (Conceição et al., 2003). O método é condicionado pela capacidade absorptiva individual dos aminoácidos e utiliza a relação entre cada aminoácido indispensável na dieta e a quantidade total de aminoácidos indispensáveis (relação A/E), somados a tirosina e cistina, no corpo do peixe, estabelecido inicialmente através do salmão prateado (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792) (Tabela 1) e na sequência, verificado para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) e (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) por Wilson & Cowey (1985).

O uso da relação A/E infere a necessidade de um aminoácido indispensável, normalmente o aminoácido mais limitante na dieta animal, que na nutrição de peixes é a lisina, o que possibilita produzir respostas superestimadas (NRC, 2011). O fato ocorre porque, ainda que entre 25 e 55% do aminoácido consumido seja depositado no corpo do peixe, alguns aminoácidos trabalham preferencialmente na deposição da proteína corporal, enquanto outros atuam no metabolismo do animal (Abimorad et al., 2010; Abimorad & Castellani, 2011).

Assumindo que a relação entre aminoácidos no tecido do músculo dos peixes constitui um perfil ideal, e considerando o método dose-resposta, convencionou-se a elaboração da técnica que utiliza o aminoácido referência (estabelecido no método base) e o perfil corporal do peixe, onde é possível estimar exigências de aminoácidos através de pesquisas que demandam menores investimentos quanto ao tempo e quanto a recursos financeiros (Pezzato et al., 2004; Dairiki et al., 2007; Bicudo & Cyrino, 2009; NRC, 2011).

As dietas formuladas para atender à exigência de proteína bruta contêm altos níveis de aminoácidos, ocasionando desbalanceamento na real exigência do peixe, que oxida a cadeia de carbono e desvincula-se do objetivo principal (Ronnestad et al. 2000). Porém, a exigência pode ser determinada através do conceito de proteína ideal, que, segundo o NRC (2011), é o melhor balanço possível no requerimento de aminoácidos para o desenvolvimento animal nos processos de manutenção biológica e crescimento.

Esta definição viabiliza a suplementação nutricional de aminoácidos na forma cristalina, em níveis adequados, maximizando a utilização da proteína ofertada e propiciando redução no

percentual desta sem comprometer os parâmetros produtivos, diminuindo a excreção de nitrogenados no meio, e assim, promovendo a sustentabilidade (Bureau & Encarnação, 2006; Botaro et al., 2007; Zaniboni et al., 2018). O conceito de proteína ideal alinhado ao método dose-resposta tem sido largamente utilizado em pesquisas com dietas compostas por aminoácidos cristalizados.

3.3 Outros métodos utilizados na determinação das exigências de aminoácidos

Além dos métodos consubstanciados de determinação de aminoácidos, modelos matemáticos (Tabela 1), estruturados pela integração de informações de diferentes abordagens metodológicas, são utilizados em vários trabalhos, permitindo a estimativa da exigência nutricional em função da composição da dieta, da etapa da vida, e da taxa de crescimento (Glencross, 2008; Hua et al., 2019). Estes modelos foram encontrados com aplicação na nutrição animal em trabalhos publicados desde a década de 60, impulsionados nas décadas seguintes e permanecem inseridos nos estudos atuais por possibilitar respostas com menor tempo e custo em relação a experimentação empírica (Tabela 1).

Todavia, para os modelos matemáticos são atribuídos questionamentos sobre o fato de estimar a exigência de aminoácidos de maneira independente, não considerando a interação destes com outros nutrientes importantes para manutenção do organismo, presentes na dieta do peixe (Shearer, 1995).

Outrossim, o estudo da oxidação dos aminoácidos nos tecidos é utilizado para determinar a exigência em peixes, considerando que para um aminoácido encontrado em concentrações restritas na dieta existe a possibilidade de menor oxidação (oxidação direta) e maior síntese de aminoácidos endógenos, sendo o comportamento oposto esperado para o excesso, levando os aminoácidos excedentes a oxidação (Ribeiro et al., 2008). A técnica, embora tenha sido utilizada na determinação de triptofano e de lisina, não mostrou eficiência na determinação de outros nutrientes como a arginina, não sendo recomendada por alguns autores (Tabela 1) (Wilson 1994; NRC, 2011).

A correlação entre aminoácidos biodisponíveis no sangue e no músculo do peixe também foi estudada para determinar exigência de aminoácidos na dieta, no entanto, em poucos casos a exigência dos aminoácidos foi confirmada por meio deste método (NRC, 2011).

Níveis mais estáveis de aminoácidos no plasma, são esperados mediante uso da metodologia com manejo alimentar configurada pela redução do intervalo de arraçamento para definição da exigência dos peixes (Rodehutsord et al., 2000). A alta absorção dos aminoácidos

ocasiona também redução das perdas de aminoácidos cristalinos por lixiviação, sendo estes, mais solúveis no meio aquático quando comparados aos ligados à proteína (Tantikitti & March, 1995; Zarate & Lovell, 1997; Furuya et al., 2013).

Tabela 1. Principais métodos utilizados na determinação de exigência nutricional em animais.

Método	Autores	Ano
Proteína ideal	Mitchel et al.	1964
Perfil de aminoácido	Arai	1981
Modelos matemáticos	Riggs	1963
	France et al.	1987
	Gill et al.	1989
Oxidação de aminoácidos	Brookes et al.	1973
	Kang-Lee & Harper	1977

Alterações no consumo da dieta podem ser indicativo para determinar a exigência de aminoácidos. A carência de triptofano, arginina, leucina, lisina ou metionina, podem resultar em significativa diminuição do consumo da dieta (Tibaldi & Kaushik, 2005; Kaushik & Seiliez, 2010). Todavia, é real a necessidade de mais estudos sobre os mecanismos que vinculam consumo de aminoácidos, exigência animal e interação de outros nutrientes.

A diversidade de metodologias atualmente utilizadas, pode ser responsável pela variabilidade observada nos resultados dos experimentos de determinação de exigências por aminoácidos dentro de uma mesma espécie, considerando que existe sinergismo e antagonismo entre os aminoácidos. O fato de as relações entre os aminoácidos permanecerem constantes nas várias fases de desenvolvimento dos peixes, ainda que as exigências venham a variar, sugere uma opção para padronizar e acelerar o conhecimento sobre as exigências aminoacídicas (Furuya et al., 2005; Araripe et al., 2011).

3.4 Suplementação do aminoácido lisina

Em investigações com exigências nutricionais, o aminoácido a lisina tem sido utilizada como referência para determinação dos demais aminoácidos no conceito de proteína ideal, dado a maior facilidade na sua quantificação e disponibilidade comercial de cristais com alta qualidade na forma de L-lisina HCl (Rollin et al., 2003; Furuya et al., 2004; Furuya et al., 2006; Nguyen & Davis, 2016).

A lisina é um aminoácido não sintetizado organicamente pelo peixe (exógeno), que possui características hidrofílicas, carga positiva, é especialmente direcionado para a deposição no tecido muscular dos peixes, participa da produção do colágeno junto a hidroxilisina, é precursor da carnitina (síntese de L-carnitina) atuante na beta-oxidação mitocondrial de ácido graxos e sua suplementação em dietas melhora percentual de sobrevivência, utilização da proteína pelo animal, crescimento e demais parâmetros de desempenho zootécnico (Murillo-Gurrea et al., 2001; Peres & Oliva-Teles, 2008; Nelson & Cox, 2011; Ovie & Eze, 2013; Furuya et al., 2013; Madrid et al., 2019). O desequilíbrio da lisina nas dietas propicia maiores entraves no ganho de peso dos peixes, enquanto níveis adequados promovem resultados opostos, aumentando a conversão alimentar, o crescimento, o rendimento de carcaça, a retenção de nitrogênio, além de prevenir doenças e danos nas nadadeiras (Rollin et al., 2003; Peres & Oliva-Teles, 2008; Takishita et al., 2009; Dairiki et al., 2013; Ovie & Eze, 2013; Furuya et al., 2013).

Conceitualmente, a lisina é o aminoácido mais limitante em alguns cereais e grãos de uso comum como fonte proteica na nutrição de peixes, sobretudo quando acrescentados na composição da dieta com objetivo de substituir ou reduzir a concentração da proteína animal (especialmente, farinha de peixe) e reduzir os custos (Mai et al., 2006; Ebeneazar et al., 2019). A limitação de um aminoácido remete a molécula de produção exógena incluída na dieta em concentração insuficiente para manutenção do bom desempenho produtivo do peixe, e a menor carência deste restringe o aproveitamento das demais.

De acordo com Forster & Ogata (1998) e Mai et al. (2006) a exigência de lisina na nutrição de peixes concentra-se entre 3,7% e 6,2% da proteína dietética (PD), mas, o NRC (2011) mantém os registros para lisina entre 5,0 e 6,8% da proteína ofertada na dieta.

Assim como acontece com a lisina, muitos trabalhos com exigência nutricional de outros aminoácidos essenciais, também estão concentrados em peixes na fase juvenil. Isto ocorre, especialmente em espécies de peixes considerados grandes na fase adulta, porque os investimentos em pesquisas são mais custosos, demandando estruturas laboratoriais maiores e recursos para elaboração e manutenção da dieta durante o experimento, além do fato de que a

atenção maior está voltada para as etapas de crescimento do peixe, onde há acelerada síntese proteica.

As exigências dos juvenis de yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel, 1845), grass carp ou carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella* Cuvier & Valenciennes, 1844), e totoaba (*Totoaba macdonaldi* Gilbert, 1890), foram determinadas respectivamente, 1,66, 2,07 e 1,64 % da dieta (Tabela 2) (Ruchimat et al., 1997; Wang et al., 2005; Madrid et al., 2019).

A exigência de lisina para a espécie introduzida, e altamente produzida no Brasil, tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), foi verificada para juvenis por Furuya et al. (2006), por Bomfim et al. (2010) e por Furuya et al. (2013), que encontraram os valores de, respectivamente, 1,44% (5,23% PD), 1,54% (5,5% PD) e 1,31% de lisina digestível.

Poucas espécies nativas possuem pesquisas com aminoácidos como ocorre com a exigência de lisina para o jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) e para o pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) (Tabela 2) (Montes-Girão & Fracalossi, 2006; Abimorad et al., 2010). O tambaqui (*Colossoma macropomun* Cuvier, 1818) possui a maior desvantagem em tecnologias nutricionais, apesar de ser a principal espécie nativa cultivada, tendo apenas pesquisa recente sobre concentração de lisina na fase inicial de vida, determinada como 2,00% de lisina total (Tabela 2). O fato evidencia a urgência de mais pesquisas que revelem as exigências dos peixes brasileiros com alto potencial produtivo, já inseridos na aquicultura no país e que carecem de informações para ajustamento nutricional a fim de aumentar a produtividade e a economia no cenário regional e nacional.

Tabela 2. Determinação de exigência de lisina em dietas para peixes.

Nome Popular	Espécie	Lisina (%)	Autor	Ano
Tilápia do Nilo	<i>Oreochromis niloticus</i>	1,44 LD ou 5,23 PD	Furuya et al.	2006
Tilápia do Nilo	<i>Oreochromis niloticus</i>	1.31 LD	Furuya et al.	2013
Tambaqui	<i>Colossoma macropomun</i>	1.78 LC ou 2.00 LD	Silva et al.	2018
Pacu	<i>Piaractus mesopotamicus</i>	1,64 LD	Abimorad et al.	2010
Jundiá	<i>Rhamdia quelen</i>	4.50 ou 5.10 PD	Montes-Girão & Fracalossi	2006
Bijupirá	<i>Rachycentron canadun</i>	2.33 LD ou 5.30 PD	Zhou et al.	2007
Bagre africano	<i>Clarias gariepinus</i>	5.70 PD	Fagbenro et al.	1998
Catfish	<i>Mystus nemurus</i>	3.47 PD	Tantikitti & Chimsung	2001
Yellowtail	<i>Seriola quinqueradiata</i>	1.66 LD ou 3.85 PD	Ruchimat et al.	1997

Red sea bream	<i>Pagrus major</i>	3.6 a 4.4 PD	Forster & Ogata	1998
Japanese flounder	<i>Paralichthys olivaceus</i>	3.3 a 4.6 PD	Forster & Ogata	1998
Japanese sea bass	<i>Lateolabrax japonicus</i>	2,49-2,61 LD ou 5.8-6.07PD	Mai et al.	2006
Turbot	<i>Scophthalmus maximus</i>	5,00 PD	Peres & Oliva-Teles	2008
Grass carp	<i>Ctenopharyngodon Idella</i>	2.07 LD ou 5.44 PD	Wang et al.	2005
Totoaba	<i>Totoaba macdonaldi</i>	1.64 LD ou 4,60 PD	Madrid et al.	2018
Silver pompano	<i>Trachinotus blochii</i>	2.40-2.45 LD ou 5.71-5.83PD	Ebenezar et al.	2019
Pebbly fish	<i>Alestes baremoze</i>	5.00 PD	Kasozi et al.	2019

PD: Proteína da dieta. LD: Lisina da dieta. LC: Lisina cristalina.

A formulação de dietas com eficácia nutricional depende, do adequado balanço no perfil de aminoácidos estabelecido a partir de dados consistentes sobre as exigências nutricionais (Bicudo & Cyrino, 2009) e o conhecimento sobre o requerimento de nutrientes, especialmente a lisina que é aminoácido referência, permite a formulação de dietas com exatos níveis de inclusão, atendendo às carências nutricionais intrínsecas para cada espécie e fase de vida.

A lisina cristalina foi introduzida nas dietas para peixes com intuito de equilibrar o balanceamento nutricional, considerando a carência dos ingredientes vegetais, e consolidou-se diante das observações positivas sobre os ganhos do animal (Cowey, 1994; Zarate & Lovell, 1997; Nguyen & Davis, 2016). As tecnologias atuais permitiram formulações com concentrado proteico de milho com altos níveis de lisina intacta para tilápia do Nilo (*O. niloticus*) e bagre americano (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), que segundo Nguyen & Davis (2016) possui a mesma eficácia da suplementação com lisina cristalina e maior aproveitamento econômico, além de grande concentração de metionina e outros aminoácidos.

De uma forma ou de outra, a lisina tende a permanecer como referência e a ser adicionada à dieta do peixe para impulsionar o crescimento animal, evidenciando que espécies com o nível ideal estabelecido são favorecidas perante o mercado considerando os maiores ganhos atribuídos em função do aminoácido.

3.5 Suplementação da treonina, metionina e demais aminoácidos exógenos

Para a produção de imunoglobulinas e de mucinas do trato gastrointestinal dos peixes, a treonina é o aminoácido mais limitante (Silva et al., 2006; Bomfim et al., 2008; Bomfim et al., 2014). Atua sintetizando proteína com a formação de colágeno e de elastina, impedindo o

acúmulo de gordura no fígado e estimulando o sistema imunológico e a atividade do timo (Ahmed, 2004; Cavalheiro et al., 2014).

A tabatinga ($5,31 \pm 0,24$ g), cruzamento de espécies nativas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*), foi investigada por Araripe et al. (2011) que verificaram a necessidade de 1,11% de treonina total nas dietas. O conceito de proteína ideal vinculado ao método dose-resposta foi utilizado por Silva et al. (2006) para determinar a exigência de treonina para tilápia do Nilo (*O. niloticus*) (38 a 351 g) que registraram necessidade de 1,35% de treonina na dieta (5,51% da proteína digestível) e aumento linear sobre os parâmetros de desempenho, enquanto Bomfim et al. (2008), encontraram níveis de treonina total e digestível de 1,11 e 0,99% para as melhores respostas sobre o desempenho de tilápia do Nilo ($1,64 \pm 0,03$ g).

O aminoácido exógeno metionina participa de funções fisiológicas, como crescimento do peixe, e funções metabólicas como o fornecimento de grupo metil via S-adenosil metionina (SAM) para reações de metilação (transmetilação) nos processos de produção de proteína, como a síntese de tiamina e colina, e como sua modificação em cistina (Piedras et al., 2004; Bender, 2003; Cavalheiro et al., 2014). Em conjunto com a lisina, a metionina forma a L-carnitina, precursor da carnitina que atua no carregamento intracelular de ácidos graxos para catabolismo na mitocôndria, auxiliando na regulação dos componentes químicos circulantes, especificamente triglicerídeos e colesterol, influentes na higidez do peixe (Walton et al., 1984).

Quando a exigência de metionina não é suprida a saúde do peixe fica propensa a sofrer com catarata, como registrado para trutas (Walton et al., 1984), além da inapetência e redução de crescimento animal. Porém, quando em excesso, a metionina pode prover altas taxas de aminoácidos para o sangue, sem absorção, o que igualmente proporciona redução no crescimento (Piedras et al., 2004). Dietas suplementadas de forma balanceada com metionina tendem a gerar peixes com maior retenção do nitrogênio e maior crescimento.

A metionina é comumente avaliada em ensaios experimentais juntamente com a cistina, em decorrência da probabilidade de ser catabolizada em cistina. Bomfim et al. (2008) verificaram que a elevação da relação metionina + treonina: lisina cristalina nas dietas no nível de 75,5% propiciou maior conversão alimentar, aumentou a eficiência de retenção de nitrogênio e do uso da proteína e lisina para ganho de tilápia do Nilo ($0,86 \pm 0,02$ g), sendo os melhores resultados de desempenho e características de carcaça obtidos com aminoácidos sulfurosos com 0,91 e 0,86% na dieta.

Para suplementação com aminoácidos cristalinos em dietas práticas voltadas para tilápia do Nilo, a recomendação do uso de 0,75% metionina é considerada elevada (NRC, 1993). O

fato foi concluído com base na relação metionina: cistina dos ingredientes normalmente utilizados em dietas comerciais, que é de aproximadamente 1:1, condicionando a vertente da inclusão de aminoácidos sulfurados em torno de 1,50%, elevando também o custo da produção (Furuya et al., 2013).

A suplementação de metionina cristalina para tilápia do Nilo cultivada no Brasil foi viabilizada pelos menores níveis de exigências de metionina estimados por meio de ensaios experimentais no país, onde foram determinados metionina + cistina como em aproximadamente 60% da lisina da dieta, ou 0,9% da lisina cristalina (Furuya et al., 2004; Bomfim et al., 2008; Quadros et al., 2009; Furuya et al., 2013).

Triptofano, arginina, fenilalanina, leucina, isoleucina e valina, além da importância no equilíbrio aminoacídico, possuem funções especializadas no sistema biológico do peixe. No entanto, mesmo para espécies de peixes como a tilápia do Nilo, que possui grande quantidade de pesquisas e de informações nutricionais, poucos são os dados disponíveis sobre as exigências destes aminoácidos, o que propicia o uso do perfil de aminoácidos na relação AAE/L para estimar o requerimento nutricional (Figura 2) (Teixeira et al., 2008; Furuya et al., 2013).

Kasozi et al. (2019) estimaram as exigências dos dez aminoácidos exógenos da dieta, somados a cisteína e tirosina (endógenos), para o teleósteo africano pebbly ou peixe dos seixos (*Alestes baremoze* Joannis, 1835). Os resultados expressos sob a concentração de lisina conhecida no percentual da proteína (5,00% de lisina para 100g de proteína) mostram uma similaridade com respostas verificadas na literatura para os onívoros tilápia do Nilo (*O. niloticus*), bagre americano (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), carpa comum (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), e aruanã africano (*Heterotis niloticus* Cuvier, 1829) (Figura 3) (Kasozi et al., 2019). A espécie africana é potencialmente produtiva, portanto, as estimativas são informações iniciais que precisam ser testadas pelo método dose-resposta. O caminho tomado pelos pesquisadores é propício para espécies ainda não efetivadas na piscicultura, no entanto, o mesmo percurso experimental necessita ser persistido, com ainda mais urgência, para as muitas espécies já inseridas lucrativamente em cultivos de peixe e que não possuem exigências de aminoácidos determinadas.

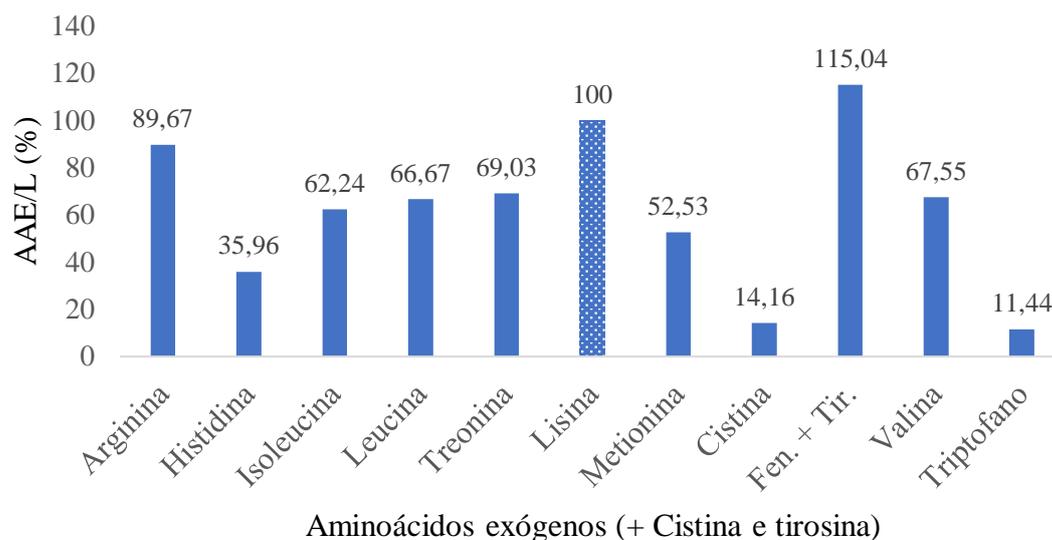


Figura 2. Infográfico da relação entre aminoácidos exógenos, incluindo cistina e tirosina, e o aminoácido referência lisina (AAE/L %) para tilápia do Nilo (*O. niloticus*) (Adaptado de Teixeira et al., 2008; Furuya et al., 2013).

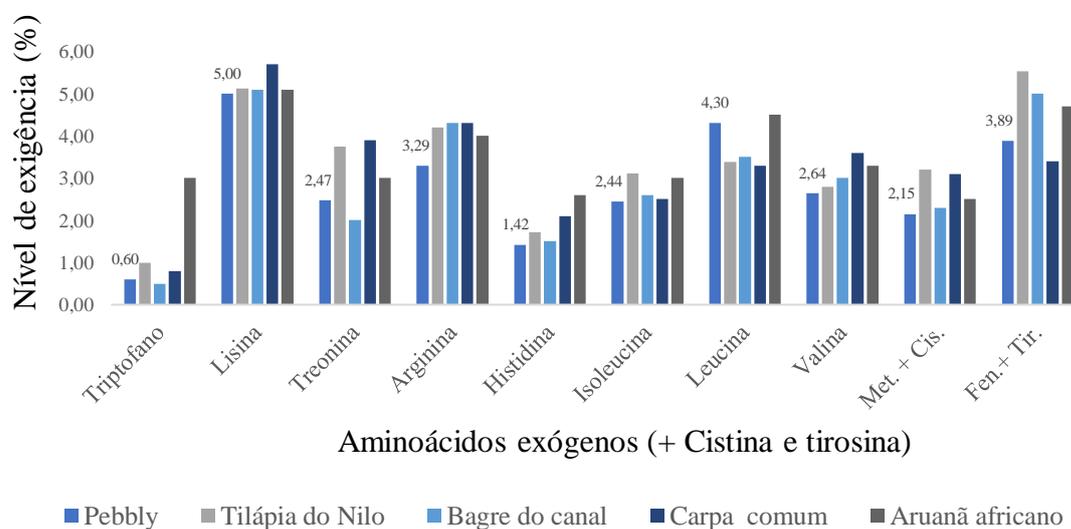


Figura 3. Infográfico da exigência de aminoácidos exógenos, incluindo cistina e tirosina, para os peixes onívoros juvenis pebbly (*Alestes baremoze*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), carpa comum (*Cyprinus carpio*), e aruanã africano (*Heterotis niloticus*), evidenciando o aminoácido limitante lisina (Adaptado de Kasozi et al., 2019).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para este trabalho de revisão de literatura, as considerações finais são de que há uma necessidade em continuar as pesquisas com aminoácidos para as tantas espécies de peixes produzidas, incluindo espécies nativas brasileiras, procurando acrescentar informações refinadas para as diferentes etapas de crescimento, aumentando a variabilidade dos testes biológicos e comportamentais, buscando padronização em relação a outras pesquisas já realizadas, possibilitando maior eficácia no uso dos aminoácidos expressos nos ganhos produtivos nas pisciculturas.

5. REFERÊNCIAS

- Abimorad, E. G., & Castellani, D. (2011). Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37(1), 31-38. DOI: <http://orcid.org/0000-0002-5000-4806>.
- Abimorad, E. G., Favero, G. C., Squassoni, G. H., & Carneiro, D. (2010). Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, 16(4), 370-377. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00674.x>.
- Ahmed, I., & Khan, M. A. (2004). Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture*, 235(1-4), 499-511. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.009>.
- Andrade, C. L., Rodrigues, F. S., Carvalho, D. P., Pires, S. F., & Pires, M. F. (2015). Nutrição e alimentação de tilápias do Nilo. *Revista Eletrônica de Nutrição*, 12(6), 4464-4469. ISSN: 1983-9006.
- Arai, S. (1981). A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, Tokyo 47: 547-550. DOI: <https://doi.org/10.2331/suisan.47.547>.
- Araripe, M. N. B. A., Araripe, H. G. A. A., Lopes, J. B., de Castro, P. L., Braga, T. E. A., Hosmylton, A., & Carvalho Ferreira, M. L. T. D. A. (2011). Redução da proteína bruta com

suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga. *R. Bras. Zootec*, 40(9), 1845-1850. ISSN: 1806-9290.

Bender, D. A. (2003). *Nutritional biochemistry of the vitamins*. Cambridge university press. ISBN-IO: 978-0-511-05732-8.

Bicudo, A. J. A., & Cyrino, J. E. P. (2009). Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(6), 818-823. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00303.x>.

Bomfim, M. A. D. (2014). Estratégias nutricionais para redução das excreções de nitrogênio e fósforo nos sistemas de produção de peixes no nordeste: sustentabilidade ambiental e aumento da produtividade. *Revista Científica de Produção Animal*, 15(2), 122-140. DOI: <https://doi.org/10.15528/2176-4158/rcpa.v15n2p122-140>.

Bomfim, M. A. D., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Abreu, M. L. T. D., Ribeiro, F. B., & Quadros, M. (2008). Reduction of crude protein with amino acid supplementation, based on ideal protein concept, in diets for Nile tilapia fingerlings. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(10), 1713-1720. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982008001000001>.

Bomfim, M. A. D., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Quadros, M., Ribeiro, F. B., & Souza, M. P. (2010). Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), 1-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000100001>.

Botaro, D., Furuya, W. M., Silva, L. C. R., Santos, L. D. D., Silva, T. S. D. C., & Santos, V. G. D. (2007). Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 517-525. ISSN on-line: 1806-9290.

Brandão, L. V., Guimarães, S. F., da Fonseca, F. A., & Pereira Filho, M. (2009). Suplementação de metionina e/ou lisina em rações para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672009000300024>.

Brookes, I. M., Owens, F. N., Brown, R. E., & Garrigus, U. S. (1973). Amino acid oxidation and plasma amino acid levels in sheep with abomasal infusions of graded amounts of

lysine. *Journal of animal science*, 36(5), 965-970. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1973.365965x>.

Bureau, D. P., & Cho, C. Y. (2001). A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture research*, 32, 349-360. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00027.x>.

Bureau, D. P., & Encarnação, P. M. (2006). Adequately defining the amino acid requirements of fish: the case example of lysine. *Avances en Nutrición Acuícola VIII: VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, Nuevo Leon, Mexico. Universidad Autónoma de Nuevo Leon*, 29-53. ISBN: 970-694-333-5.

Cavalheiro A. C. M., Castro. M. L. S., Einhardt M. D. S., Pouey J. L. O. F., Piedras S. N., Xavier E. G. (2014). Microingredientes utilizados em alimentação de peixes em cativeiro – Revisão. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 109, p. 11-20.

Cho, C. Y., & Bureau, D. P. (2001). A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture Research*, 32, 349-360. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00027.x>.

Conceição, L. E. C., Grasdalen, H., & Ronnestad, I. (2003). Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture*, 227(1-4), 221-232. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00505-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00505-2).

Cowey, C. B. (1994). Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture*, 124(1-4), 1-11. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90349-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90349-2).

Dabrowski, K.; Guderley, H. Intermediary metabolism. In: Halver, J.E.; Hardy, R.W. (Ed.) *Fish nutrition*. 3.ed. Washington: Academic Pres. p.309-365. (2002). eBook ISBN: 9780080494920.

Dairiki, J. K., Borghesi, R., Dias, C. T. S., Cyrino, J. E. P. Lysine and arginine requirements of *Salminus brasiliensis*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 48, n. 8, p. 1012-1020 (2013).

Dairiki, J. K., Dias, C. T. D. S., & Cyrino, J. E. P. (2007). Lysine requirements of largemouth bass, *Micropterus salmoides*: a comparison of methods of analysis of dose-

response trials data. *Journal of applied aquaculture*, 19(4), 1-27. DOI: https://doi.org/10.1300/J028v19n04_01.

Ebeneezar, S., Vijayagopal, P., Srivastava, P. P., Gupta, S., Varghese, T., Prabu, D. L., ... & Wilson, L. (2019). Dietary lysine requirement of juvenile Silver pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801). *Aquaculture*, 734234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734234>.

Encarnação, P., de Lange, C., Rodehutschord, M., Hoehler, D., Bureau, W., & Bureau, D. P. (2004). Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture*, 235(1-4), 569-586. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.001>.

Euclides, R. F., & Rostagno, H. S. (2001). Estimativa dos níveis nutricionais via experimentos de desempenho. In *Workshop Latino-Americano Ajinomoto Biolatina* (Vol. 1, pp. 77-88). São Paulo: p. 77-88.

Fagbenro, O. A., Balogun, A. M., Bello-Olusoji, O. A., & Fasakin, E. A. (1998). Dietary lysine requirement of the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 8(2), 71-77. DOI: https://doi.org/10.1300/J028v08n02_07.

Forster, I., & Ogata, H. Y. (1998). Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, 161(1-4), 131-142. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00263-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00263-9).

France, J., Gill, M., Thornley, J. H. M., & England, P. (1987). A model of nutrient utilization and body composition in beef cattle. *Animal Science*, 44(3), 371-385. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0003356100012307>.

Furuya, W. M., & Furuya, V. R. B. (2010). Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 88-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010001300010>.

Furuya, W. M., Botaro, D., Macedo, R. D., Santos, V. D., Silva, L. C. R., Silva, T. D. C., ... & Sales, P. J. P. (2005). Aplica o do conceito de proteína ideal para redu o dos níveis de

proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34(5), 1433-1441.

Furuya, W. M., Michelato, M., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Furuya, V. R. B., & de Moura, L. B. (2013). Exigência de lisina digestível para a tilápia do Nilo de 87 a 226 g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina: lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4), 1945-1954. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1945>.

Furuya, W. M., Santos, V. D., Silva, L. C. R., Furuya, V. R. B., & Sakaguti, E. S. (2006). Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 937-942. ISSN on-line: 1806-9290.

Furuya, W. M., Silva, L. C. R., Neves, P. R., Botaro, D., Hayashi, C., Sakaguti, E. S., & Furuya, V. R. B. (2004). Exigência de metionina+ cistina para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, 34(6), 1933-1937. ISSN: 0103-8478.

Furuya, W. M.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E.; Cyrino, J. E. P. (2011). Exigências nutricionais e alimentação de tilápia. In: Cyrino, J. E. P E Fracalossi, D.M. *Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira* (2011). ISBN: 978-85-60190-03-4.

Gill, M., Beaver, D. E., & France, J. (1989). Biochemical bases needed for the mathematical representation of whole animal metabolism. *Nutrition Research Reviews*, 2(1), 181-200. DOI: <https://doi.org/10.1079/NRR19890014>.

Glencross, B. D. (2008). A factorial growth and feed utilization model for barramundi, *Lates calcarifer* based on Australian production conditions. *Aquaculture Nutrition*, 14(4), 360-373. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00543.x>.

Hauler, R. C. & Carter, C. G. (2011). Effect of high digestible protein to digestible energy ratio on lysine utilisation by Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture*, 311(1-4), 209-214. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.045>.

Hauler, R. C., & Carter, C. G. (2001). Reevaluation of the quantitative dietary lysine requirements of fish. *Reviews in Fisheries Science*, 9(3), 133-163. DOI: <https://doi.org/10.1080/20016491101735>.

- Helland, S. J., & Grisdale-Helland, B. (2011). Dietary threonine requirement of Atlantic salmon smolts. *Aquaculture*, 321(3-4), 230-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.008>.
- Hua, K., Suwendi, E., & Bureau, D. P. (2019). Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 505, 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.030>.
- Kang-Lee, Y. A., & Harper, A. E. (1978). Threonine metabolism in vivo: effect of threonine intake and prior induction of threonine dehydratase in rats. *The Journal of nutrition*, 108(1), 163-175. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/108.1.163>.
- Kasozi, N., Iwe, G., Sadik, K., Asizua, D., & Namulawa, V. T. (2019). Dietary amino acid requirements of pebbly fish, *Alestes baremoze* (Joannis, 1835) based on whole body amino acid composition. *Aquaculture Reports*, 14, 100197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100197>.
- Kaushik, S. J., & Seiliez, I. (2010). Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, 41(3), 322-332. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x>.
- Ketola, H. G. (1982). Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Comparative Biochemistry*, 73(1), 17-24. DOI: [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(82\)90197-3](https://doi.org/10.1016/0305-0491(82)90197-3).
- Larson, E. T., Winberg, S., Mayer, I., Lepage, O., Summers, C. H., & Overli, O. (2004). Social stress affects circulating melatonin levels in rainbow trout. *General and comparative endocrinology*, 136(3), 322-327. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2004.01.005>.
- Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. *Lehninger: Princípios de Bioquímica*, 3 ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2002, 975p. ISBN: 8573781661.
- Madrid, J., Pohlenz, C., Viana, M. T., & Lazo, J. P. (2019). Dietary lysine requirement for juvenile, *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 500, 92-98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.003>.

- Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., ... & Liufu, Z. (2006). Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 258(1-4), 535-542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.043>.
- Michelato, M., de Oliveira Vidal, L. V., Xavier, T. O., de Moura, L. B., de Almeida, F. L. A., Pedrosa, V. B., ... & Furuya, W. M. (2016). Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. *Aquaculture*, 457, 124-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.022>.
- Mitchell, H.F. Comparative nutrition of man and domestic animals. New York: Academic Press, 1964. p.567-647.
- Montes-Girao, P. J., & Fracalossi, D. M. (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(4), 388-396. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00052.x>.
- Murillo-Gurrea, D. P., Coloso, R. M., Borlongan, I. G., & Serrano, A. E. (2001). Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*. *Journal of Applied Ichthyology*, 17(2), 49-53.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2018). *Princípios de Bioquímica de Lehninger-7*. Artmed Editora. ISBN: 97814641226116.
- Nguyen, L., & Davis, D. A. (2016). Comparison of crystalline lysine and intact lysine used as a supplement in practical diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 464, 331-339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.005>.
- NRC - National Research Council. *Nutrient requirement of fish and shrimp*. Washington, D.C.: National Academy of Science (2011). DOI: <https://doi.org/10.17226/13039>.
- NRC - National Research Council. *Nutrient requirement of fish*. Washington, D.C.: National Academy Press, 114pp (1993). ISBN: 978-0-309-04891-0.

- Nunes, A. J., Sá, M. V., Browdy, C. L., & Vazquez-Anon, M. (2014). Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. *Aquaculture*, 431, 20-27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.003>.
- Nyina-wamwiza, L., Xu, X. L., Blanchard, G., & Kestemont, P. (2005). Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. *Aquaculture Research*, 36(5), 486-492. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01233.x>.
- Ovie, S.O.; Eze, S. S. (2013). Lysine requirement and its effect on the body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, v. 8, n. 1, p. 94-100, DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/jfas.2013.94.100>.
- Peres, H., & Oliva-Teles, A. (2008). Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, 275(1-4), 283-290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.12.015>.
- Pezzato, L. E., Barros, M. M., Fracalossi, D. M., Cyrino, J. E. P. Nutrição de peixes. In: Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C., Fracalossi, D. M., Castagnolli, N. (Ed). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt., p. 75-169 (2004). ISBN: 001399295.
- Piedras, S. R. N., Pouey, J. L. O. F., & Rutz, F. (2004). Efeito da Suplementação de Metionina e/ou Lisina no Crescimento e na Sobrevivência de Alevinos de Peixe-rei (*Odontesthes bonariensis*). *R. Bras. Zootec*, 33(6), 1366-1371. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982004000600002>.
- Portz, L.; Furuya, W.M. Energia, proteína e aminoácidos. In: Fracalossi, D.M.; Cyrino, J.E.P. (Ed.). *Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p.65-77. (2012).
- Quadros, M., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Abreu, M. L. T. D., Ribeiro, F. B., & Takishita, S. S. (2009). Crude protein reduction and digestible methionine+ cystine and threonine to digestible lysine ratios in diets for Nile tilapia fingerlings. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(8), 1400-1406. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800002>.

- Riggs, D. S. (1963). *The Mathematical Approach to Physiological Problems*. Cambridge, MA: MIT. ISBN: 13: 9780262180467.
- Righetti, J. S., Furuya, W. M., Conejero, C. I., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., & Michellato, M. (2011). Redução da proteína em dietas para tilápias do Nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. *Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, 40(3), 469-476. ISSN: 1806-9290.
- Rodehutsord, M., Borchert, F., Gregus, Z., & Pfeffer, E. (2000). Availability and utilisation of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): 2. Comparison of l-lysine-HCl and l-lysine sulphate. *Aquaculture*, 187(1-2), 177-183. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00389-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00389-0).
- Rollin, X., Mambrini, M., Abboudi, T., Larondelle, Y., & Kaushik, S. J. (2003). The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *British Journal of Nutrition*, 90(5), 865-876. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN2003973>.
- Rønnestad, I., Conceição, L. E., Aragão, C., & Dinis, M. T. (2000). Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *The Journal of nutrition*, 130(11), 2809-2812. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/130.11.2809>.
- Rønnestad, I., Thorsen, A., & Finn, R. N. (1999). Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177(1-4), 201-216. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00082-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00082-4).
- Rotta, M. A. (2003). Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. *Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)*. ISSN: 1517-1973.
- Ruchimat, T., Masumoto, T., Hosokawa, H., Itoh, Y., & Shimeno, S. (1997). Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 158(3-4), 331-339. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00215-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00215-9).
- Sakomura, N. K.; Rostagno, H. S. (2007). Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep, p. 283. ISBN: 978-85-7805-154-9.

- Shearer, K. D. (1995). The use of factorial modeling to determine the dietary requirements for essential elements in fishes. *Aquaculture*, 133(1), 57-72. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00405-D](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00405-D).
- Silva, J. C., Bomfim, M. A. D., Lanna, E. A. T., Ribeiro, F. B., de Siqueira, J. C., de Sousa, T. J. R., ... & do Nascimento, D. C. N. (2018). Lysine requirement for tambaqui juveniles. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(5), 2157-2168. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n5p2157>.
- Silva, L. C. R., Furuya, W. M., dos Santos, L. D., Gomes, V., dos Santos, T. S. D. C., & Silva, P. J. P. (2006). Níveis de teonina em rações para tilápias do Nilo. *R. Bras. Zootec*, 35(4), 1258-1264. ISSN on-line: 1806-9290.
- Takishita, S. S., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Bomfim, M. A. D., Quadros, M., & Souza, M. P. (2009). Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(11), 2099-2105. ISSN on line: 1806-9290.
- Tantikitti, C., & Chimsung, N. (2001). Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). *Aquaculture Research*, 32, 135-141. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00011.x>.
- Tantikitti, C., & March, B. E. (1995). Dynamics of plasma free amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under variety of dietary conditions. *Fish Physiology and Biochemistry*, 14(3), 179-194. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00004309>.
- Teixeira, E. A., Crepaldi, D. V., Faria, P. M. C., Ribeiro, L. P., Melo, D. C. D., & Euler, A. C. C. (2008). Composição corporal e exigências nutricionais de aminoácidos para alevinos de tilápia (" *Oreochromis*" sp.). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9(2). ISSN: 1519 9940.
- Tibaldi, E., & Kaushik, S. J. (2005). Amino acid requirements of Mediterranean fish species. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 63(63), 59-65.
- Tu, Y., Xie, S., Han, D., Yang, Y., Jin, J., & Zhu, X. (2015). Dietary arginine requirement for gibel carp (*Carassis auratus* gibelio var. CAS III) reduces with fish size from 50 g to 150 g associated with modulation of genes involved in TOR signaling

- pathway. *Aquaculture*, 449, 37-47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.031>.
- Vásquez-Torres, W., & Arias-Castellanos, J. A. (2013). Crescimento de juvenis de *Piaractus brachypomus* alimentados com dietas contendo diferentes perfis de aminoácidos essenciais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 849-856. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800006>.
- Walton, M. J., Cowey, C. B., & Adron, J. (1984). The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*, 52(1), 115-122. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN19840077>.
- 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(1-4), 419-429. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.005>.
- Wilson, R. P. Amino acid requirements of fish. in: *Amino Acids in Farm Animal Nutrition*, J. P.F.D'Mello, ed. Wallingford, UK: CAB International. p. 377–399 (1994). ISBN: 0851988814.
- Wilson, R. P. Amino acids and proteins. In: Hardy, R.W. (Ed.) *Fish nutrition*. 3.ed. Orlando: Academic Press, p.144-179 (2002). eBook ISBN: 9780080494920.
- Wilson, R. P., & Cowey, C. B. (1985). Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, 48(3-4), 373-376. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90140-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90140-1).
- Wilson, R.P. and Cowey, C.B. (1985). Amino Acid Composition of Whole Body Tissue of Rainbow Trout and Atlantic Salmon. *Aquaculture*, 48, 373-376. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90140-1](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(85)90140-1).
- Zaniboni-Filho, E., Pedron, J. D. S., & Ribolli, J. (2018). Opportunities and challenges for fish culture in Brazilian reservoirs: a review. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s2179-975x12617>.

Zarate, D. D., & Lovell, R. T. (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(1-2), 87-100. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00184-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00184-1).

Zehra, S., Khan, M.A. (2014). Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Catla* (Hamilton) estimated by growth, protein retention efficiency, threonine deposition, haematological parameters and carcass composition, *Aquaculture Research*, 13(1). DOI: <https://doi.org/10.1111/are.12487>.

Zhou, Q. C., Wu, Z. H., Chi, S. Y., & Yang, Q. H. (2007). Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 273(4), 634-640. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.056>.

ARTIGO II

Liebl, A.R.S., Nascimento, M.S., Duncan, W.L.P., Bussons, M.R.F.M., Furuya, W.M., Oliveira, A.T. (2019). Exigência de lisina nas dietas de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) com base no desempenho produtivo e nas respostas da morfohistologia hepática e intestinal. Formatado segundo *Aquaculture Nutrition*, 34 p.

EXIGÊNCIA DE LISINA NAS DIETAS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) COM BASE NO DESEMPENHO PRODUTIVO E NAS RESPOSTAS DA MORFOHISTOLOGIA HEPÁTICA E INTESTINAL

Ariany Rabello da Silva Liebl^{1*}, Marcelo dos Santos Nascimento², Wallice Luiz Paxiúba Duncan³, Márcia Regina Fragoso Machado Bussons⁴, Wilson Massamitu Furuya⁵, Adriano Teixeira de Oliveira⁶

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos-CIPET, Faculdade de Ciências Agrárias - FCA, Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Avenida General Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 6200-Coroado I, Manaus-AM, 69067-005, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Nilton Lins, Av. Prof. Nilton Lins, 3259, Parque das Laranjeiras, Flores, 69058-030, Manaus, AM, Brasil.

³ Laboratório de Morfologia Funcional – LMF, Instituto de Ciências Biológicas - ICB, Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Avenida General Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 6200-Coroado I, Manaus-AM, 69067-005, Brasil.

⁴ Supervisora Técnica Operacional, Fazenda Dona Branca, 28860-000, Casimiro de Abreu, RJ, Brasil.

⁵ Departamento de Zootecnia - Bloco Z, Sala 101, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Avenida General Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas, 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

⁶ Instituto Federal do Amazonas – IFAM, Campus Centro, Avenida Sete de Setembro, Centro, Manaus – AM.

Correspondência

Ariany Rabello da Silva Liebl, Universidade Federal do Amazonas, Avenida General Rodrigo Octávio, Coroado I, 69077-000, Manaus, Amazonas, Brasil. Phone: +55 0923305 4063;

E-mail: ny.rabello@gmail.com

RESUMO

Este trabalho objetivou determinar a exigência de lisina com base no desempenho produtivo de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), e verificação da morfohistologia intestinal e hepática. Os juvenis ($33,88 \pm 2,47$ g e $11,72 \pm 0,36$ cm) foram distribuídos em 18 tanques (310 L), sob delineamento com tratamentos correspondentes as dietas contendo 6,60, 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total (respectivamente: 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g. Kg⁻¹ de L-lisina). As variáveis foram validadas com ANOVA, teste de Tukey e regressão quadrática e linear. Não foi observado efeito no ganho de peso relativo, consumo da dieta, índices de gordura visceral, teor de deposição de gordura, altura e perímetro do intestino anterior e sobre as taxas de crescimento específico, de eficiência proteica e de crescimento relativo para peso ($p > 0,05$). O peso final (80,69 g; $p = 0,01$), taxa de crescimento relativo para o comprimento (143,95%; $p = 0,02$), ganho de peso total (46,79 g; $p = 0,04$) e conversão alimentar aparente (1,45 g/g; $p < 0,001$), expressaram diferença em lisina total 15,96 g.Kg⁻¹, assim como estimado na regressão quadrática para a eficiência alimentar ($p = 0,02$). O consumo da lisina cresceu proporcionalmente aos níveis de lisina. Os pesos e os comprimentos dos intestinos, não alteraram ($p > 0,05$). A túnica serosa intestinal não se diferenciou ($p > 0,05$), enquanto a muscular anterior ($p < 0,001$), submucosa anterior ($p < 0,001$) e média ($p < 0,01$), e mucosa anterior ($p < 0,001$), variaram nas porções. A altura das vilosidades do intestino médio ($p = 0,01$) foi mais expressiva no nível de menor adição de L-lisina (9,72 g.Kg⁻¹ de lisina total, 4,00 g de L-lisina). O perímetro do nível 12,84 g.Kg⁻¹ foi superior ao do nível 22,20 g.Kg⁻¹ de lisina. No intestino posterior, as varrições verificadas na altura e no perímetro ($p = 0,00$; $p = 0,02$) não foram relacionadas com os níveis de lisina. Mucinas ácidas foram mais elevadas no intestino anterior com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina na dieta ($p = 0,001$). Foram identificadas alterações no índice hepatossomático ($p = 0,04$) e hepatodistrofias (degeneração hidrópica, desarranjo cordonal, hepatócitos com citoplasma claro e esteatose leve) nos fígados de peixes com baixos níveis de lisina. Conclui-se que a exigência de lisina nas dietas de juvenis de tambaqui para máximo desempenho é 15,96 g.Kg⁻¹ de lisina total ou 5,91% da proteína da dieta.

Palavras-chave: piscicultura, nutrição, aminoácido cristalino, produção animal, teleósteo

ABSTRACT

This work aimed to determine the lysine requirement based on the productive performance of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), and verification of intestinal and hepatic morphohistology. The juveniles (33.88 ± 2.47 g and 11.72 ± 0.36 cm) were distributed in 18 tanks (310 L), under a design with treatments corresponding to diets containing 6.60, 9.72, 12.84, 15.96, 19.08 and 22.20 g.Kg⁻¹ of total lysine (respectively: 0.00, 4.00, 8.00, 12.00, 16.00 and 20.00 g of L-lysine). The variables were validated with ANOVA, Tukey test and quadratic and linear regression. No effect was observed on relative weight gain, diet intake, visceral fat indexes, fat deposition content, height and perimeter of the intestine and on specific growth, protein efficiency and relative weight growth rates ($p > 0.05$). Final weight (80.69 g; $p = 0.01$), relative growth rate for length (143.95%; $p = 0.02$), total weight gain (46.79 g; $p = 0.04$) and apparent feed conversion (1.45 g / g; $p < 0.001$) expressed a difference in lysine 15.96 g.Kg⁻¹, as estimated in the quadratic regression for feed efficiency ($p = 0.02$). Lysine consumption increased in proportion to lysine levels. The weights and lengths of the intestines did not change ($p > 0.05$). The intestinal serous tunic did not differ ($p > 0.05$), while the anterior muscular ($p < 0.001$), anterior submucosa ($p < 0.001$) and medium ($p < 0.01$), and anterior mucosa ($p < 0.001$), varied in portions. The height of the midgut villi ($p = 0.01$) was more significant at the lowest L-lysine addition level (9.72 g.Kg⁻¹ total lysine, 4.00 g L-lysine). The perimeter of level 12.84 g.Kg⁻¹ was higher than the level of 22.20 g.Kg⁻¹ of lysine. In the posterior intestine, the variations in height and perimeter ($p = 0.00$; $p = 0.02$) were not related to lysine levels. Acid mucins were higher in the anterior intestine at 22.20 g. Kg⁻¹ of lysine in the diet ($p = 0.001$). Changes in the hepatosomal index ($p = 0.04$) and hepatodystrophies (hydropic degeneration, cordonal disruption, hepatocytes with clear cytoplasm and steatosis) were identified in fish livers with low lysine levels. It is concluded that the requirement of lysine in the diets of tambaqui juveniles for maximum performance is 15.96 g. Kg⁻¹ of total lysine or 5.91% of dietary protein.

Keyword: fish farming, nutrition, crystalline amino acid, animal production, teleost

1. INTRODUÇÃO

A lisina é um aminoácido exógeno, descrito como essencial, indispensável para as atividades fisiológicas dos peixes, e a L-lisina é sua forma biodisponível, absorvida pelas células das vilosidades intestinais e direcionada para tecidos e órgãos onde assume funções importantes, tais como a síntese de proteínas, deposição de fibras musculares, crescimento corporal, ganho de peso, conversão alimentar, além de contribuir para oxidação de ácidos graxos e melhoria das respostas imunológicas, e influenciar na estrutura histológica e fisiologia de tecidos em órgãos responsáveis pelo desempenho do animal como o intestino e fígado (Furuya et al., 2006; Furuya et al., 2013; Hua et al., 2019).

A lisina consumida pelos peixes cultivados tem procedência quase exclusiva das dietas industrializadas e seu melhor nível de inclusão pode ser determinado por meio de relações mínimas e proporcionais entre a lisina e os demais aminoácidos (proteína ideal), concomitante a expressão do desempenho do peixe perante o aumento dos níveis do nutriente limitante (método dose resposta) (Sakomura & Rostagno, 2007; Bomfim et al., 2010).

Os aspectos morfohistológicos dos órgãos digestivos são moldados pelos nutrientes das dietas com influência sobre a densidade das túnicas celulares e das células caliciformes, altura e perímetro das vilosidades, estando intimamente vinculados aos processos de digestão e defesa da mucosa intestinal que condicionam o desempenho dos animais e êxito da produção de peixes (Rotta, 2003; Rocha et al., 2016).

Aminoácidos são catalisados nos enterócitos da mucosa intestinal, que possuem ações digestórias e absorptivas, e se intercalam com outras células, incluindo as caliciformes que secretam mucinas ácidas ou neutras, durante absorção (NRC, 2011; Portz & Furuya, 2012). Células caliciformes tem características como as microvilosidades, que na presença de nutrientes pode aumentar a área de superfície em até 20 vezes, e por consequência, elevar a altura e o perímetro das vilosidades (Junqueira & Carneiro, 1999).

O tecido hepático é sensível a variações nas dietas sendo capaz de armazenar e produzir proteínas como a albumina e outros compostos nutricionais e disponibilizá-los via fluxo sanguíneo, além disso, a organização estrutural dos hepatócitos são influenciados e interferem em atividades biológicas vitais como a síntese e estocagem de lipídios, participando diretamente do provimento de energia e metabólitos essenciais para o desempenho do peixe (Pinheiro et al., 2017).

A inclusão de aminoácidos cristalinos nas dietas de peixes é investigada a fim de compreender o nível ótimo para espécies de interesse econômico, visando a adição de doses precisas com subsequente aumento da produtividade animal (Ahmed & Khan, 2004; Furuya et

al., 2006; Zhou et al., 2007; Grisdale-Helland et al., 2011; Michelato et al., 2016; Silva et al., 2018).

O tambaqui (*Colossoma macropomun* Cuvier, 1818) é um teleósteo nativo amazônico com hábito alimentar onívoro, excelente qualificação para a piscicultura e manejo não dificultoso sob confinamento, apresentando boa conversão alimentar, facilidade na aquisição de juvenis, rendimento do filé em torno de 27% do peso vivo, além de carne com textura e sabor fortemente apreciados pelo mercado na região Norte do Brasil (Araújo-Lima e Gomes, 2005; Souza & Inhamuns, 2011; Rodrigues et al., 2014; Buzollo et al., 2018).

Embora seja consubstanciada e crescente a produção do tambaqui em todo território brasileiro, as informações nutricionais existentes são insuficientes para elaboração de uma dieta intrínseca ao peixe, necessitando utilizar dados conhecidos para outras espécies de comportamento alimentar similar, desconsiderando peculiaridades estruturais do trato digestório, aptidões fisiológicas e metabólicas, na potencialização do desempenho animal (Rodrigues, 2014; Ribeiro et al., 2016), considerando a ausência de informações e a necessidade de uma dieta precisa, este trabalho objetivou determinar a exigência da lisina nas dietas para o desempenho de juvenis de tambaqui, e sua influência sobre a morfometria do tecido intestinal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ética animal

O experimento foi desenvolvido em conformidade com os regimentos dos princípios éticos na experimentação animal considerados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), mediante aprovação das Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUA's da Universidade Federal do Amazonas sob protocolo nº 005/2016 e da Universidade Nilton Lins sob protocolo nº 003/2017.

2.2. Local do experimento, aquisição e aclimação dos peixes

Foram adquiridos juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* com peso vivo médio inicial de $33,54 \pm 1,9$ g e comprimento de $11,72 \pm 0,36$ cm, transportados da Estação de Piscicultura de Balbina - Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura - CTTPA, Presidente Figueiredo - AM, até o Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos - LaPOAq da Universidade Nilton Lins - AM, onde permaneceram sob aclimação por dez

dias, com distribuição aleatória em 18 tanques (10 peixes/tanque) de polietileno (310 L), aerados, com filtro biológico, sendo arraçoados com dieta comercial (28% de proteína bruta) até o início do experimento.

2.2.1. Monitoramento da qualidade da água

Por todo o período experimental as concentrações de oxigênio dissolvido (mg. L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e o potencial hidrogeniônico (pH) foram mensurados diariamente com aparelho multiparâmetro (Horiba® G-50, Quioto, Japão). Amostras da água dos tanques experimentais foram coletadas semanalmente para a determinação das concentrações de nitrito (mg. L^{-1}) com kits colorimétricos (Alfakit®, Florianópolis, Brasil) seguindo protocolo do fabricante.

A qualidade da água foi mantida com auxílio de filtro biológico, sifonamento diário dos tanques e reposição do volume retirado (20%), com troca de 80% da quantidade a cada sete dias. A água de reposição foi armazenada sob aeração contínua em tanques com capacidade para 1000 L, submetidos a testes regulares para verificação do teor de cloro (Cloro Test, Labcon®, California, U.S.A).

Os índices de pH ($5,74 \pm 0,07$) foram mantidos entre 4,0 e 6,5 conforme recomendado para tambaqui por Aride et al. (2004). A temperatura da água dos tanques ($26,25 \pm 0,06$ $^{\circ}\text{C}$) foi mantida na zona térmica ótima para desenvolvimento de peixes de águas quentes (25 a 32 $^{\circ}$) (Rebouças, et al., 2014). As concentrações encontradas para oxigênio dissolvido ($4,95 \pm 0,32$ mg. L^{-1} ; acima de 4 mg. L^{-1}) são favoráveis para o cultivo de peixes (Boyd, 1990; Araujo-Lima & Gomes, 2005; Mendonça et al., 2012). Os valores de nitrito encontrados (0,00 e 1,0 mg/L), permanecem inferior a 0,1 mg. L^{-1} , teor estressante e que restringe o cultivo de peixes (Schimittou, 1993).

2.3. Dietas experimentais

Seis dietas (27 % de proteína bruta) contendo níveis do aminoácido lisina nas concentrações 6,60, 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 g. Kg^{-1} , respectivamente, 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g. Kg^{-1} de suplementação com L-lisina HCl (Ajinomoto®, Chuo, Japan) (Tabela 1), foram formuladas segundo Furuya et al., (2006) e Rostagno et al., (2011) e extrusadas (rosca simples: 2,5 mm) no Laboratório de Aquicultura do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus - Amazonas.

Para a extrusão, os ingredientes (Tabela 1) foram moídos finamente em moinho de faca (Tecnal®, Piracicaba, Brasil), somados aos aminoácidos cristalinos, homogeneizados e umedecidos (20% de água) a 50°C. As dietas confeccionadas foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C) por 24 horas, analisadas bromatologicamente (AOAC, 2005) e armazenadas para o fornecimento até a saciedade aparente (*ad libitum*) na frequência de quatro vezes ao dia (8, 11, 14 e 17 horas) para os juvenis de tambaqui monitorados por 90 dias.

Tabela 1. Valores calculados e determinados para as dietas elaboradas com níveis crescentes de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Ingredientes¹ (g.Kg⁻¹)	Lisina (g.Kg⁻¹)					
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20
Milho	356.20	360.20	364.20	368.20	372.20	376.20
Glúten de milho 60	230.00	230.00	230.00	230.00	230.00	230.00
Quirera de arroz	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
Farelo de trigo	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
Farinha de peixe	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
Fosfato bicálcico	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Óleo de soja	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Suplemento mineral e vitamínico ³	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Calcário calcítico	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Bicarbonato de sódio	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Antifúngico	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Antioxidante BHT ⁴	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Aminoácidos cristalinos¹ (g/Kg)						
L-ácido glutâmico	50.00	42.00	34.00	26.00	18.00	10.00
Dl-metionina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-triptofano	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
L-valina	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
L-arginina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-histidina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-isoleucina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-fenilalanina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50

L-treonina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-lisina	0.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00
Nutrientes ¹						
Proteína bruta ² (%)	26.62	27.16	26.40	26.97	26.83	27.67
Lipídios totais ¹ (%)	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Energia bruta (Kcal/Kg)	3601.0	3613.6	3626.2	3638.8	3651.4	3664.0
Umidade ² (%)	5.51	4.76	4.28	5.69	6.28	5.52
Minerais totais ² (%)	5.08	4.99	5.04	5.13	5.14	4.91
Cálcio ¹ (%)	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
Fósforo disponível ¹ (%)	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70

¹Composição calculada segundo Furuya et al. (2006) e Rostagno et al. (2011)

²Composição analisada (AOAC, 2005)

³Suplemento mineral e vitamínico (composição por kg do produto): Selênio: 75,00 mg; cobre: 2.000,00 mg; cloreto de colina: 125,00 g; manganês: 3750,00 mg; zinco: 20,00 g; ferro: 15,00; iodo: 125,00 mg; niacina: 7.800,00 mg; ácido fólico: 750,00 mg; ácido pantotênico: 3.750,00 mg; biotina: 125,00 mg; vitamina C 53,00 g; Iodo: 125,00 g; vitamina A: 2.000.000,00 UI I; vitamina D3: 500.000,00 UI; vitamina E: 15.000,00 UI; vitamina K3: 1.000,00 mg; vitamina B1: 2.500,00 mg; vitamina B2: 2.500,00 mg; vitamina B6: 2.000,00 mg; vitamina B12: 5.000,00 mg.

⁴BHT: Butil-hidroxi-tolueno

2.4. Coleta de dados

No período inicial do experimento (N=9) e no período final (n=9 peixes por dieta; N=54) os peixes, em restrição alimentar por 24 horas, foram escolhidos aleatoriamente, anestesiados (benzocaína 100 mg. L⁻¹), eutanasiados com anestésico em alta dosagem de (benzocaína 250 mg. L⁻¹) seguido de secção medular (Underwood et al., 2013). Na sequência, foram seccionados por incisão dorso ventral para extração, pesagem (0,001 g) e fixação dos tecidos hepático e intestinal em solução de Davison, e para retirada da gordura visceral verificada na análise de higidez. Os dados biométricos peso (g) e comprimento (cm) foram coletados utilizando balança digital (precisão de 0,001g; Gehaka®, São Paulo, Brasil) e ictiômetro.

2.5. Desempenho Zootécnico

Os parâmetros de desempenho zootécnico foram verificados através de fórmulas:

- Ganho de peso total, GPT (g) = Peso médio final (g) – Peso médio inicial (g);

- Ganho de peso realtivo, GPR (g) = $100 \times [(\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}) / \text{Peso inicial (g)}]$;
- Consumo da dieta, CD (g) = $\text{Peso final da dieta fornecida (g)} - \text{peso inicial da dieta fornecida (g)}$;
- Consumo de lisina cristalina, CL (g) = $[\text{Consumo da dieta (g)} \times \text{Nível da L-lisina (g)}] / 100$;
- Conversão alimentar aparente, CAA (g/g) = $\text{CD (g)} / \text{GPT (g)}$;
- Taxa de crescimento relativo para o peso, TCR-P (%) = $[\text{Peso final (g)} / \text{Peso inicial (g)}] \times 100$;
- Taxa de crescimento relativo para o comprimento, TCR-C (%) = $[\text{Comprimento final (cm)} / \text{Comprimento inicial (cm)}] \times 100$;
- Taxa de crescimento específico, TCE (%) = $100 \times \{[\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}] / \text{Tempo (dias)}\}$;
- Fator de condição, FC = $[\text{Peso (g)} \times 100] / \text{Comprimento (cm)}$;
- Taxa de eficiência alimentar, TEA (%) = $[\text{GPT(g)} / \text{CD(g)}]$;
- Taxa de eficiência protéica, TEP (%) = $[\text{GPT(g)} / \text{Proteína Bruta consumida(g)}] \times 100$;
- Taxa de eficiência da lisina, TEL (%) = $\{ \text{GPT(g)} / [\text{CD(g)} \times \text{Lisina(g)}] \} \times 100$.

Na verificação da higidez a gordura visceral e os fígados foram pesados em balança com precisão de 0,001g e calculados segundo Grisdale-Helland et al. (2011) e Furuya et al. (2004):

- IH= $(\text{Peso do fígado} / \text{Peso do peixe}) \times 100$; onde: IH= Índice hepatossomático;
- IGV= $(\text{Peso da gordura visceral} / \text{Peso do peixe}) \times 100$; onde: IGV= Índice de gordura visceral;
- TDG= $(\text{Peso da gordura visceral} / \text{Peso do peixe})$; onde: TDG= Teor de deposição de gordura.

2.6. Morfohistologia

Os tecidos hepáticos (n: 5/dieta) e os tecidos intestinais segmentados nas porções anterior (IA), média (IM) e posterior (IP) (n: 5/porção/ dieta), com cortes transversais, foram acondicionados em cassetes histológicos, fixados por 24 horas em solução de Davison (330 mL de álcool etílico 95%, 220 mL de formol 40%, 115 mL de ácido acético glacial, 335 mL de água destilada), desidratados em concentrações crescentes de álcoois e incluídos em resina

histológica (Technovit®, 71000, Kulzer Hanau, Germany) conforme protocolo estabelecido pelo fabricante.

As lâminas foram confeccionadas em triplicata na espessura de 3 µm, utilizando micrótomo semiautomático (SLEE®, CUT 5062, Mainz, Germany) no Laboratório de Morfologia Funcional da Universidade Federal do Amazonas - UFAM. Posteriormente, lâminas do fígado e do intestino foram coradas com hematoxilina e eosina – HE para análise da altura e perímetro das vilosidades intestinais, e verificação dos hepatócitos. As lâminas do intestino também receberam os corantes Azul de toluidina e Alcian Blue (AB) pH 2,5 para análises, respectivamente, da densidade das túnicas celulares serosa, muscular, submucosa e mucosa, e da densidade das células calciformes secretoras de mucinas ácidas. Todas as lâminas foram analisadas em microscópio óptico (Leica®, DM 500, Wetzlar, Germany) com câmera acoplada (32 megapixel) para captura de imagens.

Para a análise histomorfométrica, o peso (g), o comprimento total (cm) e o comprimento relativo dos intestinos (CRI: Comprimento do intestino/ comprimento do peixe) foram verificados, precedendo a confecção de lâminas (Rotta, 2003; Lopes et al., 2010).

A densidade (volume fracionário ou Delesse) das túnicas serosa, muscular, submucosa e mucosa das vilosidades intestinais nas porções segmentadas foi trabalhada para os tambaquis alimentados com dietas comerciais no período inicial e para os tambaquis nutridos com dietas experimentais, utilizando o software de avaliação estereológica STEPanizer® (Tschanz, Burri & Weibel, 2011).

Em cada lâmina histológica do IA, IM e do IP, quatro vilosidades foram selecionadas de acordo com a visibilidade das túnicas, sendo vinte vilosidades por porção (N: 60 por dieta). Sobreposto a imagem digital (20x) foram computados pontos equidistantes (144), desprezando espaços vazios ou conteúdos diferentes das túnicas e vilosidades analisadas.

A altura e o perímetro das vilosidades foram analisadas nos cinco peixes coletados (n: 4 vilosidades/peixe; N: 60 vilosidades por dieta) utilizando o software de avaliação histológica Image J® (SciJava consortium, Madison, U.S.A.). A altura foi verificada medindo do ápice a base de cada vilosidade e o perímetro, seguindo o contorno da área de cada vilosidade, conforme Ferreira et al. (2014).

2.7. Análise Estatística

O experimento foi organizado em delineamento inteiramente casualizado, contendo seis tratamentos e três repetições. Após as verificações da normalidade e da homogeneidade dos dados as informações foram submetidas a Análise de Variância (ANOVA) ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), teste de comparação múltipla de Tukey, e verificação com modelos de regressão quadrática e linear. Todas as análises estatísticas foram realizadas com uso do software estatístico R® (r-project, Auckland, Nova Zelândia), versão 3.5.3.

3. RESULTADOS

3.1. Desempenho zootécnico

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos para os parâmetros de peso inicial, ganho de peso relativo, fator de condição, consumo da dieta e taxa de crescimento específico ($p > 0,05$) (Tabela 2).

A inclusão dos níveis de lisina não reduziu o consumo da dieta, e o consumo da lisina cristalina (L-lisina) expressou crescimento positivo ($p = 0,00$) mediante acréscimo dos níveis da dieta sob efeito da regressão logística [$y = 1.6032 + 16.2419 (+2.3454x)$; $R^2 = 0.97$].

Para o peso final (PF) foi verificado diferença significativa na ANOVA ($p = 0,01$) e efeito linear positivo para a inclusão de níveis de lisina suplementada com L-lisina na dieta ($y = 61,59 + 9,28x$; $p < 0,001$). Os níveis com $15,96 \text{ g. Kg}^{-1}$ de lisina e $22,20 \text{ g. Kg}^{-1}$ de lisina (respectivamente, 12,00 e 20,00 g de L-lisina) apresentaram maiores pesos finais pelo teste de comparação de médias (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de desempenho e taxas nutricionais de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.

Desempenho produtivo	Lisina (g. Kg ⁻¹)						DP	CV (%)	P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20			
Peso inicial (g)	31.00	32.20	32.97	33.90	34.43	38.80	2.47	1.44	0.07
Peso final (g)	58.09 a	68.02 a	67.84 a	80.69 b	70.79a	79.86 b	7.72	2.15	0.01 *
Ganho de peso total (g.peixe ⁻¹)	27.09 a	35.82 a	34.87 a	46.79 b	36.36a	41.06 a	6.01	3.20	0.04 *
Ganho de peso relativo (%)	87.39	111.24	105.79	138.01	105.59	105.84	14.98	2.65	0.28

Conversão alimentar aparente (kg.kg ⁻¹)	2.12 a	1.76 a	1.74 a	1.45 b	1.73 a	1.74 a	0.20	2.15	0.00 *
Taxa de crescimento específico (%)	0.30	0.36	0.35	0.42	0.35	0.35	0.03	1.84	0.29
Fator de condição final (g.cm ⁻¹)	1.97	1.94	1.94	1.78	1.72	1.85	0.09	0.97	0.25
Consumo da dieta (g)	57.45	62.87	60.70	67.79	62.80	71.45	4.59	1.42	0.23
Consumo de lisina cristalina (g)	0.00	0.25 b	0.49 c	0.81 d	1.13 e	1.43 f	0.49	16.93	0.00 *
IH (%)	1.82 ab	2.49 a	1.16 b	1.59 ab	1.94 ab	2.17 ab	0.42	22.70	.04*
IGV (%)	2.88	3.14	2.58	2.31	3.08	3.03	0.30	10.53	0.24
TDG (g)	2.28	2.66	2.21	1.84	2.83	2.26	0.32	13.69	0.27

Taxas nutricionais e de crescimento

Taxa de crescimento específico (%)	0.30	0.36	0.35	0.42	0.35	0.35	0.03	1.84	0.29
TCR-P (%)	188.12	211.16	206.21	240.26	206.09	207.24	15.45	1.42	0.31
TCR-C (%)	120.35 a	128.45 a	130.43 a	143.95 b	140.63 a	135.78 a	7.88	1.15	0.02*
TEP (%)	1.77	2.12	2.18	2.52	2.15	2.01	0.22	2.01	0.10
TEA (%)	0.47	0.57	0.57	0.69	0.57	0.58	0.06	2.09	0.06
TEL (%)	0.0 a	142.80 d	72.14 c	57.30 c	36.00 b	28.81 b	40.71	12.96	0.00*

IH: Índice hepatossomático; IGV: Índice de gordura visceral; TDG: Teor de deposição da gordura visceral; TCR-P: Taxa de crescimento relativo (peso); TCR-C: Taxa de crescimento relativo (comprimento); TEP: Taxa de eficiência proteica; TEA: Taxa de eficiência alimentar; TEL: Taxa de eficiência da L-lisina.

¹Desvio padrão; ²Coefficiente de variação; ³Análise de variância (p<0,05); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Na análise de regressão do ganho de peso total (GPT) a variável apresentou resposta ascendente e exponencial (p<0,02) na proporção em que o aminoácido lisina foi adicionado à dieta [$y = 1,4887^{(0,04x)}$; $R^2 = 0,27$], e o melhor resultado foi verificado no nível de 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total.

Outrossim, para a conversão alimentar aparente (CAA), onde o resultado de 1,45 Kg. Kg⁻¹ observado no nível com 15,96 g de lisina (p= 0,03) foi a resposta mais satisfatória. Foram verificados valores decrescentes que melhor se ajustaram ao modelo estatístico de regressão quadrática ($y = 2.10619048 - 0.84142857x + 0.34523810x^2$; $R^2 = 0.47$) com lisina total na dieta estimada em 15,97 g. Kg⁻¹, proporcionando CAA de 1,59 Kg. Kg⁻¹ (p<0,01) (Figura 1).

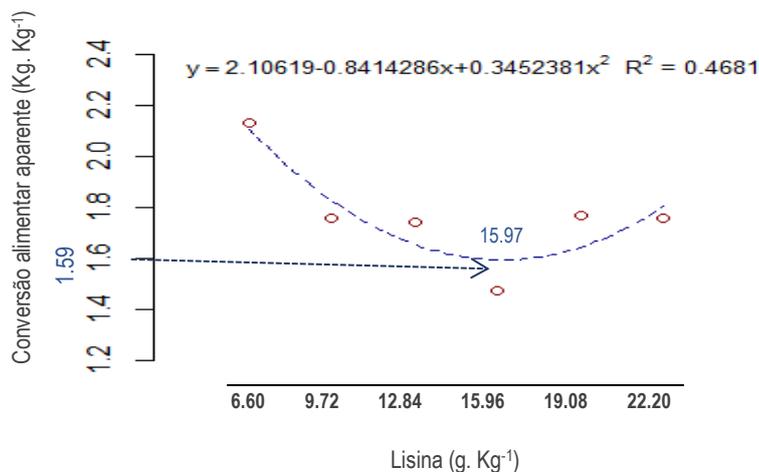


Figura 1. Efeito da regressão quadrática na relação da conversão alimentar aparente - CAA com os níveis de lisina em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Nas taxas do crescimento relativo para o peso, da eficiência proteica e eficiência alimentar não foram constatadas variações entre as médias (Tabela 2). A taxa de eficiência da lisina cristalina (TEL) decresceu com aumento dos níveis a partir da menor adição de L-lisina (0,40 g de L-lisina em 9,72 g.Kg⁻¹ de lisina total) (p<0,001).

A tendência da taxa de eficiência alimentar (TEA) sob efeito quadrático foi expressa pela equação $y = 0,4728 + 0,26x - 0,1078x^2$, com a TEA estimada em 0,63 no nível lisina 15,96 g.Kg⁻¹ (p<0,02) (Figura 2).

A taxa de crescimento relativo para o comprimento (TCR-C) evoluiu positivamente sob influência dos níveis de lisina até 15,96 g.Kg⁻¹, com aumento do comprimento em até 143,9% em relação ao tamanho inicial (11,72 ± 0,36 cm), seguido de redução até a máxima concentração do aminoácido na dieta (Figura 2).

Na equação da TCR-C sob efeito quadrático ($y = 119,0607 + 28,27625x - 9,593006x^2$) o X crítico foi de 14,70 g.Kg⁻¹ de L-lisina ou 17,82 g.Kg⁻¹ de lisina total, com previsão do percentual de 139,89% para a variável analisada (p<0,04) (Figura 2).

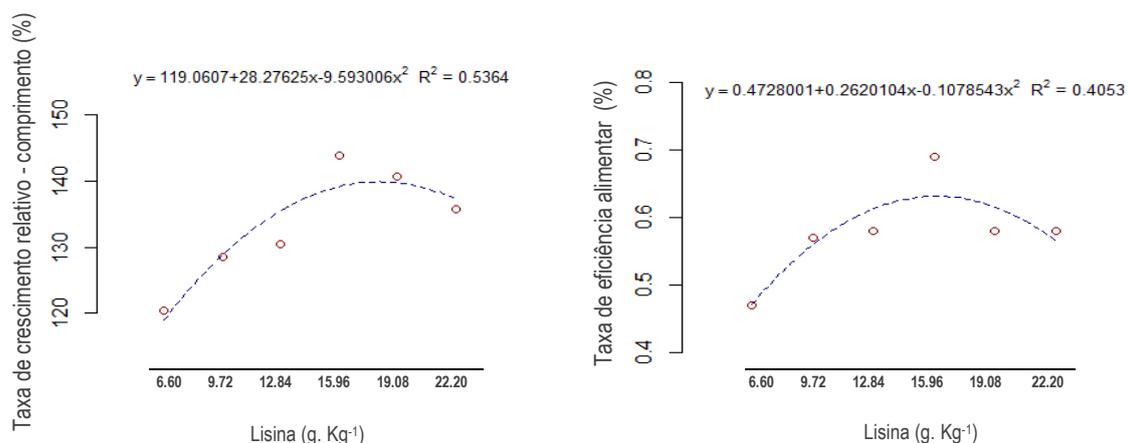


Figura 2. Efeito da regressão quadrática sobre a taxa de crescimento relativo para o crescimento e sobre a taxa de eficiência alimentar dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com níveis de lisina.

As informações obtidas para o índice de gordura visceral e para o teor de deposição de gordura não foram significativas nas análises de variância e de regressão ($p > 0,05$) (Tabela 2). Porém, o índice hepatossomático foi influenciado pelo efeito do tratamento nos níveis 9,72 e 12,84 g. Kg⁻¹ de lisina, quando comparados entre si ($p = 0,04$) (Tabela 2).

3.2. Morfohistologia intestinal

As médias dos pesos e dos comprimentos totais e relativos dos intestinos não diferiram entre si para os juvenis de tambaqui dos tratamentos com lisina ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Morfometria do intestino dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob dietas contendo níveis de lisina.

Intestino	Lisina (g. Kg ⁻¹)						¹ DP	² CV (%)	³ P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20			
PIn (g)	0.41	0.56	0.35	0.40	0.50	0.57	0.082	3.55	0.22
CI (cm)	17.67	20.66	18.71	20.54	22.81	22.04	1.777	1.71	0.16
CRI	1.25	1.33	1.20	1.27	1.37	1.33	0.055	0.83	0.59

PIn: Peso total do intestino (g); CI: Comprimento do intestino (cm); CRI: Comprimento relativo do intestino (cm.cm⁻¹).

¹Desvio padrão; ²Coefficiente de variação; ³Análise de variância ($p < 0,05$); P: Probabilidade de significância.

Na verificação da densidade das túnicas celulares do intestino de peixes que receberam dietas elaboradas com níveis de lisina e dos peixes do período inicial não foram identificadas diferenças significativas para a túnica serosa nas porções anterior ($p=0,27$), média ($p=0,25$) e posterior ($p=0,17$).

Com exceção dos juvenis alimentados com $12,84 \text{ g. Kg}^{-1}$ de lisina, houve diferença estatística na túnica muscular (MU) anterior em todos os tratamentos quando comparados aos peixes coletados no período inicial. Nas porções média e posterior, o percentual de túnica muscular não foi influenciado pelos níveis de lisina ($p>0,05$) (Tabela 4).

Na submucosa intestinal (SM) da porção anterior foi identificada diferença entre os tambaquis de todos os níveis de lisina e os tambaquis do período inicial ($p=0,00$) (Figura 3). No intestino médio, a submucosa apresentou alteração ($p=0,01$) sob influência da dieta com lisina em $9,72 \text{ g. Kg}^{-1}$ em relação a lisina $15,96 \text{ g. Kg}^{-1}$ e lisina $22,20 \text{ g. Kg}^{-1}$. Não foram verificadas alterações com significância na submucosa do intestino posterior ($p>0,05$) (Tabela 6).

Para a túnica mucosa (MC) do intestino anterior foi constatada influência de lisina sobre todos os tratamentos do período final comparados com o período inicial (Figura 3), e alteração entre as dietas com $15,96$ e $19,08 \text{ g. Kg}^{-1}$ de lisina ($p=0,00$). Nas porções média e posterior do intestino dos juvenis de tambaqui, a significância estatística entre as dietas experimentais não foi registrada ($p>0,05$).

Tabela 4. Densidade (volume fracional ou Delesse) das túnicas celulares serosa, muscular, submucosa e mucosa das porções anterior, média e posterior das vilosidades intestinais dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob dietas com inclusão de lisina (g. Kg^{-1}).

Túnicas intestinais (%)	Lisina (g. Kg^{-1})							¹ DP	² CV (%)	¹ P
	Inicial	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20			
Serosa										
Anterior	10.75	13.59	10.62	11.94	13.86	14.78	9.77	1.77	2.73	0.25
Médio	6.38	8.87	7.15	9.09	8.09	5.83	6.07	1.24	3.19	0.27
Posterior	13.66	11.75	8.83	9.09	12.54	10.59	9.99	1.67	3.16	0.17
Muscular										
Anterior	12.86 b	21.20 a	14.52 a	15.91 ab	16.89 a	15.34 a	12.51 a	2.71	3.23	0.00 *
Médio	8.81	11.09	12.28	11.56	10.94	10.01	12.78	2.71	3.23	0.35
Posterior	16.57	18.77	15.41	11.56	15.51	15.19	13.79	2.07	2.71	0.29
Submucosa										

Anterior	16.24 b	28.80 a	12.21 a	17.05 a	17.13 a	19.31 a	13.50 a	5.02	5.31	0.00 *
Médio	7.91 ab	10.63 ab	8.95 b	13.22 ab	9.61 a	8.70 ab	11.27 a	5.02	5.31	0.01 *
Posterior	13.48	17.51	14.55	13.22	15.22	13.67	14.92	1.36	1.83	0.14
Mucosa										
Anterior	59.96 a	36.41 bc	62.62 bc	55.10 bc	52.03 b	50.57 c	64.21 bc	8.77	3.41	0.00 *
Médio	76.90	69.41	71.62	66.13	71.35	75.46	69.88	8.77	3.42	0.16
Posterior	56.29	51.96	61.22	66.13	56.73	60.55	61.30	4.23	1.42	0.23

¹Desvio padrão; ²Coefficiente de variação; ³Análise de variância ($p < 0,05$); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

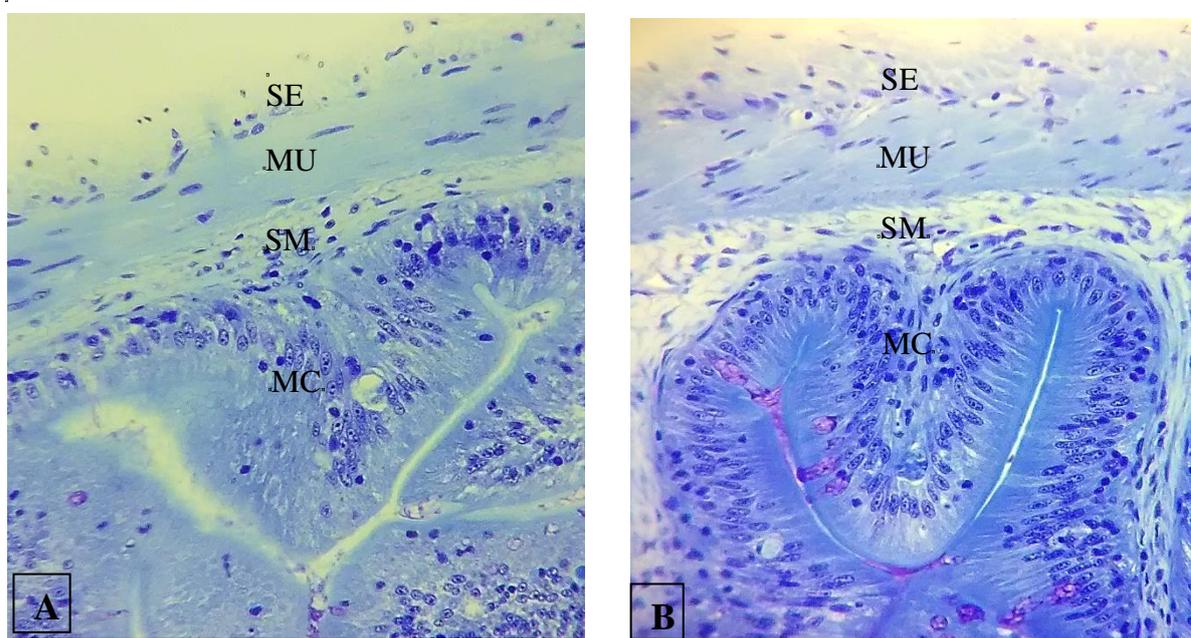


Figura 3. Fotomicrografia das vilosidades do intestino anterior evidenciando as túnicas serosa (SE), muscular (MU), submucosa (SM) e mucosa (MC) do juvenil de tambaqui (*Colossoma macropomum*) do período inicial da experimentação (isento da nutrição com dietas experimentais) (A) e do período final (B). Azul de toluidina, Objetiva 40x.

Na verificação das vilosidades do intestino anterior sob Regressão linear, o perímetro foi estimado pela equação $y = 4655,23 + 442,23x$, $R^2 = 0,27$. No intestino médio, a menor e a maior altura foram verificadas em, respectivamente, $19,08 \text{ g. Kg}^{-1}$ e $9,72 \text{ g. Kg}^{-1}$ ($p = 0,01$), sendo o menor e o maior perímetro verificados em $19,08 \text{ g. Kg}^{-1}$ e $12,84 \text{ g. Kg}^{-1}$, respectivamente ($p = 0,04$). No perímetro ($p = 0,00$) e na altura ($p = 0,02$) das vilosidades do intestino posterior, a alta variabilidade expressa impossibilitou associação com efeitos ocasionados pelos níveis de lisina (Tabela 5).

As células caliciformes (AB positivo em pH 2,5; glicoproteínas ácidas) do intestino médio e posterior não se diferenciaram. No intestino anterior, o nível com lisina 22,20 g. Kg⁻¹ apresentou elevação em relação aos demais (p=0,001), e pela equação quadrática $y=9,773164-17,70579x+12,94298x^2$, R²=0,38, o nível crítico de lisina foi determinado em 0,68 g. Kg⁻¹, sendo o número de células 3,71 mm².

Tabela 5. Células caliciformes (CC), altura e perímetro das vilosidades intestinais nas porções anterior, média e posterior dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob dietas com inclusão de lisina (g. Kg⁻¹).

	Lisina (g. Kg ⁻¹)						¹ DP	² CV (%)	³ P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20			
IA									
Altura									
(μm)	143.91	141.58	148.28	136.95	121.28	126.12	96.50	1.35	0.10
Perímetro									
(μm)	451.60	453.28	451.25	417.75	368.62	385.27	339.69	1.53	0.05
CC									
(mm ²)	6.50 a	7.71 a	8.92 a	6.99 a	4.33 a	31.82 b	9.39	23.61	0.001*
IM									
Altura									
(μm)	150.68ab	537.32b	136.09a	111.72a	88.57a	98.93a	157.97	15.17	0.01*
Perímetro									
(μm)	400.27ab	357.46ab	450.40a	421.86ab	339.97ab	335.21b	43.07	2.12	0.04*
CC									
(mm ²)	2.17	20.25	22.18	25.32	15.91	14.95	7.43	8.41	0.56
IP									
Altura									
(μm)	161.94a	73.78ab	71.02b	159.98 ac	95.36 abc	103.56 abc	371.44	6.41	0.02*
Perímetro									
(μm)	424.09c	287.08ab	291.29ab	193.80 a	321.52 bc	326.59bc	680.23	4.32	0.00*
CC									
(mm ²)	2.65	1.69	13.98	10.37	12.06	20.98	6.62	14.97	0.21

IA: Intestino Anterior; IM: Intestino Médio; IP: Intestino Posterior. CC: Células caliciformes.

¹Desvio padrão; ²Coefficiente de variação; ³Análise de variância ($p < 0,05$); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3. Morfohistologia hepática

Macroscopicamente, os tecidos hepáticos coletados apresentaram colorações marrom avermelhada e marrom em tom suavemente mais pálido. Na análise microscópica, o parênquima evidenciou hepatócitos com formato poliedral, redondo irregular e hexagonal, com núcleo centralizado (Figura 4 - b).

A presença de lipídios sobre os hepatócitos foi detectada em todos os tratamentos com dietas sob níveis de lisina cristalina, porém, tal presença não foi verificada para amostras de fígado dos peixes alimentados com dieta comercial e coletados no primeiro dia do experimento.

Nos tecidos dos peixes alimentados com dietas sem inclusão da L-lisina e com os níveis mais elevados (15,96; 19,08 e 22,20 g. Kg⁻¹) os lipídios estavam em quantidade pequena (esteatose) com moléculas isoladas ou agrupadas, geralmente próximo a artérias, arteríolas, veias e sinusoides (Figura 4 - a).

Nos peixes alimentados com nível de 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina, foram identificadas concentrações maiores de lipídios evidenciando a hepatodistrofia esteatose em intensidade leve. Também foi constatada a condição de degeneração hidrópica, configurada pelo edema celular com desarranjo arquitetônico cordonal, clareamento do citoplasma e permanência centralizada do núcleo (Figura 5).

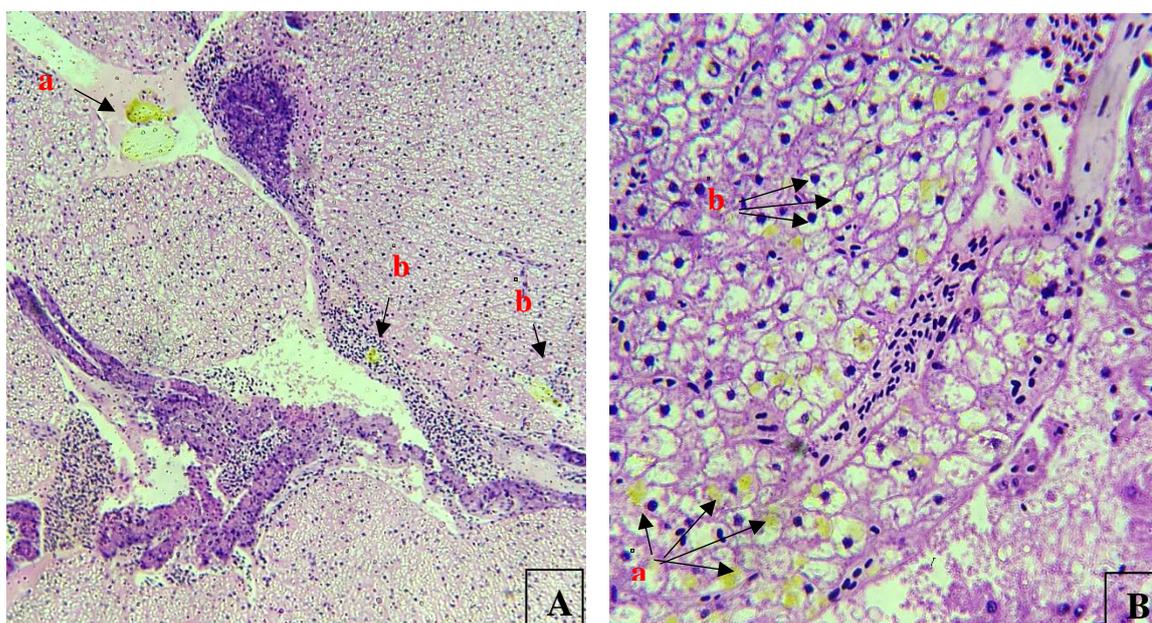


Figura 4. Fotomicrografia do tecido hepático de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina sendo 0,4% de L-lisina: A) Lipídios no espaço porta – Moléculas de lipídios absorvidas da dieta, transportadas até o fígado e depositadas próximo a veia porta (a). Lipídios acumulados em veias e artérias (b). HE, Objetiva 20x. B) Presença multifocal de gotículas de lipídios nos hepatócitos próximos a vasos sanguíneos (a). Hepatócitos com formato poliedral, redondo irregular e hexagonal, com núcleo centralizado – regiões com citoplasmas claros (b). HE, Objetiva 40x.

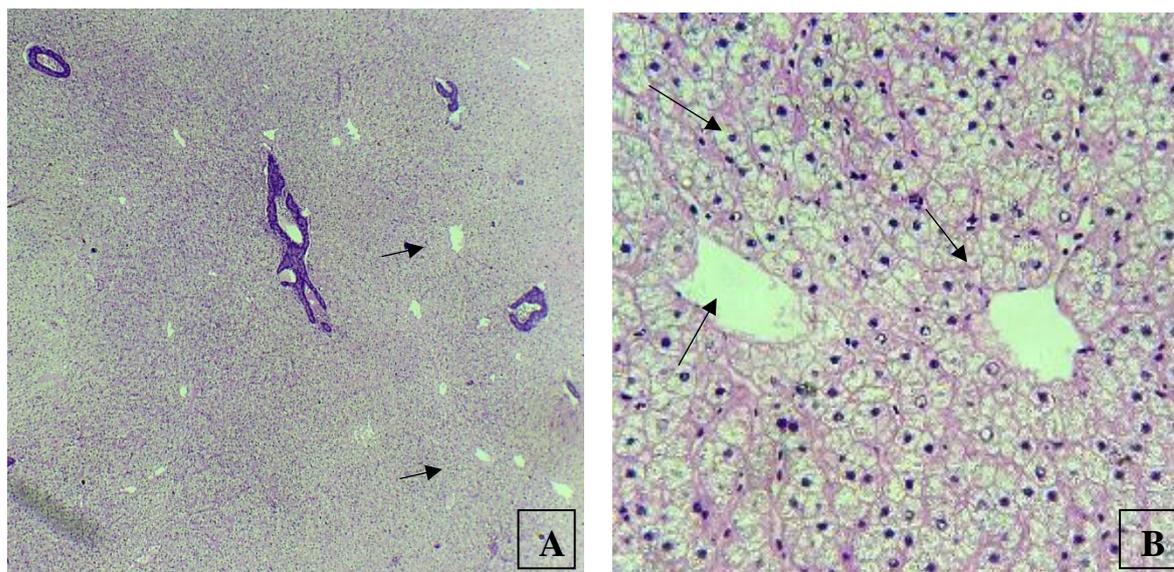


Figura 5. Fotomicrografia do tecido hepático de tambaqui (*Colossoma. macropomum*) alimentado com 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina sendo 0,4% de L-lisina: A) Regiões com prováveis edemas. HE, objetiva 20x; B) Degeneração hidrópica caracterizada por edema celular, desarranjo cordonal e hepatócitos com citoplasma claro. HE, Objetiva 40x.

4. DISCUSSÃO

4.1. Desempenho zootécnico

Os resultados encontrados sem significância estatística para o desempenho zootécnico neste trabalho (ganho de peso relativo, taxa de crescimento específico, fator de condição final, e consumo da dieta; Tabela 2), corroboram com os observados por Silva et al. (2018) em estudos com lisina na fase inicial de vida do tambaqui. No entanto, tais variáveis verificadas para o pacu (*Piaractus mesopotâmicos* Holmberg, 1987), para o bijupirá ou cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) e para juvenis de yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel, 1845) apresentaram alterações perante a inclusão de lisina na dieta (Ruchimat et al., 1997; Zhou et al., 2007; Abimorad et al., 2010). O exposto indica que o tambaqui responde a inclusão de lisina na alimentação de forma diferente de outros peixes analisados quanto ao desempenho zootécnico.

A não redução do consumo da dieta é determinante para verificação da ação do nutriente lisina sobre os demais parâmetros analisados e evidencia sua condição de aminoácido limitante nas respostas encontradas com significância estatística.

Concentrações insuficientes de lisina na dieta propiciam a inapetência do peixe com subsequente diminuição no desempenho produtivo, como relatado por Ahmed e Khan (2004) para carpa indiana (*Cirrhinus mrigala* Hamilton, 1822) e por Mai et al. (2006) para japonês seabass (*Lateolabrax japonicus* Cuvier, 1828).

A hiperfagia entre os tratamentos também não ocorreu, evidenciando que os dados do consumo não foram afetados pelo balanceamento energético entre os nutrientes (Santos et al., 2010; NRC, 2011). Estas informações reafirmam o crescimento positivo verificado neste trabalho para o consumo da lisina cristalina na proporção do aumento dos níveis do nutriente, o que também foi constatado por Silva et al. (2018), que associaram a não variação do consumo dos peixes à condição isoenergéticas das dietas.

Abimorad et al. (2010) utilizaram 1,6% de lisina (16,00 g. Kg⁻¹ de lisina) para o melhor resultado quanto ao peso final (PF) de juvenis de pacu. O pacu se assemelha ao tambaqui em particularidades biológicas e comportamentais, e o nível de lisina encontrado pelos autores está muito próximo do nível de 15,9 g. Kg⁻¹ de lisina total observado neste trabalho com juvenis de tambaqui, considerando o PF com a resposta mais satisfatória.

Apesar da detecção do nível de 15,9 g. Kg⁻¹ de lisina (nível com resultado estatisticamente igual a 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina mas que evidencia-se por ser a concentração com menor adição para a melhor resposta) como mais indicado para o ganho de peso total (GPT), o aumento exponencial da variável mostrou baixo coeficiente de determinação, sendo explicado exclusivamente pela influência dos níveis de lisina em apenas 27% da curva de tendência. Analisando o GPT de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) com peso inicial (PI) de 5,72 ± 0,10 g, Furuya et al. (2006) também encontraram aumento da variável, com formação de platô em 1,56% (15,6 g. Kg⁻¹ de lisina) no modelo *linear response plateau* (LRP).

Além dos modelos exponencial e LRP, o modelo quadrático é igualmente trabalhado em exigências nutricionais, ainda que a variedade de modelos matemáticos seja questionada pela possibilidade de dificultar comparações das respostas obtidas entre os estudos (Sakomura & Rostagno, 2007; NRC, 2011).

Silva et al. (2018) trabalharam com o modelo LRP em intercessão com o modelo quadrático para otimizar e estimar o GPT nos estudos de exigência de lisina (L-lisina 1,30; 1,48; 1,66; 1,84; 2,02 e 2,20%) para tambaqui com PI de 0,34 ± 0,02 g e concluíram que o nível mais

adequado para o ganho de peso é de 1,73% L-lisina, que corresponde a 20,00 g. Kg⁻¹ de lisina total (2,00%).

O percentual inferido por Silva et al. (2018) extrapola o nível encontrado no presente estudo (15,9 g. Kg⁻¹ de lisina total e 1,2% de L-lisina), todavia, a diferença na exigência de lisina para o desempenho zootécnico de peixes com pesos vivos diferentes foi descrita por Hua et al. (2019), que realizaram testes com tilápias com PI de 9,8 ± 0,0 g (small fish), 58,1 ± 0,4 g (médium fish) e 247,6 ± 1,5g (large fish). Tanto em peixes quanto em outros animais monogástricos, parâmetros de desempenho, como a eficiência da lisina, são influenciados pela composição corporal e tendem a reduzir na medida em que o peso vivo aumenta (NRC, 2011).

Esta relação inversamente proporcional para peso vivo do peixe nutrido com L-lisina ocorre também para a eficiência de deposição da proteína em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) e em barramundi (*Lates calcarifer* Bloch, 1790), que reduz na proporção do aumento do peso dos animais (Azevedo et al. 2004; Bermudes et al., 2010). Segundo Hua et al., (2019), este é um indicativo da diminuição na eficiência da deposição de aminoácidos, concomitantemente associado a um aumento no catabolismo destes e sua necessidade durante o crescimento do peixe.

Considerando a não redução do consumo no atual estudo, a lisina ingerida sem contribuir para o GPT pode ter sido utilizada para desempenhar funções metabólicas como transporte de ácidos graxos, todavia, não é descartada a possibilidade da excreção do aminoácido na água, já que os menores teores de nitrito foram verificados nos tanques do nível 15,9 g. Kg⁻¹ de lisina, que alcançaram melhores resultados para o desempenho.

O nível supracitado é superior ao verificado para tilápia do Nilo na fase final da produção por Michelato et al. (2016) (12,25 e 13,90 g. Kg⁻¹ de lisina) e inferior ao encontrado por Silva et al. (2018) com alevinos de tambaqui (1,73%; 17,30 g. Kg⁻¹ de lisina). Entretanto, o percentual de lisina se mantém próximo a concentração obtida por Abimorad et al. (2010) com juvenis de pacu (1,61%; 16,10 g. Kg⁻¹ de lisina).

A conversão alimentar aparente (CAA) de 1,45 Kg. Kg⁻¹ encontrada se aproxima de 1,44 obtido por Furuya et al. (2006) e a de 1,49 encontrado por Michelato et al. (2016) para juvenis de tilápia. A CAA está mais distante dos resultados para pacu (1,8 Kg. Kg⁻¹ ; Abimorad et al., 2010) e para o bijupirá (1,10 Kg. Kg⁻¹ ; Zhou et al., 2007), e é superado pela conversão alimentar de 1,66 para tambaqui na fase inicial (Silva et al., 2018).

O índice de conversão alimentar é um dado irrefutavelmente primordial na piscicultura e varia entre 1,0 e 2,4 com diferenciações quanto a espécie do peixe, idade, tecnologias da produção, origem dos nutrientes e composição da dieta (Torrinsen et al., 2011; Fry et al., 2018).

Os valores obtidos para a taxa de eficiência da lisina cristalina (TEL) decresceram proporcionalmente a adição de lisina na dieta, constatando o comportamento registrado por Bomfim et al. (2010) em pesquisas com tilápia do Nilo na fase inicial.

Este decréscimo na TEL consumida sobre o GPT sugere que em quantidades menores o aminoácido cristalino é mais atuante sobre o peso adquirido pelo tambaqui. A maior eficiência de lisina cristalina (142%) não ocorreu no mesmo nível do maior GPT, sendo observada no nível de menor adição do aminoácido (lisina 9,72 g. Kg⁻¹), onde o GPT foi inferior e não diferenciou significativamente das demais médias.

O comportamento da taxa de crescimento relativo para comprimento (TCR-C) evidencia a contribuição da lisina cristalina no crescimento do tambaqui e infere uma limitação ao atingir a dose ótima (15,96 g. Kg⁻¹) e uma interferência negativa dos níveis mais elevados do nutriente (19,08 g. Kg⁻¹ e 22,20 g. Kg⁻¹).

O crescimento animal é delimitado por fatores genéticos e ambientais, porém, sofrem intervenção direta ou indiretamente do estado nutricional do peixe (Tu et al., 2015). Os nutrientes da dieta são reguladores do funcionamento do eixo GH-IGF-I (Insulin-like growth factor 1 - Growth hormone) que é crucial na ação neuroendócrina sobre o crescimento dos vertebrados, pois atua na mineralização dos ossos e controla a captação de aminoácidos biodisponíveis, como a lisina, propiciando o desempenho de funções tais como a síntese proteica (Tu et al. 2015; Li et al. 2016; Cai et al., 2018).

No entanto, os juvenis de tambaqui analisados mostraram que em condição de saturação a lisina cristalina não é aproveitada e inibe ações que maximizam o crescimento. Estudos realizados por Murthy & Varghese (1997) e Ahmed & Khan (2004) com carpas, respectivamente, das espécies *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) e *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822), corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, com níveis elevados de lisina na dieta resultando na diminuição do crescimento do peixe.

O nível de adição na dieta de 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total, verificado para TCR-C foi o mesmo constatado para melhor desempenho quanto a conversão alimentar, ganhos de peso total e diário e quanto ao peso final e corresponde a 5,91 % da proteína. Foster & Hirosh (1998) relatam que o valor da lisina para peixes está entre 3,7 e 6,1% da proteína da dieta, e segundo o NRC (2011), a quantidade ideal de lisina para a maioria dos peixes onívoros é de 5 a 6,8% da proteína consumida. A quantidade de lisina para tambaqui foi estimada por Oliveira et al. (2013) em 6,03% da proteína (18% dos aminoácidos essenciais) e se aproxima do valor verificado por meio de experimentação com dose - resposta.

Os resultados obtidos para teor de deposição de gordura e índice de gordura visceral reafirmam os registros de Furuya et al., (2004) e Takishita et al. (2009) em experimentos com tilápias do Nilo, e de Silva et al. (2018) avaliando tambaqui na fase inicial. Comportamento diferente foi verificado por Bomfim et al. (2010) que observaram índice de deposição corporal com crescimento linear positivo para juvenis de pacu.

Embora tenha sido verificado diferença significativa nos níveis 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina (maior IH) e 12,84 g. Kg⁻¹ de lisina (menor IH) para IH, não foram verificadas diferenças entre os parâmetros de desempenho zootécnico dos níveis citados.

Hansen et al. (2011) verificaram que para Atlantic cod (*Gadus morhua* Linnaeus, 1758) os maiores níveis de lisina geraram os menores índices hepatossomáticos, corroborando com a forma inversamente proporcional aos resultados detectada por Zhou et al.(2007) para cobia e por Bicudo et al. (2010) para pacu.

Esta relação é possível porque a deficiência na concentração de lisina influencia a redução da biossíntese de carnitina com consequente diminuição do transporte e β -oxidação de ácidos graxos na membrana mitocondrial, aumentando o armazenamento de lipídios no fígado. Porém, estudos com tilápias realizados por Furuya et al., (2013) e pesquisas com a exigência de lisina para Atlantic cod realizadas por Grisdale-Helland et al. (2011), não encontraram interferência do aminoácido sobre o índice hepatossomático.

A concentração de proteínas e aminoácidos da dieta influencia a síntese e hidrólise do glicogênio hepático, atuando sobre a enzima glico-6-fosfatase, que pode reter a glicose nos hepatócitos (para aminoácidos em baixa concentração) e colaborar no aumento do peso do fígado, gerando maior índice hepatossomático (Silveira et al, 2009; Soares et al., 2011).

4.2. Morfohistologia intestinal

O comprimento relativo do intestino dos tambaquis foi de 1,20 a 1,37 cm.cm⁻¹, concordando com a descrição literária de 0,6 a 8,0 cm.cm g⁻¹ para peixes onívoros (Rotta, 2003; Ferreira et al, 2014) e estando abaixo dos valores verificados por Ferreira et al (2014) para tambaquis (1,56±0,04) sob níveis de probióticos, que expressaram intestinos maiores (36,36±2,99 cm) do que os registrados neste trabalho (17,67 a 22,81 cm).

Segundo Rotta (2003), o intestino dos teleósteos atua especialmente no processo de absorção de nutrientes e, apesar de não haver divisão marcante entre a fração delgada e grossa, pode ser caracterizado por pelo menos duas porções. A absorção de aminoácidos, monossacarídeos e ácidos graxos é realizada pela fração anterior, enquanto a absorção de

macromoléculas por pinocitose ocorre na última porção intestinal. Esta característica, corrobora com as evidências do estudo com lisina para tambaqui.

Das porções histologicamente analisadas, o intestino anterior expressou maior influência da lisina para todas as túnicas celulares (com exceção da serosa), enquanto o intestino posterior não apresentou alteração morfológica mediante inclusão de lisina na dieta, e o médio registrou alterações apenas na submucosa.

Honorato et al (2013), descrevendo intestino de tilápias do Nilo, descreve a composição da densidade de células na túnica submucosa como constituída por fibras de colágeno e vasos sanguíneos. A densidade observada na submucosa dos juvenis de tambaqui no atual estudo sugere que o material descrito pode ter reduzido do intestino anterior para o intestino médio em todos os tratamentos, tendo alcançado significância estatística entre os tratamentos nas duas porções.

Para o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829) as duas primeiras frações do intestino são mais propensas a absorção por possuírem maior complexidade da túnica mucosa (Rotta, 2003), geralmente composta por células caliciformes e lâmina própria dotada de linfócitos intra-epiteliais (Honorato et al., 2013). Para os juvenis de tambaqui sob alimentação com lisina, ainda que o percentual da túnica mucosa tenha aumentado em alguns tratamentos do IA para o IM, a diferença significativa só foi detectada no primeiro terço do intestino.

Os tambaquis nutridos com 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina obtiveram maior percentual, dentre as dietas experimentais, com diferença estatística na mucosa intestinal anterior, segmento e túnica atribuídos ao processo absorptivo. Os dados analisados revalidam as informações obtidas na análise de desempenho zootécnico para ganho de peso total e conversão alimentar que foram igualmente evidenciados com 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina.

Enquanto a mucosa nas porções média e posterior não variaram para a densidade das túnicas celulares nas vilosidades, na porção anterior o nível de 19,08 g. Kg⁻¹ de lisina foi o menor em relação ao período inicial e ao nível de 15,96 g. Kg⁻¹.

Nas porção intestinal posterior as vilosidades apresentaram grande variabilidade nas respostas quanto a altura e perímetro. Na porção média a condição de maior altura no nível de 9,72 g. Kg⁻¹ em relação aos demais níveis (exceto o de 6,60 g. Kg⁻¹) pode sugerir uma estratégia do tambaqui para ampliar a área de absorção e aumentar a captação de nutrientes. O nível de 6,60 g. Kg⁻¹ possui lisina proveniente da proteína intacta (0,00 g de L-lisina) e o nível 9,72 g. Kg⁻¹ possui suplementação de 4,00 g. Kg⁻¹ de L-lisina na lisina total, sendo a menor adição de L-lisina nas dietas elaboradas. A competição nos sítios de absorção da lisina intacta e L-lisina,

ou variáveis adversas sobre o metabolismo dos peixes, podem ter ocasionado um desbalanceamento maior no nível 9,72 g. Kg⁻¹, gerando maior urgência por captação de outros nutrientes. Esta condição foi reduzida a partir do nível de 12,84 g. Kg⁻¹ de lisina que possui 8.0 g. Kg⁻¹ de L-lisina. Rotta et al. (2003) explica que aminoácidos cristalinos são absorvidos mais lentamente, no entanto, Nguyen & Davis (2016), não encontraram diferença sobre o desempenho produtivo de channel catfish, ou bagre americano (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nutridos com lisina cristalina e com lisina intacta.

No nível com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina, as células caliciformes secretoras de mucinas ácidas estiveram mais ativas no intestino anterior. Mucinas intestinais agem lubrificando, degradando substâncias proteolíticas, e quando ácidas, atuam como barreira de proteção contra bactérias e componentes que possam agredir as vilosidades e limitar a absorção (Rocha et al., 2016). Honorato et al. (2011) observaram diferença na secreção de mucinas em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de acordo com o tipo de dieta ofertada. Desta forma, a maior incidência de mucinas ácidas secretadas pelas caliciformes no intestino anterior indica o nível de adição de lisina para microbiota intestinal mais resistente, dificultando a ação de microrganismos nocivos e melhorando o sistema imune, além de sugerir degradação de proteína.

4.3. Morfohistologia hepática

A coloração marrom avermelhada apresentada pelos tecidos hepáticos são esperadas para o órgão, considerando a abundante vascularização. Porém, a coloração marrom em tom suavemente mais pálido constatada em alguns tecidos sugere possível degeneração hidrópica.

Os formatos dos hepatócitos verificados corroboram com a estrutura caracterizada para tambaqui por Costa et al., (2012) e para o pacu por Fujimoto et al. (2008).

Rocha et al. (2010), analisando o fígado da dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii* Castelnau, 1855) detectaram a condição hepática de esteatose, com presença de pequenas gotas de lipídios, isoladas ou não, localizadas próximas a vasos sanguíneos, tendo o mesmo padrão verificado no presente trabalho.

Níveis insuficientes de proteínas e aminoácidos na dieta podem propiciar a esteatose hepática, considerando que proteínas atuam no transporte e captação dos lipídios no fígado, e que aminoácidos como a lisina, sintetizam metabólitos que os oxidam (Furuya et al., 2013).

Segundo Robbins e Cotran (2015), a degeneração hidrópica é o detrimento celular inicial de praticamente todos os danos, sendo reversível, é causada pelo desequilíbrio iônico e

homeostático, e pode gerar palidez, turgidez e aumento de peso do tecido, como evidenciado na análise do índice hepatossomático do fígado dos tambaquis tratados com 9,72 g. Kg⁻¹.

A pequena concentração lipídica presente nos hepatócitos não foi suficiente para afetar o desempenho zootécnico satisfatório dos peixes alimentados com 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina. Para as amostras dos tratamentos com 19,08 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total, a concentração de lipídios foi ainda menor, porém, esta condição não fez sobressair o desempenho dos peixes.

Juvenis de tambaqui que receberam dietas com níveis inferiores de lisina (9,72 e 12,84 g. Kg⁻¹ de lisina) tiveram lipídios armazenados em concentração maior sobre os hepatócitos, com maiores danos hepáticos e produção mais limitada, segundo análise do desempenho zootécnico.

5. CONCLUSÃO

No presente estudo fica evidenciado que a inclusão de lisina favorece o desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui. Os melhores desempenhos foram observados e estimados com inclusão de 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total. No entanto, a lisina não influenciou os parâmetros morfométricos intestinais de peso e comprimento.

Os níveis de lisina alteraram a densidade das túnicas muscular, submucosa e mucosa nas porções anterior e/ou média. O nível de 15,96 g. Kg⁻¹ se diferenciou no intestino anterior, dentre as dietas elaboradas, para a densidade da mucosa, sugerindo maior absorção e contribuição nos ganhos do desempenho. As medidas das vilosidades no intestino médio e posterior indicam relação entre aumento dos níveis de lisina e diminuição na altura, maximizando o aproveitamento dos nutrientes. A quantidade maior de mucinas ácidas no intestino anterior de peixes do nível com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina maior proteção das vilosidades e degradação proteolítica.

Foram identificadas hepatodistrofias em leve intensidade, especialmente nos tambaquis dos níveis inferiores a 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina, sendo a condição de esteatose dos peixes com 15,96 a 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina insuficiente para gerar danos maiores no desempenho zootécnico. O índice hepatossomático teve maior expressão nível de 9,72 g. Kg⁻¹ de lisina.

Desta forma, para atender à exigência nutricional de lisina para tambaqui na fase juvenil o nível recomendado é de 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina ou 5,91 % da proteína.

6. REFERÊNCIAS

Abimorad, E. G., Favero, G. C., Squassoni, G. H., & Carneiro, D. (2010). Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus*

mesopotamicus. *Aquaculture Nutrition*, 16(4), 370-377. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00674.x>.

Adames, M. S., Krause, R. A., Damasceno, D. Z., Piana, P. A., de Oliveira, J. D. S., & Bombardelli, R. A. (2018). Características morfométricas, rendimentos no processamento e composição centesimal da carne do barbado. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(2), 251-260.

Ahmed, I., & Khan, M. A. (2004). Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture*, 235(1-4), 499-511. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.009>.

Ames, B. N. (2004). A role for supplements in optimizing health: the metabolic tune-up. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 423(1), 227-234. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2003.11.002>.

AOAC (2005). Official methods of analysis, 18th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists International.

Araújo-Lima, C. A. R. M.; Gomes, L. C. 2005. *Tambaqui (Colossoma macropomum) IN: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Ed). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Cap. Tambaqui*, v. 2. Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, p. 67-104.

Arbeláez-Rojas, G. A., Fracalossi, D. M., & Fim, J. D. I. (2002). Body composition of tambaqui, *Colossoma macropomum*, and matrinxã, *Brycon cephalus*, when raised in intensive (igarape channel) and semi-intensive (pond) culture systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(3), 1059-1069. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000500001>.

Aride, P. H. R., Roubach, R., & Val, A. L. (2007). Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*, 38(6), 588-594. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01693.x>.

Azevedo, P. A., Leeson, S., Cho, C. Y., & Bureau, D. P. (2004). Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: diet, species and size effects. *Aquaculture*, 234(1-4), 393-414. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2004.01.004](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.004).

Barroncas, M. F., Pereira-Filho, M., de Carvalho Gomes, L., Roubach, R., & Ono, E. A. (2016). Efeitos da troca de água sobre os índices zootécnicos e qualidade dos efluentes na criação

intensiva do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros escavados. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 8(1), 49-71. DOI: <https://doi.org/10.18817/repesca.v8i1.1094>.

Barros, M. M., Pezzato, L. E., de Miranda, E. C., do Carmo, M. V., & Sampaio, F. G. Complexo zinco aminoácido em dietas práticas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 26(4), 437-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v26i4.1716>.

Bermudes, M., Glencross, B., Austen, K., & Hawkins, W. (2010). The effects of temperature and size on the growth, energy budget and waste outputs of barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 306(1-4), 160-166. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2010.05.031](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.031).

Bicudo, A. J.A.A., & Cyrino, J. E. P. (2009). Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(6), 818-823. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00303.x>.

Bomfim, M. A. D., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Quadros, M., Ribeiro, F. B., & Souza, M. P. (2010). Níveis de lisina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), 1-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000100001>.

Boyd, C. E. (1990). Water quality in ponds for aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn university. *Alabama*, p482.

Burkert, D., Andrade, D. D., Sirol, R. N., Salaro, A. L., Rasguido, J. D. A., & Quirino, C. R. (2008). Rendimentos do processamento e composição química de filés de surubim cultivado em tanques-rede. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(7), 1137-1143.

Cai, W. C., Liu, W. B., Jiang, G. Z., Wang, K. Z., Sun, C. X., & Li, X. F. (2018). Lysine supplement benefits the growth performance, protein synthesis, and muscle development of *Megalobrama amblycephala* fed diets with fish meal replaced by rice protein concentrate. *Fish physiology and biochemistry*, 44(4), 1159-1174. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0503-3>.

Costa, G. D. M., Ortis, R. C., Lima, M. G. D., Casals, J. B., Lima, A. R. D., & Kfoury Jr, J. R. (2012). Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier,

1818). *Pesqui. vet. bras*, 32(9), 947-950. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000900022>.

Ferreira, C. M., Antoniassi, N. A., Silva, F. G., Povh, J. A., Potença, A., Moraes, T. C., ... & Abreu, J. S. (2014). Características histomorfométricas do intestino de juvenis de tambaqui após uso de probiótico na dieta e durante transporte. *Pesq. Vet. Bras*, 34(12), 1258-1264.

Forster, I., & Ogata, H. Y. (1998). Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, 161(1-4), 131-142. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00263-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00263-9).

Fry, J. P., Mailloux, N. A., Love, D. C., Milli, M. C., & Cao, L. (2018). Feed conversion efficiency in aquaculture: do we measure it correctly?. *Environmental Research Letters*, 13(2), 024017. DOI: <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aaa273>.

Fujimoto, R. Y., da Cruz, C., & de Moraes, F. R. (2018). Análise de efluente e histologia da pele, fígado e rim de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(1), 117-124.

Furuya, W. M., Santos, V. D., Silva, L. C. R., Furuya, V. R. B., & Sakaguti, E. S. (2006). Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 937-942. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000400001>.

Furuya, W. M., Silva, L. C. R., Neves, P. R., Botaro, D., Hayashi, C., Sakaguti, E. S., & Furuya, V. R. B. (2004). Exigência de metionina+ cistina para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, 34(6), 1933-1937. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000600041>.

Furuya, W.M., Michelato, M., Sakaguti Graciano, T., Oliveira Vidal, L. V., Orlandi Xavier, T., Rossetto Barriviera Furuya, V., & Batista de Moura, L. (2013). Exigência de lisina digestível para a tilápia-do-Nilo de 87 a 226 g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina: lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4). DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1945>.

Grisdale-Helland, B., Hatlen, B., Mundheim, H., & Helland, S. J. (2011). Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. *Aquaculture*, 315(3-4), 260-268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.015>.

- Hansen, A. C., HEMRE, G. I., Karlsen, Ø., Koppe, W., & Rosenlund, G. (2011). Do plant-based diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) need additions of crystalline lysine or methionine? *Aquaculture nutrition*, 17(2), e362-e371. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00770.x>.
- Honorato, C. A., Assano, M., Cruz, C. D., Carneiro, D. J., & Machado, M. R. F. (2013). Histology of intestine the tilápia (*Oreochromis niloticus*) feedstuff sources protein. *Nucleus Animalium*, 5(1), 103-111. DOI: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.771>.
- Honorato, C. A., Cruz, C., Carneiro, D. J., & Márcia, R. F. M. (2011). Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 281-288.
- Hua, K., Suwendi, E., & Bureau, D. P. (2019). Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 505, 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.030>.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (1999). Histologia e seus métodos de estudo. *Junqueira, L. C.; Carneiro, J. Histologia Básica. 9ª ed. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan*. ISBN: 978-85-915646-0-6.
- Li, X. F., Wang, F., Qian, Y., Jiang, G. Z., Zhang, D. D., & Liu, W. B. (2016). Dietary vitamin B12 requirement of fingerling blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* determined by growth performance, digestive and absorptive capability and status of the GH-IGF-I axis. *Aquaculture*, 464, 647-653. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.019>.
- Lopes, J. M., Pascoal, L. A. F., Silva Filho, F. P. D., Santos, I. B., Watanabe, P. H., Araujo, D. D. M., ... & Oliveira, P. D. S. (2010). Farelo de babaçu em dietas para tambaqui. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 11(2). ISSN 1519 9940.
- Maghelly, O. R., Huergo, G. M., Zaniboni Filho, E., & Enke, D. B. S. (2018). Características morfométricas e rendimento corporal do Suruvi *Steindachneridion scriptum* agrupados por sexo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(3), 419-430. ISSN 1678-2305.

Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., ... & Liufu, Z. (2006). Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 258(1-4), 535-542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.043>.

Mendonça, P. P., Vidal Junior, M. V., Polese, M. F., Santos, M. V. B. D., Rezende, F. P., & Andrade, D. R. D. (2012). Morphometrical development of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) under different photoperiods. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(6), 1337-1341. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982012000600003>.

Michelato, M., de Oliveira Vidal, L. V., Xavier, T. O., de Moura, L. B., de Almeida, F. L. A., Pedrosa, V. B., ... & Furuya, W. M. (2016). Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. *Aquaculture*, 457, 124-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.022>.

Moura, M. D., Henrique, C., Galvão, J., & Silva, L. (2009). Caracterização físico-química e de frescor de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas da pesca extrativa no médio rio Tietê/SP. *Boletim do Instituto de Pesca*, 35(3), 487-495.

Murthy, H. S., & Varghese, T. J. (1997). Dietary requirements of juveniles of the Indian major carp, *Labeo rohita*, for the essential amino acid lysine. *Israeli Journal of Aquaculture*, 49, 19-24.

Nguyen, L., & Davis, D. A. (2016). Comparison of crystalline lysine and intact lysine used as a supplement in practical diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 464, 331-339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.005>.

NRC - National Research Council. (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. National academies press.

Oliveira, A. C. B.; Miranda, E.; Correa, R. Exigências nutricionais e alimentação do tambaqui. In: Fracalossi, D. M.; Cyrino, J. E. P. *Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Aquabio, 2013. p. 231-240.

Oliveira, N. D. M. S., Oliveira, W. R. M., Nascimento, L. C., da SILVA, J. M. S. F., Vicente, E., Fiorini, J. E., & Bressan, M. C. (2008). Avaliação físico-química de filés de tilápia

(*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 83-89.

Pinheiro, K. B. S., da Silva Ferreira, R. L., da Mota, J. B., da Cunha, P. R. P., & Videira, M. N. (2017). Histopatologia do fígado de *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 proveniente de área sobre influência de mineração na Amazônia Oriental, Brasil. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, 7(3), 74-78. DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n3p74-78>.

Rebouças, P. M., Lima, L. R., Dias, I. F., & Barbosa Filho, J. A. D. (2014). Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 2(2), 35-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.14269/2318-1265.v02n02a01>

Ribeiro, P. A. P., Costa, L. S., Pereira, R. T., Murgas, L. D. S., & Vieira, P. (2013). Parâmetros metabólicos de pacus alimentados com diferentes fontes de óleo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 1035-1042. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800032>.

Righetti, J., Furuya, W. M., Conejero, C. I., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., & Michellato, M. (2011). Redução da proteína em dietas para tilápias-do-Nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. *Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, 40(3), 469-476. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982011000300002>.

Robbins, S. L., Cotran, R. S., & Klatt, E. C. (2015). *Robbins and Cotran Atlas of Pathology*. Elsevier.

Rocha, P., Barros, M. E., & Evêncio-Neto, J. (2016). Análise morfométrica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no jejuno de frangos suplementados com probiótico *Bacillus subtilis* cepa C3102. *Pesqui. vet. bras*, 36(4), 312-316. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000400010>.

Rocha, R. M., Coelho, R. P., Montes, C. S., Santos, S. S. D., & Ferreira, M. A. P. (2010). Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) da Baía do Guajará, Belém, Pará. *Ciência Animal Brasileira*, 11(1), 101-109. DOI: <http://dx.doi.org/10.5216/cab.v11i1.3028>.

Ruchimat, T., Masumoto, T., Hosokawa, H., Itoh, Y., & Shimeno, S. (1997). Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 158(3-4), 331-339. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00215-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00215-9).

Rodrigues, A. P. O. (2014). Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 40, 135-145.

Rotta, M. A. (2003). Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. *Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)*. ISSN 1517-1973.

Sakomura, N. K., & Rostagno, H. S. (2007). *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos* (p. 283p). Jaboticabal: Funep.

Santos, L., Pereira Filho, M., Sobreira, C., Ituassú, D., & Fonseca, F. A. L. D. (2010). Protein requirement of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) after feed deprivation. *Acta Amazonica*, 40(3), 597-604. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672010000300021>.

Schmittou, H. R. (1993). *High density fish culture in low volume cages*. American Soybean Association. 78 p.

Silva, J. C., Bomfim, M. A. D., Lanna, E. A. T., Ribeiro, F. B., de Siqueira, J. C., de Sousa, T. J. R., ... & do Nascimento, D. C. N. (2018). Lysine requirement for tambaqui juveniles. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(5), 2157-2168. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n5p2157>.

Silveira, U. S., Logato, P. V. R., & da Conceição Pontes, E. (2009). Fatores estressantes em peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, 6(4), 1001-1017.

Souza, A. D., & Inhamuns, A. J. (2011). Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 41(2), 289-296.

Tacon, A. G., & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1-4), 146-158. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>.

Takishita, S. S., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Bomfim, M. A. D., Quadros, M., & Souza, M. P. (2009). Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. *Revista*

Brasileira de Zootecnia, 38(11), 2099-2105. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009001100004>.

Torrissen, O., Olsen, R. E., Toresen, R., Hemre, G. I., Tacon, A. G., Asche, F., Hardy, R.W. & Lall, S. (2011). Atlantic salmon (*Salmo salar*): the “super-chicken” of the sea? *Reviews in Fisheries Science*, 19(3), 257-278. DOI: <https://doi.org/10.1080/10641262.2011.597890>.

Tschanz, S. A., Burri, P. H., & Weibel, E. R. (2011). A simple tool for stereological assessment of digital images: the STEPanizer. *Journal of Microscopy*, 243(1), 47–59. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2010.03481.x>.

Tu, Y., Xie, S., Han, D., Yang, Y., Jin, J., Liu, H., & Zhu, X. (2015). Growth performance, digestive enzyme, transaminase and GH-IGF-I axis gene responsiveness to different dietary protein levels in broodstock allogengnetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) CAS III. *Aquaculture*, 446, 290-297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.003>.

Underwood, W., Anthony, R., Cartner, S., Corey, D., Grandin, T., Greenacre, C. B., ... & Miller, D. (2013). AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association. ISBN: 978-1-882691-21-0.

Zhou, Q. C., Wu, Z. H., Chi, S. Y., & Yang, Q. H. (2007). Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 273(4), 634-640. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.056>.

ARTIGO III

Liebl, A.R.S., Cao, M.A., Duncan, W.L.P., Bussons, M.R.F.M., Furuya, W.M., Oliveira, A.T. (2019). Efeito de dietas com níveis de lisina sobre o hemograma, bioquímica sérica e enzimas digestivas de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). Formatado segundo *Aquaculture Nutrition*, 35 p.

EFEITO DE DIETAS COM NÍVEIS DE LISINA SOBRE O HEMOGRAMA, BIOQUÍMICA SÉRICA E ENZIMAS DIGESTIVAS DE JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818)

Ariany Rabello da Silva Liebl^{1*}, Mirleide Araújo Cáo², Wallice Luiz Paxiúba Duncan¹, Márcia Regina Fragoso Machado Bussons⁵, Wilson Massamitu Furuya⁶, Adriano Teixeira de Oliveira⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos-CIPET, Faculdade de Ciências Agrárias-FCA, Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Avenida General Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 6200-Coroado I, Manaus-AM, 69067-005, Brazil.

² Programa de Pós-graduação em Doenças infecciosas, Universidade Federal do espírito Santo, Campus Goiabeiras, Vitória, ES, Brasil.

³ Programa de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Nilton Lins, Av. Prof. Nilton Lins, 3259, Parque das Laranjeiras, Flores, 69058-030, Manaus, AM, Brasil.

⁴ Instituto Federal do Amazonas – IFAM, Avenida Sete de Setembro, Centro, Manaus – AM.

⁵ Supervisora Técnica Operacional, Fazenda Dona Branca, 28860-000, Casimiro de Abreu, RJ, Brasil.

⁶ Departamento de Zootecnia - Bloco Z, Sala 101, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Avenida General Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas, 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

Correspondência

Ariany Rabello da Silva Liebl, Universidade Federal do Amazonas, Avenida General Rodrigo Octávio, Coroado I, 69077-000, Manaus, Amazonas, Brazil. Phone: +55 0923305 4063;

Email: ny.rabello@gmail.com

RESUMO

O sangue transporta lisina e outros nutrientes da dieta, biodisponíveis ou clivados por enzimas, assegurando saúde e produtividade aos peixes. O trabalho objetivou verificar o comportamento hematológico e atividade das enzimas digestivas amilase e lipase de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) nutridos com níveis de 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 g.Kg⁻¹ de lisina total, correspondendo respectivamente, aos níveis de suplementação com L-lisina: 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g.Kg⁻¹ de L-lisina. O sangue dos peixes foi coletado nos períodos inicial e final por punção de veia caudal. As variáveis foram validadas por ANOVA e teste de Tukey (p<0,05). Não foram verificadas diferenças para concentrações de hemoglobina, hematócrito, CHCM, para leucócitos tipo eosinófilos e monócitos, trombócitos, para glicose e triglicerídeos e para atividade da amilase e lipase (p>0,05). As alterações observadas no colesterol e nos leucócitos totais não foram atribuídas às dietas (p=0,00). Os peixes do nível 15,96 g.Kg⁻¹ de lisina total tiveram maior crescimento, maior teor proteico no intestino médio e no sangue. Médias do VCM, HCM, linfócitos e neutrófilos, variaram sobre o período inicial, mas não sobre níveis de lisina (p<0,05). Assim, conclui-se que os níveis de lisina das dietas não comprometeram os parâmetros hematológicos e enzimáticos analisados, e contribuíram no aproveitamento proteico para crescimento juvenis de tambaqui alimentados com 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total ou 5,91% da proteína da dieta.

Palavras-chave: nutrição de peixes, aminoácido cristalino, hemograma, amilase, lipase, teleósteo.

ABSTRACT

Blood carries lysine and other dietary nutrients, bioavailable or cleaved by enzymes, ensuring fish health and productivity. This work aimed to verify the hematological behavior and activity of the digestive enzymes amylase and lipase of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) fed with lysine levels 9.72, 12.84, 15.96, 19.08 and 22.20 g. Kg⁻¹, corresponding respectively to the levels of supplementation with L-lysine: 0.00, 4.00, 8.00, 12.00, 16.00 and 20.00 g.kg⁻¹. Fish blood was collected in the initial and final periods by caudal vein puncture. The variables were validated by ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$). No differences were found for hemoglobin, hematocrit, HCCM concentrations, eosinophil and monocyte leukocytes, thrombocytes, glucose and triglycerides, and amylase and lipase activity ($p > 0.05$). The changes observed in cholesterol and total leukocytes were not attributed to diets ($p = 0.00$). Fishes with 15.96 g. Kg⁻¹ L-lysine had higher growth, higher protein content in the midgut and blood. VCM, HCM, lymphocytes and neutrophils averages varied over the initial period, but not over lysine levels ($p < 0.05$). Thus, it was concluded that the dietary lysine levels did not compromise the analyzed hematological and enzymatic parameters, and contributed to the protein utilization for juvenile lysine-fed tambaqui growth 15.96 g. Kg⁻¹ or 5.91% of the dietary protein.

Keywords: fish nutrition, crystalline amino acid, blood count, amylase, lipase, teleost.

INTRODUÇÃO

A aplicação da análise hematológica no monitoramento da fisiologia dos peixes é uma metodologia consolidada, com amostragem simples, e que promove resultados confiáveis sobre a higidez do animal, propiciando intervenções que solucionem ou mitiguem qualquer condição desfavorável durante o cultivo (Hesser, 1960; Higuchi et al., 2011; Pereira et al., 2016). O hemograma abrange a verificação dos eritrócitos (eritograma), leucócitos (leucograma), e trombócitos (trombograma) (Prado et al., 2016) e torna-se mais eficiente quando associado a análise da composição química do sangue.

O sangue é constituído por 3% de componentes tais como hormônios e enzimas, 7% de proteínas, e 90% de água (Ranzani-Paiva et al., 2013). No tecido aquoso estão distribuídos os eritrócitos, leucócitos, e os trombócitos, que correspondem às plaquetas em mamíferos. Com a função de proteger o sistema biológico, eliminar resíduos do metabolismo, e transportar gases e nutrientes, a concentração celular e a bioquímica sérica refletem modificações funcionais provenientes de alterações exógenas, como a temperatura, poluentes e estresse, e alterações endógenas, como ação hormonal, peso, comprimento e conjugação nutricional decorrente dos elementos absorvidos na dieta (Caula et al., 2008; Seriani et al., 2011; Ranzani-Paiva et al., 2013).

A necessidade de dietas especializadas para potencializar os ganhos produtivos na piscicultura evolui de maneira proporcional ao aumento da produção de peixes. A L-lisina é um aminoácido cristalino tipificado para síntese de proteínas nos tecidos, que condiciona maior crescimento, elevação do peso e de outros índices do desempenho zootécnico, atua na produção da L-carnitina contribuindo na oxidação lipídica e auxilia o sistema imunológico evitando degeneração de mecanismos de resposta (Gridale-Helland et al., 2011; Furuya et al., 2013; Michelato et al., 2016; Hua et al., 2019). O peixe de piscicultura requer sua saúde resguardada por defesas do organismo para que haja melhor aproveitamento da dieta.

Atuantes na proteção dos processos vitais contra distúrbios infecciosos e estresse, os leucócitos são mediadores do sistema imune inato, podendo apresentar diferentes tipos de células granulocíticas e agranulocíticas de acordo com a espécie de peixe investigada (Ngugi et al., 2015; Lemos et al., 2018). Os trombócitos são células pequenas, ovóides, elípticas ou fusiforme, que atuam no processo de coagulação do sangue (Hrubec & Smith, 1998). Ainda que não sejam células leucocitárias, os trombócitos estão inseridos como componente sanguíneo ativo na defesa orgânica de peixes de água doce (Ishikawa et al., 2008).

Os eritrócitos de teleósteos, representam em média 45% do volume total do sangue, possuem núcleo central e estruturas com conformações de ovais a elípticas, além de citoplasma homogêneo contendo vacúolos provenientes da depreciação de organelas celulares, onde estão localizadas as hemoglobinas (Bolognesi & Hayashi, 2011; Ranzani-Paiva et al., 2013). A hemoglobina geralmente é configurada por 96% de globinas e 4% de heme, um grupo prostético formado por ferro e grupamentos porfirínicos que confere o vermelho à proteína (Prado et al., 2016). Tal macromolécula aminoácídica influencia na coloração, tamanho e morfologia dos eritrócitos, é especializada no deslocamento de gases, tem concentração sérica dependente do sexo, idade e estado nutricional do peixe, e suas alterações podem caracterizar anemias e outras disfuncionalidades (Tavares-Dias et al., 2009; Drumond et al., 2010; Prado et al., 2016; Signor et al., 2017). Por estas considerações, dizemos que o hemograma de peixes é aplicável tanto em estudos de sanidade quanto em análises de respostas nutricionais (Tavares-Dias et al., 2009; Grant, 2015; Signor, et al., 2017; Aride et al., 2018; Fujimoto, et al., 2019).

Além da hematologia, a enzimologia também vem sendo utilizada na análise da atuação dos nutrientes nos peixes. A presença e atividade das enzimas digestivas interferem na capacidade do peixe em clivar os nutrientes das dietas e disponibilizá-los para os processos de absorção e assimilação orgânica (Fountoulaki et al., 2005). Tais condicionantes podem variar de acordo com a morfologia do trato gastrointestinal, hábito alimentar e formulação da dieta (Kuz'mina, 1996; Correa et al., 2007). A compreensão sobre enzimas como a amilase e lipase, que hidrolisam, respectivamente, carboidratos e lipídios, possibilita entender as adaptações das espécies de peixes às dietas e fomentar estratégias nutricionais evitando que proteínas e aminoácidos sejam direcionados para suprir demandas energéticas (Sunde et al., 2001).

As exigências de lisina e de outros nutrientes para espécies nativas de peixes já estabelecidos na piscicultura brasileira como o tambaqui (*Colosssoma macropomun* Cuvier, 1818) ainda não estão elucidadas (Chagas & Val, 2003). O tambaqui é altamente qualificado para piscicultura, possui hábito alimentar onívoro, boa adaptação aos sistemas de cultivos utilizados e é tradicionalmente apreciado pelo mercado no Norte do Brasil (Araújo-Lima e Gomes, 2005; Rodrigues et al., 2014; Buzollo et al., 2018). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar a influência da nutrição com níveis de L-lisina sobre o hemograma e atividade das enzimas amilase e lipase nos juvenis de tambaqui.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ética animal

O experimento foi desenvolvido com os regimentos dos princípios éticos na experimentação animal consentidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), perante aprovação das Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUA's da Universidade Federal do Amazonas sob protocolo nº 005/2016 e da Universidade Nilton Lins sob protocolo nº 003/2017.

2.2. Considerações iniciais: aquisição, local e aclimação dos peixes

O experimento com dietas com L-lisina foi realizado no Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos da Universidade Nilton Lins, Manaus – AM, utilizando juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomun* Cuvier, 1818) com dados biométricos iniciais médios de $33,54 \pm 1,9$ g e $11,72 \pm 0,36$ cm, provenientes da Estação de Piscicultura de Balbina (Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura), Presidente Figueiredo – AM. Os peixes (N= 180) foram acondicionados ao acaso em tanques (10 peixes/tanque) de polietileno (310 L), com oxigenação constante e filtro biológico. O sifonamento e reposição da água dos tanques (20%), os teores de oxigênio dissolvido (mg. L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH e nitrito (mg. L^{-1}) foram monitorados, de acordo com Liebl et al. (2019). Os peixes receberam dieta comercial (32% de proteína bruta) durante o período de aclimação.

A temperatura da água de cultivo, o teor de oxigênio dissolvido, e o pH, foram de, respectivamente, $26,25 \pm 0,06$ $^{\circ}\text{C}$, $4,95 \pm 0,32$ mg. L^{-1} , e $5,74 \pm 0,07$, enquanto o teor de nitrito se manteve entre 0,00 e 1,0 mg. L^{-1} . Todos os parâmetros monitorados para assegurar a qualidade da água dos tanques (pH, temperatura, oxigênio dissolvido e nitrito) permaneceram dentro das recomendações para bem-estar e produção de tambaqui, isentando seu efeito sobre as informações obtidas na nutrição com níveis de lisina e parâmetros avaliados (Boyd, 1990; Schmittou, 1993; Araujo-Lima & Gomes, 2005; Aride et al., 2007; Rebouças, et al., 2014).

2.3. Dietas experimentais

Durante o período experimental de 90 dias os peixes foram arraçoados com dietas (27% de proteína bruta) formuladas com L-lisina (Ajinomoto®, Chuo, Japan) nos níveis 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g.Kg^{-1} (Tabela 1) e processadas no Laboratório de Aquicultura do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus - Amazonas.

As dietas foram compostas por milho (356,20 a 376,20 g) e glúten de milho 60 (230,00 g), quirera de arroz (120,00 g), farelo de trigo (120,00 g), farinha de peixe (60,00 g), fosfato bicálcico (20,00 g), óleo de soja (10,00 g), suplemento mineral e vitamínico (7,00 g), calcário calcítico (5,00 g) e bicarbonato de sódio (2,00 g), além de antifúngico e antioxidante BHT (Butil-hidroxi-tolueno), conforme Liebl et al. (2019).

Após serem moídos em moinho de faca (Tecnal ®, Piracicaba, Brasil), os ingredientes foram misturados com os aminoácidos cristalinos (Tabela 1), homogeneizados sob adição de água (20%) na temperatura de 50°C. A mistura foi extrusada, seca em estufa de ventilação forçada (55°C por 24 horas), e fornecidas na frequência de quatro vezes ao dia (8, 11, 14 e 17 horas), até a saciedade aparente dos juvenis de tambaqui.

Tabela 1. Componentes aminoácidos das dietas experimentais elaboradas com níveis de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Liebl et al., 2019).

Composição de aminoácidos ¹ (g.Kg ⁻¹)	Lisina (g.Kg ⁻¹)					
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20
L-lisina	0.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00
L-ácido glutâmico	50.00	42.00	34.00	26.00	18.00	10.00
Dl-metionina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-triptofano	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
L-valina	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
L-arginina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-histidina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-isoleucina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-fenilalanina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
L-treonina	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50

¹Composição formulada segundo Furuya et al. (2006) e Rostagno et al. (2011).

2.4 Coleta e biometria

Nove peixes ao total (N= 9) foram coletados com puçás no início e ao final de 90 dias experimentais (n= 9 peixes por dieta; N= 54) após jejum por 24 horas. Os juvenis de tambaqui

coletados foram anestesiados com benzocaína (100 mg.L^{-1}), para colheita de sangue (1 mL por peixe) por punção do vaso caudal, mediada por seringas com volume útil de 1 mL cada, agulhas de $13 \times 4,00 \text{ mm}$, contendo $15 \mu\text{L}$ do anticoagulante Heparina sódica 5.000 UI (150 UI.mL^{-1} de sangue) diluída em solução fisiológica a 0,65% (1:50) (Pádua et al., 2012; Oliveira et al., 2012).

As amostras, preservadas a $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ durante todo processo de colheita, foram utilizadas nas análises dos componentes do hemograma (eritrograma, leucograma e trombograma) e bioquímica sérica. Os peixes foram mensurados biometricamente quanto a peso (g) e comprimento (cm) utilizando balança digital (precisão de $0,001\text{g}$; Gehaka®, São Paulo, Brasil) e ictiômetro.

Posteriormente, os juvenis foram eutanasiados com alta dosagem de benzocaína (250 mg.L^{-1}) seguida de secção medular, para incisão dorso ventral com lâminas cortantes e extração do estômago, cecos pilóricos e intestino (Underwood et al., 2013). Os tecidos, extraídos em superfície a $-4 \text{ }^\circ\text{C}$, foram imediatamente inseridos em nitrogênio líquido e mantidos em ultra freezer (-18) para utilização nas análises de quantificação de proteína e verificação da atividade das enzimas lipase ($\text{U}^{-1}.\text{mg}$) e amilase ($\text{U}^{-1}.\text{mg}$).

As análises das enzimas digestivas e o hemograma ocorreram, respectivamente, no laboratório de Morfologia Funcional da Universidade Federal do Amazonas e no Laboratório de Morfofisiologia de Solos, Vegetais e Animais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – Manaus, AM. As verificações da bioquímica sérica foram realizadas no Laboratório de Química do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Piúma – ES.

2.5 Hemograma

2.5.1 Eritrograma

A concentração de hemoglobina (g.dL^{-1}) foi verificada pelo método cianometahemoglobina (Collier, 1944) com adição do sangue homogeneizado ($20 \mu\text{L}$) em solução de Drabkin (5 mL), centrifugação e leitura a 540 nm (Ranzani-Paiva et al., 2013).

Para a contagem do total dos eritrócitos ou RBC ($10^6.\mu\text{L}^{-1}$) as amostras de sangue fixadas em solução formol-citrato (1:200) foram analisadas em câmara de Neubauer sob microscópio ótico (Leica®, DM 500, Wetzlar, Germany) (Aride et al., 2018; Lima et al., 2019).

O percentual do hematócrito (%) foi determinado pelo método do micro hematócrito (Goldenfarb et al., 1971), com centrifugação de tubos micro capilares heparinizados (12.000 rpm/ 5 minutos) (Lemos et al., 2018; Aride et al., 2018).

Na verificação dos índices hematimétricos foram calculados o volume corpuscular médio (VCM; fL), hemoglobina corpuscular média (HCM; pg) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM; g.dL⁻¹), descritos por Wintrobe (1934).

2.5.2 Leucograma e trombograma

Para contagem dos leucócitos totais, leucócitos diferenciados e trombócitos, foram confeccionadas três lâminas com extensões sanguíneas para cada tratamento (N= 63), coradas pancromicamente com MGGW (May-Grunwald, Giemmsa, Wrigth e metanol) (Tavares-Dias e Moraes, 2003).

Foram contados 200 leucócitos diferenciados em linfócitos, neutrófilos, monócitos e eosinófilos, em cálculos percentuais de acordo com Ranzani-Paiva et al. (2013).

O método indireto foi utilizado na verificação dos leucócitos totais, observando 2000 eritrócitos com concomitante identificação da quantidade de leucócitos e trombócitos em campos homogêneos da extensão sanguínea (Ranzani-Paiva et al., 2013). As informações obtidas foram relacionadas com a contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer (μL de sangue) e inseridas nas fórmulas, segundo Tavares-Dias & Mataqueiro (2004):

- Leucócitos totais (μL^{-1}) = Leucócitos x Eritrócitos (μL) / Eritrócitos na extensão sanguínea;
- Trombócitos (μL^{-1}) = Trombócitos x Eritrócitos (μL) / Eritrócitos na extensão sanguínea.

2.6 Bioquímica sérica

Para as análises bioquímicas foi utilizado o plasma do material remanescente da colheita obtido após centrifugação (3.000 rpm) por 10 minutos. Nas concentrações plasmáticas foram verificados proteínas totais (g.dL⁻¹), glicose (mg.dL⁻¹), colesterol (mg.dL⁻¹) e triglicerídeos (g.dL⁻¹), utilizando kits comerciais de ensaio enzimático-colorimétrico e leituras em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific ®, Waltham, U.S.) segundo recomendações específicas do fabricante (LabTest ®, Belo Horizonte, Brasil).

2.7 Enzimologia

2.7.1 Preparo dos homogeneizados celulares

As amostras dos tecidos coletados (estômago, cecos pilóricos e porções anterior, média e posterior do intestino) foram homogeneizadas (n= 63 amostras por tecido; sendo 9 por dieta) com 1 mL de água ultrapura em tubo de vidro submerso em gelo, utilizando homogeneizador tipo Potter-Elvehjem. O homogeneizado obtido foi centrifugado (Nova®, NI 1800, Piracicaba, Brasil) a 10.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi acondicionado em microtubos (200 µL) destinados às análises das proteínas e da atividade das enzimas lipase e amilase nos tecidos.

2.7.2 Concentração de proteínas no trato gastrointestinal

A quantificação de proteína nos tecidos foi realizada pelo método de Bradford (1976), utilizando kit comercial colorimétrico (Bio-Rad®, Hércules, U.S.A.) sobre o sobrenadante do homogeneizado, verificados em microplacas de 96 poços com leitura da absorbância a 595 nm, segundo recomendações do fabricante.

2.7.3 Atividade da enzima digestiva lipase

A atividade da enzima lipase foi determinada através da adaptação da metodologia proposta por Albro et al. (1985) utilizando 20 µL dos sobrenadantes extraídos reagindo com substrato (50 µL) 4-nitrofenil miristato (10 mM) em Tris-HCl (200 mM), taurodeoxicolato (2 mM), Triton X-100 (0,4%) e goma arábica (0,1%). Após 60 minutos, a reação foi interrompida com cloretos de cálcio (CaCl₂; 10 mM), de sódio (NaCl; 10 mM) e Tris-HCl sob pH 8,0 (130 µL). A leitura foi realizada na absorbância de 405 nm. Os dados foram calculados utilizando informações sobre a concentração de proteína dos tecidos e expressos como quantidade de substrato hidrolisado em 1 µmol.⁻¹ mg de proteína⁻¹.minuto (U. mg⁻¹ de proteína).

2.7.4 Atividade da enzima digestiva amilase

Na determinação da atividade da amilase o método utilizado foi adaptado de Bernfeld (1955) para reação química de 130 µL da solução tampão com 100 mM de acetato de sódio (pH 7,6), 20 mM de CaCl₂, 10 mM de NaCl e 5% de amido, com 20 µL do sobrenadante amostral e 50 µL de lugol (1% de iodo e 2% de iodeto de potássio). A leitura da absorbância da amilase ocorreu após incubação por 60 minutos a 20 °C, em espectrofotômetro a 554 nm, sendo

expressa em função das concentrações proteicas e curva de calibração da maltose como μmol de maltose⁻¹.mg de proteína⁻¹. minuto (U. mg⁻¹ de proteína).

2.8 Caracterização histológica do intestino

Os tecidos intestinais foram fracionados (n: 5/fração/dieta) em intestinos anterior, médio e posterior, cortados transversalmente, fixados por 24 horas em solução de Davison, desidratados em álcoois e incluídos em resina histológica (Technovit®, 71000, Kulzer, Hanau, Germany) conforme protocolo estabelecido pelo fabricante (Liebl et al., 2019). As lâminas cortadas com 3 μm , foram confeccionadas com micrótomo semiautomático (SLEE®, CUT 5062, Mainz, Germany), coradas com tricrômico de Marllory, e fotografadas em microscópio óptico (Leica®, DM 500, Wetzlar, Germany) com câmera acoplada, no Laboratório de Morfologia Funcional da Universidade Federal do Amazonas - UFAM.

2.9 Análise Estatística

O experimento foi constituído em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos (6 dietas elaboradas + dieta comercial inicial) em triplicata. Os dados foram verificados por Análise de Variância (ANOVA) ($p < 0,05$), teste de comparação múltipla de Tukey utilizando o software estatístico R® (r-project, Auckland, Nova Zelândia), versão 3.5.3.

3. RESULTADOS

3.1 Biometria

O peso final dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomun*) foi mais expressivo nos peixes nutridos com 15,96 g. Kg⁻¹ e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina, apresentando diferença entre todos os demais tratamentos ($p = 0,01$). Os maiores comprimentos foram registrados nos peixes nutridos com 15,96 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina, com diferença apenas para os peixes do período inicial ($p = 0,01$; Tabela 2).

Tabela 2. Biometria de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.

Variável biométrica	Lisina (g.Kg ⁻¹)						² CV		
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	¹ DP	(%)	³ P
Peso inicial (g)	31.00	32.20	32.97	33.90	34.43	38.80	2.47	1.44	0.07
Peso final (g)	58.09 a	68.02 a	67.84 a	80.69 b	70.79a	79.86 b	7.72	2.15	0.01 *
CF(cm)	14.34 a	15.17 ab	15.18 ab	16.57 b	16.02 ab	16.30 b	1.65	1.51	0.01 *

CF: Comprimento final; P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados.

¹Desvio padrão; ²Coeficiente de variação; ³Análise de variância ($p < 0,05$); Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.2. Hemograma

3.2.1 Eritrograma

Os níveis de lisina adicionados na dieta não alteraram as médias das concentrações de hemoglobina ($p=0,430$), hematócrito ($p=0,430$) e CHCM ($p=0,950$).

A influência da dieta foi observada sobre a quantidade dos eritrócitos em peixes alimentados com 9,72 g. kg⁻¹ de lisina ($p < 0,05$), sendo estes apresentado maior quantidade, com variação em relação a dieta inicial (Tabela 3).

Os índices hematimétricos VCM e HCM dos peixes do período inicial expressaram variação dos valores médios em relação aos tratamentos com lisina, a exceção ocorreu no HCM do nível de 12, 84 g. kg⁻¹ ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito da inclusão de lisina na dieta sobre o eritrograma de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Eritrograma	Dieta inicial	Lisina (g.Kg ⁻¹)						² CV		
		6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	¹ DP	(%)	³ P
Hg (g dL ⁻¹)	12.20	10.98	12.03	10.59	11.58	11.42	11.71	0.52	0.75	0.43
Ht (%)	34.58	30.50	32.72	30.11	30.39	31.78	31.50	1.47	0.76	0.43

Eritrócitos										
($10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	1.49a	2.189ab	2.88b	2.48ab	2.08ab	2.74ab	2.65ab	0.44	2.92	0.02*
VCM (fL)	231.71b	139.29a	113.35a	121.21a	145.98a	115.83a	118.71a	38.81	4.93	0.00*
HCM (pg)	81.75b	50.12a	41.66a	42.64ab	55.62a	41.617a	44.14a	13.42	4.67	0.00*
CHCM										
(g. dL^{-1})	35.28	35.99	36.76	35.18	38.10	35.93	37.19	0.98	0.44	0.95

Hg: Hemoglobina; Ht: Hematócrito; ¹Desvio padrão; ²Coeficiente de variação; ³Análise de variância ($p < 0,05$); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.2.2 Leucograma e trombograma

Não foi verificada diferença entre as médias dos trombócitos dos juvenis de tambaqui (Tabela 4). As médias dos leucócitos totais dos níveis de 6,60 g. kg^{-1} e 15,96 g. kg^{-1} de lisina diferiram das médias dos níveis 9,72, 19,08 e 22,20 g. kg^{-1} de lisina ($p = 0,02$) (Tabela 4).

Tabela 4. Trombócitos e leucócitos totais dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob dietas contendo níveis crescentes de lisina.

Variável	Dieta	Lisina (g.Kg ⁻¹)						¹ DP	² CV (%)	³ P
		inicial	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08			
Leucócitos totais	24110.17	13575.42	43220.67	31797.33	13551.33	43267.00	43285.33	12560.82	8.83	0.02*
	ab	a	b	ab	a	b	b			
Trombócitos	9404.16	2189.58	1561.00	8280.55	17651.11	11186.67	8563.33	4729.97	8.27	0.362

¹Desvio padrão; ²Coeficiente de variação; ³Análise de variância ($p < 0,05$); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na análise dos leucócitos diferenciais, foram encontrados linfócitos, eosinófilos, monócitos e neutrófilos. Não houve alterações estatísticas ocasionadas pela adição da lisina na dieta em eosinófilos e monócitos (Tabela 5). O percentual de linfócitos dos peixes do período final reduziu em relação aos valores encontrados nos juvenis de tambaqui alimentados com

dietas no período inicial ($p=0,00$). Dietas com níveis de lisina acima de $12,84 \text{ g. kg}^{-1}$ geraram aumento sobre os neutrófilos dos peixes ($p=0,00$; Tabela 5).

Tabela 5. Contagem diferencial de leucócitos dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob dietas contendo níveis crescentes de lisina.

Leucograma (%)	Lisina (g.Kg^{-1})							² CV		
	Inicial	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	¹ DP (%)	³ P	
Linfócitos	50.75b	31.44a	34.88a	27.67a	27.33a	35.33a	22.88a	8.36	4.48	0.00 *
Eosinófilos	1.83	1.83	2.78	0.78	1.72	0.78	2.56	0.72	6.71	0.93
Monócitos	16.25	17.33	14.78	12.00	11.61	10.22	12.56	2.43	3.01	0.26
Neutrófilos	31.16b	49.77ab	47.55ab	59.55a	59.33a	53.66 a	62.00a	9.80	2.91	0.00 *

¹Desvio padrão; ²Coeficiente de variação; ³Análise de variância ($p<0,05$); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

3.3 Bioquímica sérica

Os peixes dos níveis $9,72$, $15,96$ e $22,20 \text{ g. kg}^{-1}$ de lisina total e os peixes do período inicial apresentaram as maiores concentrações de colesterol ($p=0,00$) e não se diferenciaram entre si, enquanto os níveis de lisina $6,60$, $12,84$ e $19,08 \text{ g. kg}^{-1}$ expressaram teores menores (Tabela 6).

A concentração proteica do plasma do sangue dos peixes do período inicial se diferenciou apenas no nível de $15,96 \text{ g. kg}^{-1}$ de lisina ($p=0,03$), tal como descrito na Tabela 6 ($p=0,01$). Os triglicerídeos e a glicose não mostraram diferença entre os tratamentos ($p>0,05$).

Tabela 6. Bioquímica do sangue dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis de lisina.

Componente bioquímico	Inicial	Lisina (g.Kg ⁻¹)						¹ DP	² CV (%)	³ P
		6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20			
Proteínas (g.dL ⁻¹)	3.17a	5.50ab	4.27ab	6.03ab	7.35b	6.61ab	4.39ab	1.36	3.92	0.01*
Glicose (mg.dL ⁻¹)	73.88	156.46	133.43	114.54	102.55	108.57	147.98	26.42	3.41	0.12
Colesterol (mg.dL ⁻¹)	338.26c	199.65ab	321.83bc	147.06a	297.72bc	207.52ab	241.96ac	30.95	4.20	0.00*
Triglicerídeos (g.dL ⁻¹)	252.86	308.58	313.93	130.17	350.55	241.05	261.26	110.99	4.70	0.07

¹Desvio padrão; ²Coefficiente de variação; ³Análise de variância (p<0,05); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

3.4 Enzimologia

3.4.1 Concentração de proteínas no trato gastrointestinal

As concentrações de proteína detectadas no estômago, nos cecos pilóricos e nas porções anterior e posterior do intestino, se mantiveram sem variações perante adição de lisina nas dietas (p>0,05). No entanto, no intestino médio dos peixes nutridos com 15,96 e 19,08 g.kg⁻¹ de lisina o teor de proteína foi maior que na mesma porção intestinal dos peixes do período inicial (p=0,00; Tabela 7). As porções intestinais dos juvenis de tambaqui expressaram presença da proteína do colágeno nas distintas túnicas celulares (serosa, muscular, submucosa e mucosa) que formam as vilosidades onde estão as células absorptivas e as secretoras, como as calciformes (Figura 1).

Tabela 7. Concentração de proteína nos tecidos do estômago, intestino anterior, médio e posterior, e nos cecos pilóricos dos juvenis de tambaqui (*Collossoma macropomum*) nutridos com níveis de lisina.

Lisina (g.Kg⁻¹)

Proteína nos tecidos (g.dL ⁻¹)	Inicial	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	² CV ³ P		
								¹ DP	(%)	
Estômago	14.27	18.74	21.29	23.88	19.21	19.30	19.85	2.68	1.96	0.09
Cecos	14.67	15.22	17.39	17.10	17.95	16.71	16.73	1.09	0.94	0.05
Intestino Anterior	13.50	13.50	14.36	15.32	15.18	15.17	15.54	0.80	0.78	0.08
Intestino Médio	13.56a	13.87ab	13.69ab	14.45ab	15.23b	15.20b	15.10ab	0.68	0.67	0.00*
Intestino Posterior	14.08	13.12	13.25	13.46	13.58	13.79	14.33	0.40	0.42	0.56

¹Desvio padrão; ²Coeficiente de variação; ³Análise de variância (p<0,01); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

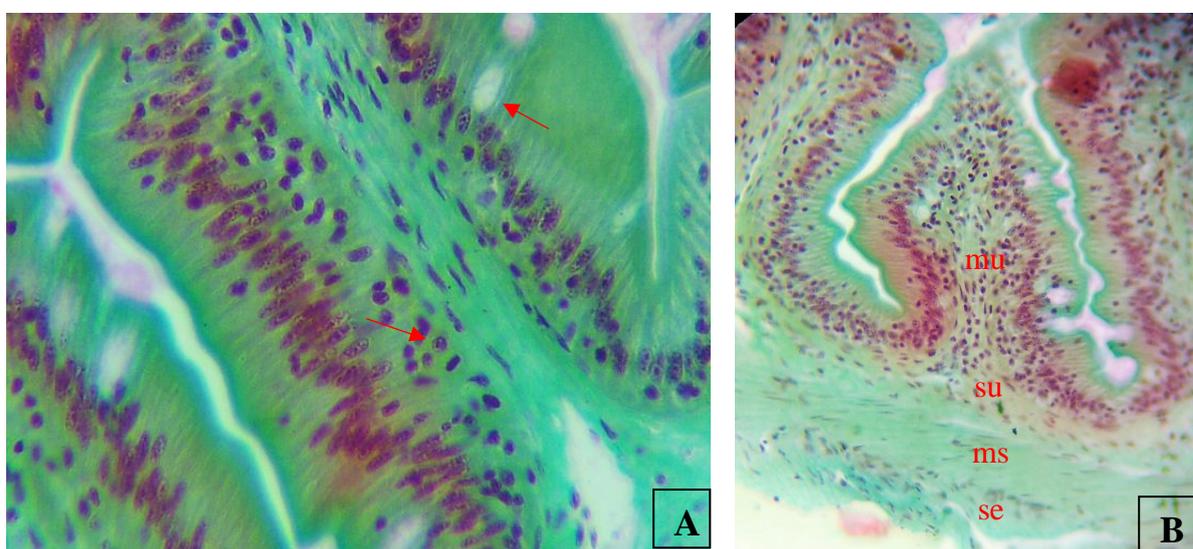


Figura 1. Fotomicrografia do intestino médio de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo lisina. Corante Tricrômico de Mallory: A) Presença de colágeno evidenciada em toda vilosidade (verde) em meio a células absorptivas e células secretoras da mucosa intestinal. Objetiva 60x. B) Colágeno evidenciado nas túnicas celulares serosa (se), muscular (ms), submucosa (su) e mucosa (mu).

3.4.2 Atividade das enzimas digestivas lipase e amilase

Não foram verificadas alterações entre as médias das atividades das enzimas lipase e amilase nos tecidos do estômago, intestino (anterior, médio e posterior) e cecos pilóricos dos juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo o aminoácido cristalino lisina (p>0,05) (Tabela 8).

Tabela 8. Atividade das enzimas lipase e amilase nos tecidos do estômago, intestino anterior, médio e posterior, e nos cecos pilóricos dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) nutridos com níveis de lisina.

Enzimas digestivas (U.mg ⁻¹ de proteína)	Lisina (g.Kg ⁻¹)							² CV (%)	³ P	
	Inicial	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20			¹ DP
<i>Amilase</i>										
Estômago	246.93	300.23	192.73	215.82	215.82	215.82	215.82	32.526	2.029	0.11
Cecos pilóricos	308.07	233.75	246.93	300.23	192.73	258.99	215.82	39.082	2.225	0.70
Intestino Anterior	185.14	276.57	215.02	265.52	184.92	194.83	199.05	35.383	2.326	0.36
Intestino Médio	125.02	198.55	144.78	183.23	129.58	144.34	134.13	26.187	2.471	0.51
Intestino Posterior	117.89	284.48	229.96	323.08	187.74	211.15	249.80	61.794	3.852	0.11
<i>Lipase</i>										
Estômago	3.36	5.35	2.78	2.88	2.79	3.32	4.38	0.899	3.615	0.155
Cecos pilóricos	1.87	2.19	2.79	2.42	2.19	2.31	5.96	1.307	6.626	0.242
Intestino Anterior	2.49	1.69	1.55	1.87	2.29	2.12	5.85	1.380	7.725	0.480
Intestino Médio	3.03	4.84	4.72	7.06	5.64	4.61	8.99	1.794	4.614	0.090
Intestino Posterior	2.66	0.86	1.94	1.46	1.30	1.28	4.85	1.262	8.782	0.656

¹Desvio padrão; ²Coeficiente de variação; ³Análise de variância (p<0,05); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

4. DISCUSSÃO

4.2 Biometria

O comprimento e o peso final dos tambaquis aumentaram proporcionalmente ao acréscimo de lisina nas dietas até o nível de 15,96 g.kg⁻¹ de lisina, onde foi registrado crescimento em torno de 119% em relação ao peso inicial. Este comportamento foi igualmente detectado por Liebl et al. (2019) para outros parâmetros de desempenho animal como ganho de peso e conversão alimentar aparente, de tambaquis nutridos com níveis de lisina.

Os dados biométricos com influência do aminoácido cristalino podem ser melhor compreendidos quando relacionados com informações sobre variáveis fisiológicas e metabólicas dos peixes como procedeu Zhou et al. (2007) e Ruchimat et al. (1997), que relacionaram as respostas do desempenho, respectivamente, de cobia ou bijupirá (*Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766) e yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel, 1845), com a condição hematológica dos peixes, não identificando prejuízos no nível ideal da L-lisina na saúde do peixe. No entanto, o excesso de L-lisina pode ser catabolizado e inserido no metabolismo energético, propiciando reservas lipídicas na região visceral do corpo animal (NRC, 2011) e quantidades insuficientes limitam a síntese de L-carnitina e transporte dos lipídios para o interior dos hepatócitos (Furuya et al., 2013), resultando na deposição de lipídios sobre o fígado (esteatose), menores peso e crescimento do peixe, como observado por Liebl et al. (2019).

4.3 Hemograma

4.3.1 Eritrograma

Segundo Tavares et al. (2009) a quantidade de eritrócitos esperada para tambaqui (*C. macropomum*) com peso entre 1,63 a 369,50 g e comprimento de 26 a 45,6 cm está entre 1,25 e 2,96 ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$), com intervalo de referência compreendendo valores de 1,62 a 3,38 ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$). Embora a resposta observada nos eritrócitos dos juvenis de tambaqui sob dietas com 9,72 g. kg^{-1} de lisina ($p=0,02$) aproxime da máxima detectada para a espécie por Tavares et al. (2009), ela se mantém fora da condição de policitemia, proveniente da elevação da osmolalidade plasmática, componentes químicos do sangue e de situações de estresse (Clauss et al., 2008). Esta desordem funcional é mais facilmente declarada quando o percentual do hematócrito supera 45%, o que não ocorreu para os peixes do tratamento com lisina 9,72 g. kg^{-1} (hematócrito= 32, 72%), outrossim, para os peixes dos demais tratamentos analisados (Clauss et al., 2008; Prado et al., 2016).

Nos estudos hematológicos com juvenis de cobia *R. canadum* sob dietas com L-lisina, diferente do observado para tambaqui, as médias do hematócrito se diferenciaram (hematócrito médio: 30,97%), no entanto, foram semelhantes ao percentual verificado para a espécie amazônica (hematócrito médio: 31,65%), o que não ocorreu com os eritrócitos (RBC: 3.53 a

$3.86 \times 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$) (Zhou et al., 2007). A ausência de diferença entre as concentrações de hemoglobina também corroborou com o detectado no atual estudo.

O volume corpuscular médio (VCM) exprime o elo entre o hematócrito e a abundância de eritrócitos, denotando a quantidade de células da série vermelha presentes no sangue do animal, e pode ser alterado por condicionantes como a dieta, a idade e a maturidade das células dos peixes de espécies diferentes ou da mesma espécie (Hrubec et al., 2001; Ranzani-Paiva et al., 2013; Grant, 2015). Os tambaqui experimentais se diferenciaram quanto ao VCM ($p=0,00$) em peixes do período inicial (dieta comercial) e peixes nutridos com níveis de lisina verificados no período final.

O VCM dos peixes sob dietas com lisina manifestou valores mínimos e máximos de, respectivamente, 113,35 e 145,98 fL. Tais valores participam do intervalo de referência do VCM (112,7-192,69) para tambaqui descrito em literatura (Tavares et al., 2009). No entanto, o VCM dos peixes do período inicial foi superior ao volume máximo esperado de 192,69 fL, gerando células desiguais e configurando anisocitose eritrocitária, o que inicialmente sugere desordens fisiológicas que podem ter origem na nutrição, como a anemia. Todavia, o prognóstico anêmico foi descartado pois elevadas concentrações de eritrócitos nas formas imaturas não foram constatadas no sangue dos peixes analisados e os dados biométricos não foram afetados (Satake et al., 2009).

A maturação dos eritrócitos dos peixes ocorre naturalmente no meio circulante, porém, em condição de anemia os eritrócitos não maturados são mantidos em maior concentração, dificultando a interpretação dos parâmetros do eritrograma (Satake et al., 2009). Ademais, a possibilidade de deficiência nutricional no período inicial não se expressou nos peixes do período final, haja vista que, se real, seria contornada pelas dietas contendo a L-lisina, que tende a se ligar com outros compostos como minerais e microminerais, e aumentar as vilosidades da mucosa intestinal, otimizando o transporte e absorção dos demais nutrientes necessários para manutenção e produção animal.

As informações sobre a hemoglobina corpuscular média (HCM), ainda que sejam calculadas com dados da hemoglobina, são obtidas em função do valor médio dos eritrócitos dos peixes, o que elucida o comportamento dos dados alinhados ao padrão observado no VCM, onde a análise dos peixes do período inicial (HCM: 81,65 pg) foi superior aos peixes alimentados com níveis de lisina no período final (HCM final médio: $45,54 \pm 5,69$ pg).

Tavares-Dias & Sandrin (1998) verificaram HCM de tambaqui pesando entre 500 e 700 g e identificaram amplitude variação entre 32,2 e 51,3 pg e valor médio de 41,40 pg, o que está

próximo da média do HCM encontrada neste trabalho para os peixes alimentados com L-lisina. O indicativo de alta quantidade de hemoglobina observada no sangue dos peixes juvenis expressa uma demanda nutricional não suprida no período inicial, mas garantida com o acréscimo de L-lisina nas dietas, considerando o HCM do período final.

A interpretação dos valores de HCM e de VCM requer análise criteriosa pois a base do cálculo (eritrócitos totais) pode apresentar uma margem de erro que influencie na resposta final (McCarthy et al., 1973; Tavares-Dias & Sandrin, 1998). De acordo com Tavares-Dias & Sandrin (1998), o índice hematimétrico que exprime maior precisão é o CHCM (CHCM médio: $36,34 \pm 1,06$ (g. dL⁻¹), que no atual estudo não oscilou entre as médias analisadas ($p > 0,05$).

4.3.2 Leucograma e trombograma

Na observação de neutrófilos e linfócitos, bem como eosinófilos e monócitos somente para os peixes que receberam dietas experimentais, torna-se elucidado que as dietas elaboradas com níveis de lisina não alteraram os diferentes leucócitos circulantes.

Quando verificados os diferentes tipos de leucócitos para todos os tratamentos (dieta inicial + dietas com níveis de lisina), os peixes não alimentados com as dietas experimentais mostraram maior percentual de linfócitos e menor percentual de neutrófilos. O aumento do percentual de neutrófilos, ou neutrofilia, seguido da redução da quantidade de linfócitos, ou linfopenia, sugere condição de estresse que seria comprovada se detectado redução do desempenho animal (Urbinati et al., 2015). Tal condição não foi observada, haja vista que nas análises biométricas foram registrados aumento de peso e comprimento dos juvenis de tambaqui até o maior nível produtivo em função da L-lisina, evidenciando ausência de impedimento da manifestação do aminoácido testado sobre o desempenho dos peixes.

Avaliando as modificações ocorridas entre as médias de cada leucócito diferenciado foi verificado que os neutrófilos dos tratamentos com dietas contendo lisina acima de $12,84 \text{ g. kg}^{-1}$ superaram os que receberam $9,72 \text{ g. kg}^{-1}$ e os que não receberam lisina sem as suplementações com lisina (tratamentos com lisina $9,72 \text{ g. kg}^{-1}$ e dieta inicial), sendo o maior percentual registrado no nível de lisina $15,96 \text{ g. kg}^{-1}$. Tavares-Dias et al. (1999), analisando linfócitos do sangue de tambaqui (peso vivo médio: $584,6 \text{ g}$; dieta com 28% de proteína bruta - PB), contaram $1566,2 \pm 754 \mu\text{L}$ de neutrófilos para um total de $2663,3 \pm 1288 \mu\text{L}$ leucócitos, o que representa cerca de 58,80% de neutrófilos. Tal percentual se aproxima dos valores de neutrófilos encontrados nos níveis mais elevados de lisina no atual trabalho com tambaqui.

Assim como ocorreu neste trabalho, nos estudos de Tavares-Dias et al. (1999) com tambaqui os neutrófilos foram os leucócitos circulantes mais abundantes. Em teleósteos, tais células expõem a hipersensibilidade do peixe diante das adaptações ao meio (Mahajan & Dheer 1979; Tavares-Dias et al., 1999). De modo geral, o maior percentual de leucócitos no sangue de Teleósteos brasileiros de água doce corresponde aos linfócitos (LF) (Tavares-Dias et al., 1999), como detectado para o peixe amazônico pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) por Drumond et. (2010) (LF: $89,9 \pm 6,3\%$ para alevinos e $55,6 \pm 9,9\%$ para juvenis). Porém, para juvenis de tambaqui parasitados (peso vivo: $35,53 \pm 2,77$ g e $62,71 \pm 2,75$ g), alimentados com dieta comercial (PB: 36%) e avaliados quanto ao efeito de diferentes biofiltros sob densidades distintas, Lima et al. (2019) registraram concentrações mais elevadas de linfócitos ($65,4$ a $84,9 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$).

A ausência de padrão expressa pelas médias dos leucócitos totais não permite associação clara com o efeito da dieta. A mesma despadroneização foi observada por Zhou et al. (2007) para os leucócitos totais de cobias sob nutrição com níveis de lisina (4.90 ± 0.20 a $6.87 \pm 0.21 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$), que declararam que tais diferenças foram, provavelmente, ocasionadas por estresse nutricional e não por ação ineficiente das diversas concentrações do aminoácido. A média dos valores analisados neste trabalho com tambaqui ($30401 \pm 12560 \mu\text{L}$) não se distanciou da média verificada por Pádua et al. (2013) para tambaqui (*C. macropomum*; peso médio: $357,5 \pm 94,5$ g) utilizados como controle nos estudos sobre o efeito de anestésicos nos parâmetros hematológicos (Leucócitos totais: $32,2 \pm 6,1 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ ou $32200 \mu\text{L}$), e para juvenis de pirarucu (*A. gigas*; Leucócitos totais: $25091 \pm 6121 \mu\text{L}$) cultivados em sistema semi-intensivo na Amazônia.

Os leucócitos têm sua importância reconhecida na imunidade não específica do organismo dos peixes, atuando em processos inflamatório dos tecidos, sendo assim, indicadores da higidez do animal (Tavares-Dias & Moraes, 2004; Ishikawa et al., 2008). Dificuldades em diferenciar leucócitos e trombócitos na câmara de Neubauer (método direto), conduz a utilização da metodologia indireta utilizada neste trabalho (Ishikawa et al., 2008).

As concentrações de trombócitos para os juvenis tambaqui analisados (média: $10412.20 \pm 4729.97 \mu\text{L}$) se mantém dentro ou próximo ao intervalo de $2.000-78.900 \sim \text{L}$ (exceto os tratamentos $9,72$ e $19,08 \text{ g. kg}^{-1}$) descrito em literatura para peixes por Tavares-Dias et al. (2009). Todavia, em relação aos valores dos trombócitos encontrados para tambaqui por Padua et al. (2013) nos peixes sem tratamento e sob tratamentos com óleos de cravo e benzocaína (respectivamente, $39,2 \pm 15,6$; $37,8 \pm 12,5$; $57,8 \pm 8,1 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$), a concentração verificada para

os juvenis esteve inferior. Esta condição permanece quando comparada com trombócitos de outras espécies de peixes cultivados no Brasil como o jundiá cinza (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824), a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), a piracanjuba (*Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850) e o pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), caracterizados por Dal'bó et al (2015) (respectivamente: $48,6 \pm 16,8$; $35,9 \pm 14,4$; $37,9 \pm 7,8$; e $30,0 \pm 7,8 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$).

Fatores bióticos e abióticos podem interferir nas concentrações de trombócitos (Tavares-Dias et al., 2009). Apesar de participar da coagulação, a tradução clínica das funções e comportamentos dos trombócitos dos peixes ainda não foram totalmente elucidadas, porém, sabe-se que alguns peixes neotropicais (como a traíra; *Hoplias malabaricus* Bloch, 1794) podem expressar uma reversível redução de trombócitos, ou trombopenia, mediante jejum prolongado (Rios et al., 2005; Clauss et., 2008). Considerando que os tambaquianalisados ficaram em jejum por 24 horas a ocorrência da trombopenia por restrição alimentar é uma possibilidade que, para ser confirmada, seria necessário novas análises hematológicas com jejum seguido de realimentação dos tambaquis alimentados com L-lisina.

4.4 Bioquímica sérica

Peixes com patologias que geram infecções apresentam baixas concentrações de colesterol total no plasma, portanto, o nível sérico de colesterol é também um sinalizador sobre a condição geral da saúde dos peixes (Fukuda et al. 1997; Bezerra et al. 2013). Os juvenis de tambaqui analisados apresentaram teores de colesterol normais ou elevados. Embora alguns estudos vinculem variações no colesterol a dieta dos peixes, é real a possibilidade delas indicarem adaptações ao meio, resposta secundária a condição de estresse e mobilização para biossíntese de hormônios esteróides em períodos reprodutivos, propiciando aumento do colesterol total (Jordal et al., 2007; Ferreira et al, 2011).

Luo et al. (2006) encontraram concentrações de colesterol entre $2,11 \pm 0,19$ e $2,97 \pm 0,28$ a mmol. L^{-1} para o peixe Serranidae do sudeste asiático grouper (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822) com peso inicial médio de $15,84 \pm 0,23$ g, alimentado com níveis de L-lisina. As respostas obtidas pelos pesquisadores apresentaram diferenças significativas, mas, com variações que não as caracterizam como efeito da dieta sobre o colesterol total. Esta descrição corrobora com o verificado neste trabalho onde, possivelmente, as alterações entre as médias do colesterol total foram influenciadas por fatores não limitados a dieta.

Adesola et al. (2017) investigando a exigência de lisina para juvenis do peixe africano dusky kob (*Argyrosomus japonicus* Griffiths & Heemstra, 1995), não encontraram diferenças significativas para o colesterol, assim como ocorreu para triglicerídeo, glicose e proteínas totais.

A elaboração de dietas com aminoácidos cristalinos possibilita a redução na quantidade de proteína nas dietas (Cavalheiro et al., 2014). As dietas experimentais para juvenis de tambaqui foram elaboradas com menor teor de proteína (27%) do que a dieta comercial utilizada (32%), porém, com proteína estruturada com altos níveis de aminoácidos em condição de pronta absorção pelo organismo do peixe, conferindo maior qualidade ao composto biológico. Esta condição pode ter contribuído diretamente nas maiores concentrações de proteínas verificadas no sangue dos peixes do período final (Proteína total: 4,27 a 7,35 g.dL⁻¹) em relação aos do período inicial (3,17 g.dL⁻¹). Os teores de proteína no tecido sanguíneo de peixes tropicais em piscicultura se mantem entre 2,3 e 8,2 g.dL⁻¹, possibilitando assumir os valores verificados neste trabalho como dentro da normalidade (Tavares-Dias & Moraes, 2003; Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004).

Argumentando que as dietas experimentais consumidas pelos juvenis de tambaqui eram ricas em aminoácidos, componentes base das proteínas, a previsão foi de aumento da proteína sérica concomitante ao aumento dos níveis de lisina. Todavia, os dados sanguíneos revelaram uma predisposição de elevação proteica até o nível de 15,96 g. kg⁻¹ de lisina, seguida de redução. Este padrão se assemelha ao observado para a taxa de eficiência proteica, que considera o consumo da proteína da dieta em relação ao desempenho do peixe, verificado em juvenis de tambaqui alimentados com lisina por Liebl et al. (2019), onde a tendência de maior ganho ocorreu no nível de 15,96 g. kg⁻¹ de lisina.

A concentração de proteínas totais no sangue dos juvenis de tambaqui nutridos com 15,96 g. kg⁻¹ de lisina aumentou cerca de 56,8 % em relação a dos peixes não alimentados com dietas experimentais (p=0,01), enquanto a concentração de proteínas entre os peixes que receberam dietas experimentais não expressou diferença na análise de variância. Porém, por observação, o maior teor de proteína (7,35 g.dL⁻¹) foi notado perante adição de lisina 15,96 g. kg⁻¹ (Tabela 6).

O nível em que Liebl et al. (2019) observaram a predisposição para eficiência proteica também proporcionou maior peso, seguido de diminuição deste parâmetro nas adições seguintes (19,08 e 22,20 g. kg⁻¹ de lisina). Segundo NRC (2011) a eficiência da lisina e outros parâmetros de desempenho animal são moderados pela composição corporal. Assim sendo, as observações sugerem que concentrações de lisina no sangue de tambaqui superiores a

necessidade do animal tendem a desbalancear reações metabólicas e degradar o aminoácido, o que pode comprometer o máximo desempenho do peixe.

4.5 Enzimologia

4.5.1 Concentração de proteínas no trato gastrointestinal

Concordando com a análise proteica do sangue, a adição de 15,96 e 19,08 g. kg⁻¹ de lisina na dieta proveu as maiores concentração de proteína intestino médio dos juvenis de tambaqui (15,23 e 15,20 g.dL⁻¹), que se diferenciaram das concentrações menores (13,56 g.dL⁻¹) verificadas nos peixes que receberam dieta inicial.

De modo geral, o tripsinogênio dos peixes é ativado em tripsina, que hidrolisa proteínas e polipeptídios em aminoácidos livres (biodisponíveis) nos enterócitos da mucosa intestinal e disponibilizadas na corrente sanguínea no processo de absorção, ou permanecer no lúmen do intestino até a excreção (NRC, 2011; Portz & Furuya, 2012). Segundo Rotta (2003) o intestino médio é especializado na absorção das proteínas e aminoácidos biodisponíveis, o que esclarece o fato de a influência da proteína total de dietas ricas em aminoácidos ter sido significativa especificamente no intestino médio dos juvenis do tambaqui.

Em todas as porções intestinais dos tambaquis foi possível observar a expressão do colágeno evidenciada nas túnicas serosa, muscular, submucosa, e na extensão das vilosidades promovida pela mucosa. O colágeno é uma proteína sintetizada e composta (além da alanina, hidroxiprolina e hidroxilisina) essencialmente pelos aminoácidos glicina, prolina e pela lisina absorvida da dieta (Damodaran & Parkin). Desta forma, dietas enriquecidas com L-lisina como as trabalhadas neste estudo, tendem a favorecer aumento da síntese desta proteína, que em quantidades insuficientes pode limitar o crescimento animal.

Células secretoras e células absorptivas também foram evidenciadas mediante coloração. As caliciformes são especializadas na produção e secreção da proteína mucina que protege o tecido epitelial da ação de agentes biológicos, físicos e químicos, e ainda, contribuem com processos de digestão e emulsificação do quimo (Deplancke & Gaskins, 2001). Os enterócitos estão distribuídos por toda mucosa intestinal, participam dos processos absorptivos e de clivagem dos nutrientes, sendo a absorção dos aminoácidos realizada na membrana apical da célula (Rotta, 2003). Os aminoácidos são então transportados por difusão para capilares sanguíneos e redistribuídos pelo corpo do peixe. Assim sendo, a detecção destas estruturas em quantidades

no intestino dos peixes pode indicar maior disponibilidade orgânica para ocorrência dos procedimentos primordiais para eficiência das dietas.

4.5.2 Atividade das enzimas digestivas lipase e amilase

A enzima digestiva amilase tende a não manifestar atividade mediante associação com a dextrina, com a albumina ou com amido não processado. O processamento por extrusão ou cozimento dos ingredientes naturais adicionados na dieta, como grãos e cereais, gelatiniza o amido e cliva a albumina, o que otimiza a digestibilidade (Rotta et al., 2003).

Segundo Corrêa et al. (2007), juvenis de tambaqui (peso médio de $167,7 \pm 8,09$) sob dietas com três diferentes níveis de amido de milho (30, 40 e 50%) responderam ao tratamento nutricional com aumento da ação da amilase nos maiores níveis do amido, sendo mais expressiva nos cecos pilóricos dos peixes. De igual forma, Almeida et al. (2006) também assumiram os cecos pilóricos de juvenis de tambaqui (peso médio: $112,15 \pm 35,31$ g) nutridos com dietas distintas (Proteína: 205 a 350 g. kg^{-1} ; Lipídeos: 49 a 145 g. kg^{-1}) como a fração do trato gastrointestinal com maior manifestação da atividade da amilase, sendo de $205 \pm 8 \text{ U. mg}^{-1}$ de proteína. No trabalho atual com tambaqui nutridos níveis de L-lisina, as maiores atividades foram igualmente verificadas nos cecos pilóricos ($250,9 \pm 39,08 \text{ U. mg}^{-1}$ de proteína), porém, não houve diferença entre os tratamentos.

Na análise da atividade da lipase, Lundstedt et al. (2004) registraram para o Teleósteo carnívoro pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*; Spix & Agassiz, 1829) com peso médio inicial de 68.8g, alimentado com diferentes níveis de proteína (20, 30, 40 e 50%), expressão de $1,9 \pm 0,32$ a $3,9 \pm 0,58 \text{ U. mg}^{-1}$ de proteína no estômago, $5,53 \pm 0,46$ a $14,49 \pm 2,48 \text{ U. mg}^{-1}$ de proteína no intestino anterior, sendo os maiores valores verificados no maior percentual proteico da dieta. Outrossim, Almeida et al. (2006) verificaram maior atividade da lipase no estômago de indivíduos de tambaqui na fase juvenil ($469,4 \pm 41 \text{ U. mg}^{-1}$ de proteína), sendo observada redução da lipase gástrica na mesma proporção do aumento do lipídio na dieta. No entanto, os autores afirmam que a lipase também se expressou nas porções intestinais. Os juvenis de tambaqui analisados sob lisina dietética tiveram as maiores expressões de lipase no estômago dos peixes alimentados com dietas sem adição de lisina (período inicial e $6,60 \text{ g. kg}^{-1}$ de lisina). Para dietas confeccionadas contendo níveis de lisina os maiores resultados foram notados no intestino médio, não se diferenciando entre as dietas experimentais.

O tambaqui possui a capacidade de modular a ação das suas principais dietas à composição das dietas, quando necessário, permitindo melhor aproveitamento dos compostos da fração aminoacídica, dos lipídios e dos carboidratos (Almeida et al., 2006). Lipídios e carboidratos adicionados na dieta podem promover o efeito poupador dos componentes aminoacídicos, substituindo aminoácidos que poderiam ser utilizados na formação de glicogênio (neoglicogenese), e que desta maneira, serão direcionados às suas demais funções no organismo animal como síntese protéica, crescimento e reprodução (Barroso et al., 2001; Nyina Wamwiza et al., 2005).

5. CONCLUSÃO

No estudo realizado conclui-se que níveis de lisina não influenciaram enzimas lipase e amilase, e o hemograma, sendo a bioquímica sérica expressiva quanto a obtenção de proteínas, juntamente com a bioquímica do tecido intestinal, que se manifestou sobre a absorção de proteína indicando o nível da exigência nutricional, em 15,96 g. kg⁻¹ de lisina total, que corresponde a 5,91 % da proteína da dieta.

6. REFERÊNCIAS

Adesola, A. A., Jones, C. L. W., & Shipton, T. A. (2018). Dietary lysine requirement of juvenile dusky kob, *Argyrosomus japonicus*. *Aquaculture nutrition*, 24(1), 673-680. DOI: <https://doi.org/10.1111/anu.12576>.

Albro, P. W., Hall, R. D., Corbett, J. T., & Schroeder, J. (1985). Activation of nonspecific lipase (EC 3.1. 1.-) by bile salts. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 835(3), 477-490. DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(85\)90117-1](https://doi.org/10.1016/0005-2760(85)90117-1).

Almeida, L. C., Lundstedt, L. M., & Moraes, G. (2006). Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. *Aquaculture Nutrition*, 12(6), 443-450. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00446.x>.

Araújo-Lima, C. A. R. M.; Gomes, L. C. 2005. *Tambaqui (Colossoma macropomum) IN: Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. (Ed). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Cap. Tambaqui, v. 2. Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, p. 67-104.*

Aride, P. H. R., Oliveira, A. M., Batista, R. B., Ferreira, M. S., Pantoja-Lima, J., Ladislau, D. S., Oliveira, A. T. (2018). Changes on physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed with diets supplemented with Amazonian fruit Camu camu (*Myrciaria dubia*). *Brazilian Journal of Biology*, 78(2), 360-367. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.169442>.

Aride, P. H. R., Roubach, R., & Val, A. L. (2007). Tolerance response of tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*, 38(6), 588-594. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01693.x>.

Barroso, J. B., Peragon, J., Garcia-Salguero, L., de la Higuera, M., & Lupiáñez, J. A. (2001). Carbohydrate deprivation reduces NADPH-production in fish liver but not in adipose tissue. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 33(8), 785-796. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(01\)00050-4](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00050-4).

Bernfeld, P. (1955). Amylase assays. *Methods in enzymology*, 1, 149-58. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5).

Bezerra, R. F., Soares, M. D. C. F., Santos, A. J. G., Carvalho, E. M., & Coelho, L. C. B. B. (2013). Secondary indicators of seasonal stress in the amazonian pirarucu fish (*Arapaima gigas*). *Advances in environmental research*, 28, 233-244. ISBN: 978-1-62417-738-5.

Bolognesi, C., & Hayashi, M. (2011). Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*, 26(1), 205-213. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/geq073>.

Boyd, C. E. (1990). Water quality in ponds for aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn university. *Alabama*, p 482.

Buzollo, H., Sandre, L. C. G., Neira, L. M., Nascimento, T. M. T., Jomori, R. K., & Carneiro, D. J. (2019). Digestible protein requirements and muscle growth in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Nutrition*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12888>.

Caula, F. C. B., Oliveira, M. P., & Lima, E. (2008). Teor de colesterol e composição centesimal de algumas espécies de peixes do estado do Ceará. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(4), 959-963. ISSN: 0101-2061.

Chagas, E. C., & Val, A. L. (2003). Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(3), 397-402. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2003000300009>.

Clauss, T. M., Dove, A. D., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic disorders of fish. *Veterinary clinics of North America: Exotic animal practice*, 11(3), 445-462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>.

Corrêa, C. F., de Aguiar, L. H., Lundstedt, L. M., & Moraes, G. (2007). Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147(4), 857-862. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.12.045>.

Damodaran, S., & Parkin, K. L. (2019). *Química de alimentos de Fennema*. 5ª Edição. Artmed Editora. 1120 p. ISBN: 9781482208122.

Deplancke, B., & Gaskins, H. R. (2001). Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *The American journal of clinical nutrition*, 73(6), 1131S-1141S. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.6.1131S>.

Dromond, G. V. F., Caixeiro, A. P. A., Tavares Dias, M., Marcon, J. L. & Affonso, E. G. (2010). Características bioquímicas e hematológicas do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) de cultivo semi-intensivo na Amazônia. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672010000300020>.

Ferreira, M. W., de Araujo, F. G., Costa, D. V., Rosa, P. V., Figueiredo, H. C., & Murgas, L. D. (2011). Influence of dietary oil sources on muscle composition and plasma lipoprotein concentrations in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(1), 24-33. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00440.x>.

Fountoulaki, E., Alexis, M. N., Nengas, I., & Venou, B. (2005). Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata*

L.). *Aquaculture Research*, 36(13), 1243-1251. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01232.x>.

Fujimoto, R. Y., Hide, D. M. V., Paixão, P. E. G., Abe, H. A., Dias, J. A. R., Sousa, N. C., & Ishikawa, M. M. (2019). Fauna parasitária e relação parasito-hospedeiro de tambaquis criados na região do Baixo São Francisco, nordeste do Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71(2), 563-570. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-10306>.

Fukuda, Y., Maita, M., Satoh, K. I., Yamamoto, H., Okamoto, N., & Ikeda, Y. (1997). Effects of dissolved oxygen concentration on experimental horizontal transmission of induced by artificial infection with *Enterococcus seriolicida* in yellowtail. *Fish Pathology*, 32(1), 43-49. DOI: <https://doi.org/10.3147/jsfp.32.43>.

Furuya, W. M., Michelato, M., Graciano, T. S., Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Furuya, V. R. B., & de Moura, L. B. (2013). Exigência de lisina digestível para a tilápia-do-Nilo de 87 a 226 g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina: lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4). DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1945>.

Goldenfarb, P. B., Bowyer, F. P., Hall, E., & Brosious, E. (1971). Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56(1), 35-39. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>.

Grant, K. R. (2015). Fish hematology and associated disorders. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 18(1), 83-103. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.007>.

Grisdale-Helland, B., Hatlen, B., Mundheim, H., & Helland, S. J. (2011). Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. *Aquaculture*, 315(3-4), 260-268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.015>.

Hesser, E. F. (1960). Methods for routine fish hematology. *The Progressive Fish-Culturist*, 22(4), 164-171. DOI: [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1960\)22\[164:MFRFH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1960)22[164:MFRFH]2.0.CO;2).

Higuchi, L. H., Feiden, A., Maluf, M. L. F., Dallagnol, J. M., Zaminhan, M., & Boscolo, W. R. (2011). Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis protéicos e energéticos. *Ciência Animal Brasileira*, 12(1), 70-75. DOI: <https://doi.org/10.5216/cab.v12i1.8986>.

- Hrubec, T. C., Smith, S. A., & Robertson, J. L. (2001). Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Veterinary Clinical Pathology*, 30(1), 8-15. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2001.tb00249.x>.
- Hua, K., Suwendi, E., & Bureau, D. P. (2019). Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 505, 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.030>.
- Ishikawa, N. M., Ranzani-Paiva, M. J. T., & Lombardi, J. V. (2008). Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe *Oreochromis Niloticus*. *Archives of Veterinary Science*, 54-63. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v13i1.11560>.
- Jordal, A. E., Lie, Ø., & Torstensen, B. E. (2007). Complete replacement of dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 13(2), 114-130. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00455.x>.
- Kuz'Mina, V. V. (1996). Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture*, 148(1), 25-37. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01370-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01370-1).
- Lemos, C. H. P., Ribeiro, C. V. D. M., Oliveira, C. P. B., Couto, R. D., & Copatti, C. E. (2018). Effects of interaction between pH and stocking density on the growth, haematological and biochemical responses of Nile tilapia juveniles. *Aquaculture*, 495, 62-67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.037>.
- Liebl, A. R. S., Nascimento, M. S., Oliveira, L. F., Duncan, W. L. P., Bussons, M. R. F. M., Furuya, W. M., Oliveira, A. T. (2019). Exigência de L-lisina para melhor desempenho zootécnico, caracterização do filé e histomorfometria intestinal de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Aquaculture nutrition*. Submetido.
- Lima, J. F., Montagner, D., Duarte, S. S., Yoshioka, E. T. O., Dias, M. K. R., & Tavares-Dias, M. (2019). Sistema de recirculação usando filtros biológicos aerados no cultivo de alevinos de tambaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54, 00294. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00294>.

- Lundstedt, L. M., Melo, J. F. B., & Moraes, G. (2004). Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 137(3), 331-339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.12.003>.
- Luo, Z., Liu, Y. J., Mai, K. S., Tian, L. X., Tan, X. Y., Yang, H. J., ... & Liu, D. H. (2006). Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 12(3), 165-172. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00392.x>.
- Mahajan, C. L., & Dheer, J. S. (1979). Cell types in the peripheral blood of an air-breathing fish *Channa punctatus*. *Journal of fish biology*, 14(5), 481-487. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1979.tb03546.x>.
- McCarthy, D. H., Stevenson, J. P., & Roberts, M. S. (1973). Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) I. The Kamloops variety. *Journal of fish Biology*, 5(1), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04425.x>.
- Michelato, M., de Oliveira Vidal, L. V., Xavier, T. O., de Moura, L. B., de Almeida, F. L. A., Pedrosa, V. B., & Furuya, W. M. (2016). Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. *Aquaculture*, 457, 124-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.022>.
- National Research Council. (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. National academies press.
- Ngugi, C.C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P.S., Chemoiwa, E.J., Aloo, P.A., 2015. Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 44, 533–541. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.025>.
- Nyina-wamwiza, L., Xu, X. L., Blanchard, G., & Kestemont, P. (2005). Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. *Aquaculture Research*, 36(5), 486-492. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01233.x>.

Oliveira, A. T., Lemos, J., Santos, M., Araújo, M. L. G., Tavares-Dias, M., & Marcon, J. (2012). Procedimentos de manuseio e de colheita do sangue em arraias de água doce. *Embrapa Amapá- Documentos (INFOTECA-E)*. ISSN: 1517-4559.

Pádua, S. B. D., Pilarski, F., Sakabe, R., Dias-Neto, J., Chagas, E. C., & Ishikawa, M. M. (2012). Heparin and K3EDTA as anticoagulants for tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1816). *Acta Amazonica*, 42(2), 293-298. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672012000200017>.

Pádua, S. B., Neto, J. D., Sakabe, R., da Silva Claudiano, G., Chaga, E. C., & Pilarski, F. (2013). Variáveis hematológicas em tambaquis anestesiados com óleo de cravo e benzocaína. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 1171-1174. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800056>.

Pereira, D. S. P., Guerra-Santos, B., Moreira, E. L. T., Albinati, R. C. B., & Ayres, M. C. C. (2018). Parâmetros hematológicos e histológicos de tilápia-do-Nilo em resposta ao desafio de diferentes níveis de salinidade. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(3), 635-647. DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p635>.

Portz, L.; Furuya, W.M. Energia, proteína e aminoácidos. In: Fracalossi, D.M.; Cyrino, J.E.P. (2012). *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. p.65-77. ISBN: 9788560190034.

Prado, R. R., Mendonça, E. P., Monteiro, G. P., Melo, R. T., & Rossi, D. A. (2016). Eritrograma em Medicina Veterinária: Apostila. *PUBVET*, 10(1), 61-82. ISSN: 1982-1263.

Ranzani-Paiva, M. J. T., Pádua, S. D., Tavares-Dias, M., & Egami, M. I. (2013). Métodos para análise hematológica em peixes. *Maringá: Eduem*, 140p. ISBN: 978-85-7628-530-4.

Rebouças, P. M., Lima, L. R., Dias, I. F., & Barbosa Filho, J. A. D. (2014). Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 2(2), 35-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.14269/2318-1265.v02n02a01>

Rios, F. S., Oba, E. T., Fernandes, M. N., Kalinin, A. L., & Rantin, F. T. (2005). Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traíra, *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). *Comparative Biochemistry and*

Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 140(3), 281-287. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.12.006>.

Rodrigues, A. P. O. (2014). Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 40, 135-145.

Rotta, M. A. (2003). Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. *Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)*. ISSN: 1517-1973.

Ruchimat, T., Masumoto, T., Hosokawa, H., Itoh, Y., & Shimeno, S. (1997). Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 158(3-4), 331-339. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00215-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00215-9).

Satake, F., Pádua, S. D., & Ishikawa, M. M. (2009). Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. Macapá: Embrapa Amapá*, p 330-345.

Schmittou, H. R. (1993). *High density fish culture in low volume cages*. American Soybean Association. 78 p.

Seriani, R., de Souza Abessa, D. M., Kirschbaum, A. A., Pereira, C. D. S., Romano, P., & Ranzani-Paiva, M. J. T. (2012). Relationship between water toxicity and hematological changes in *Oreochromis niloticus*. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 15(2), 47-53.

Signor, F. R. P., Signor, A. A., Signor, A., Feiden, A., & Boscolo, W. R. (2017). Parâmetros hematológicos e bioquímicos do jundiá (*Rhamdia voulezi*) alimentados com rações orgânica e convencional. *Agrarian*, 10 (37), 254-260. DOI: <https://doi.org/10.30612/agrarian.v10i37.5323>.

Sunde, J., Taranger, G. L., & Rungruangsak-Torrissen, K. (2001). Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 25(4), 335-345. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1023233024001>.

Tavares-Dias, M., & de Moraes, F. R. (2003). Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "Pesque-Pague" de Franca, São Paulo, Brasil. *Bioscience Journal*, 19(1).

Tavares-Dias, M., & Mataqueiro, M. I. (2004). Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 26(2), 157-62.

Tavares-Dias, M., & Sandrim, E. F. S. (1998). Influence of anticoagulants and blood storage on hematological values in tambaqui, *Colossoma macropomum*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 20, 151-155. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v20i0.4465>.

Tavares-Dias, M., Ishikawa, M. M., Martins, M. L., Satake, F., Hisano, H., de Pádua, S. B., & Jerônimo, G. T. (2009). *Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo*. In: Saran Net, A.; Mariano, W. Dos S.; Sória, Sfp (Org.). Tópicos especiais em saúde e criação animal. São Carlos, SP: Pedro & João Editores, 2009. p. 43-80. ISBN: 978-85-99803-78-3.

Tavares-Dias, M., Sandrim, E. F. S., & Campos-Filho, E. D. (1999). Características hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes, Characidae) em sistema de monocultivo intensivo: II. Leucócitos. *Revista Brasileira de Zoologia*, 175-184. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81751999000100012>.

Underwood, W., Anthony, R., Cartner, S., Corey, D., Grandin, T., Greenacre, C. B., ... & Miller, D. (2013). AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association. ISBN: 978-1-882691-21-0.

Urbinati, E. C., Zanuzzo, F. S., Serra, M., Wolkers, C. P. B., & Sabioni, R. E. (2015). Avanços da fisiologia do estresse e suas implicações em espécies nativas. *Tavares-Dias M, Mariano WS. Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos: Editora Pedro & João*, 381-416. ISBN: 978-85-7993-271-7.

Wintrobe, M. M. (1934). Relation of variations in mean corpuscular volume to number of reticulocytes in pernicious anemia: the significance of increased bone marrow activity in determining the mean size of red corpuscles. *The Journal of clinical investigation*, 13(4), 669-676. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI100613>.

Zhou, Q. C., Wu, Z. H., Chi, S. Y., & Yang, Q. H. (2007). Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 273(4), 634-640. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.056>.

ARTIGO IV

Liebl, A.R.S., Nascimento, M.S., Oliveira, L.F., Bussons, M.R.F.M., Furuya, W.M., Oliveira, A.T. (2019). Efeito da lisina na caracterização do filé, subprodutos, resíduos, e morfometria de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). Formatado segundo *Aquaculture Nutrition*, 27 p.

EFEITO DA LISINA NA CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ, SUBPRODUTOS, RESÍDUOS, E MORFOMETRIA DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818)

Ariany Rabello da Silva Liebl^{1*}, Marcelo dos Santos Nascimento², Luan Ferreira de Oliveira³, Márcia Regina Fragoso Machado Bussons⁴, Wilson Massamitu Furuya⁵, Adriano Teixeira de Oliveira⁶

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos-CIPET, Faculdade de Ciências Agrárias-FCA, Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Avenida General Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 6200-Coroado I, Manaus-AM, 69067-005, Brazil.

² Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Nilton Lins, Av. Prof. Nilton Lins, 3259, Parque das Laranjeiras, Flores, 69058-030, Manaus, AM, Brasil.

³ Programa de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Nilton Lins, Av. Prof. Nilton Lins, 3259, Parque das Laranjeiras, Flores, 69058-030, Manaus, AM, Brasil.

⁴ Supervisora Técnica Operacional, Fazenda Dona Branca, 28860-000, Casimiro de Abreu, RJ, Brasil.

⁵ Departamento de Zootecnia - Bloco Z, Sala 101, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Avenida General Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas, 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

⁶ Instituto Federal do Amazonas – IFAM, Avenida Sete de Setembro, Centro, Manaus – AM.

Correspondência

Ariany Rabello da Silva Liebl, Universidade Federal do Amazonas, Avenida General Rodrigo Octávio, Coroado I, 69077-000, Manaus, Amazonas, Brazil. Phone: +55 0923305 4063;

Email: ny.rabello@gmail.com

RESUMO

A lisina participa de processos biológicos do crescimento do filé, da pele e das demais porções dos rendimentos dos peixes. Objetivando avaliar rendimentos dos subprodutos, resíduos e morfometria de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sob nutrição com níveis de lisina, foram elaboradas dietas contendo 6,60, 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total (respectivamente: L-lisina 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g. Kg⁻¹), e ofertadas aos peixes (33,88 ± 2,47g e 11,72 ± 0,36 cm) distribuídos em 18 tanques (310 L) durante 90 dias. Para morfometria, as medidas dos peixes inteiros (n=9 peixes/ dieta) foram aferidas e relacionadas entre si, e para os subprodutos e resíduos cada porção foi pesada em balança (0,001g). Todas as variáveis foram validadas por ANOVA, teste de Tukey, e análise de regressão quadrática (p<0,05). Não foram verificadas diferenças para as variáveis morfométricas (p>0,05). A razão entre os dados morfométricos dos comprimentos padrão e total apresentou significância nos níveis 9,72 e 15,96 g. Kg⁻¹ (p=0,03). O peixe eviscerado e os filés, os teores proteicos e lipídicos dos filés, e os pesos e os comprimentos dos intestinos, não alteraram (p>0,05). O máximo de filé com pele foi estimado pela regressão quadrática com platô em 18,22 g. Kg⁻¹ de lisina total (p=0,00). A umidade modificou com lisina 22,20 g. Kg⁻¹ (p=0,00), e os minerais, entre 6,60 e 22,20 g. Kg⁻¹ (p=0,01). O nível de lisina 9,72 g. Kg⁻¹ proporcionou maior resultado para a pele bruta (p=0,03). O acréscimo dos níveis de lisina na dieta propiciou aumento das nadadeiras (p=0,00). Desta forma, conclui-se que a adição de lisina na dieta não influenciou diretamente a morfometria e rendimentos dos peixes na fase juvenil, mas atuou sobre o resíduo nadadeiras e estimulou o subproduto pele, estimulando outras pesquisas em igual condições para a fase adulta do tambaqui.

Palavras-chave: Piscicultura, nutrição, aminoácido, rendimento, espécie nativa.

ABSTRACT

Lysine participates in biological processes of fillet growth, skin growth and other portions of fish yields. In order to evaluate yields of byproducts, residues and morphometry of juveniles of tambaqui (*Colossoma macropomum*) under nutrition with lysine levels, diets containing 6.60, 9.72, 12.84, 15.96, 19.08 and 22 were prepared. 20 g. Kg⁻¹ of total lysine (respectively: L-lysine 0.00, 4.00, 8.00, 12.00, 16.00 and 20.00 g. Kg⁻¹), and offered to fish (33.88 ± 2.47 g and 11.72 ± 0.36 cm) distributed in 18 tanks (310 L) for 90 days. For morphometry, the measurements of whole fish (n = 9 fish / diet) were measured and related to each other, and for the byproducts and residues each portion was weighed (0.001g). All variables were validated by ANOVA, Tukey's test, and quadratic regression analysis (p <0.05). No differences were found for morphometric variables (p > 0.05). The ratio between morphometric data of standard and total lengths was significant at levels 9.72 and 15.96 g. Kg⁻¹ (p = 0.03). Gutted fish and fillets, protein and lipid contents of fillets, and intestinal weights and lengths did not change (p > 0.05). Maximum skin fillet was estimated by quadratic regression with plateau at 18.22 g. Kg⁻¹ of total lysine (p = 0.00). Moisture changed with lysine 22,20 g. Kg⁻¹ (p = 0.00), and minerals between 6.60 and 22.20 g. Kg⁻¹ (p = 0.01). The lysine level 9.72 g. Kg⁻¹ provided higher results for raw skin (p = 0.03). The increase in dietary lysine levels led to increased fins (p = 0.00). Thus, it was concluded that the addition of lysine in the diet did not directly influence the morphometry and yield of fish in the juvenile phase, but it influenced the fin residue and stimulated the skin byproduct, stimulating other research in equal conditions for the tambaqui adult phase.

Keywords: fish farming, nutrition, amino acid, yield, native species.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade de peixes modera a produção de subprodutos e resíduos da espécie sob cultivo e oportuniza o aproveitamento das frações com baixo, ou isentas de, valor comercial, quando conhecido o rendimento e composição química destas. Desta forma, a organização logística da produção de peixes implica no conhecimento que não se restrinja a quantidade de produtos comestíveis, mas inclua informações sobre os subprodutos e resíduos do processamento, analisando a viabilidade, ganhos em produtividade e retorno das aplicações financeiras (Simões et al., 2007). Dos investimentos com a produção, a dieta é a mais dispendiosa, sendo o percentual de aminoácidos o que mais requer valores (NRC, 2011; Oliveira-Teles, 2012; Souza et al., 2019).

A lisina é um aminoácido limitante nas dietas para peixes elaboradas com produtos de origem vegetal, direcionado para síntese proteica, tendendo a aumentar o rendimento do corte do produto principal do peixe, o filé, dos subprodutos como a pele e o tronco, além dos resíduos da filetagem, tais como a cabeça e nadadeiras (Furuya et al., 2006; Gaylord & Barrows, 2009; Ovie & Eze, 2013; Hua et al., 2019).

Resíduos e subprodutos do peixe podem ser direcionados para preparo de ingredientes da dieta animal, extração de colágeno, para produção de fertilizantes, de produtos químicos, produtos artesanais e outros produtos para nutrição humana, considerando que resíduos de peixe são ricos em proteínas e ômega-3 (Cavalcante Júnior et al., 2005; Feltes et al., 2010; Souza et al., 2016).

A exploração das porções residuais do peixe eleva a qualidade da indústria da pesca ao superar a demanda tradicional e ofertar produtos oriundos de reaproveitamento de materiais com alto valor nutritivo, favorecendo preços mais acessíveis a populações menos privilegiadas economicamente, reduzindo descartes que, senão realizados corretamente tendem a gerar entraves ambientais e na saúde pública (Feltes et al., 2010).

O peso dos resíduos e as características anatômicas do corpo do peixe, estão entre as condicionantes para maior rendimento do corte do produto (Contreras-Guzmán, 1994; Leonardth et al, 2006; Basso & Ferreira, 2011). Cooperando com a determinação do rendimento do produto e dos subprodutos, estão as características morfométricas, que são parâmetros indicativos para o percentual dos cortes do peixe, sendo de grande relevância em avaliações genéticas, na escolha da espécie a ser produzida e no planejamento e padronização das porções do pescado industrializado, em especial, o filé (Mafra et al., 2016).

Além dos aspectos anatômicos do corpo do peixe, o rendimento do produto filé está também vinculado a outras condicionantes, incluindo, peso dos resíduos, sexo do animal, composição química corpórea, além das máquinas e habilidade humana no processo de filetagem (Contreras-Guzmán, 1994; Leonardth et al., 2006; Basso & Ferreira, 2011).

A lisina está inserida no processo metabólico de alongamento dos miócitos que compõem o filé atuando na hipertrofia e desdobramento do tecido e na hiperplasia das células, que em peixes, operam em concomitância e são controladas por agentes como espécie, fase da vida e nutrição do peixe (Aguiar et al., 2008; Valente et al., 2013; Michelato et al., 2016; Chu et al., 2018).

O tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) é um peixe amazônico consolidado na indústria pesqueira brasileira em função da alta produtividade, fácil manejo, rusticidade, e por possuir carne com textura e sabor fortemente apreciados pelo mercado consumidor (Araújo-Lima & Gomes, 2005; Souza & Inhamuns, 2011; Rodrigues et al., 2014; Buzollo et al., 2019).

Embora o tambaqui possua boa aceitação ao sistema nutricional comum a peixes de produção, as dietas fornecidas desconsideram condições intrínsecas da espécie para rendimento do produto e o efeito sobre os subprodutos e resíduos potencialmente aproveitáveis, outrossim, sobre a morfometria do corpo do peixe, dada a existência de uma lacuna de informações nutricionais específicas, como a do aminoácido lisina. Diante do exposto, este trabalho foi realizado com objetivo de verificar a influência da inclusão do aminoácido cristalino L-lisina na dieta sobre os rendimentos dos subprodutos, resíduos, e caracterização do filé e morfometria dos tambaqui.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ética animal

O experimento foi desenvolvido com os regimentos dos princípios éticos na experimentação animal consentidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), perante aprovação das Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUA's da Universidade Federal do Amazonas sob protocolo nº 005/2016 e da Universidade Nilton Lins sob protocolo nº 003/2017.

2.2. Local do experimento, Dietas experimentais

Juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) da Estação de Piscicultura de Balbina (Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura – CTTPA; Presidente Figueiredo - AM) foram analisados biometricamente ($33,88 \pm 2,47$ g e $11,72 \pm 0,36$ cm) no Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos - LaPOAq - AM (Universidade Nilton Lins; Manaus - AM) após aclimatação em 18 tanques aerados (10 peixes/tanque) de polietileno (310 L), recebendo dieta comercial (28% de proteína bruta) até o início do experimento, conforme Liebl et al. (2019).

Após serem formuladas, as dietas experimentais (27 % de proteína bruta) com 6,60, 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total, respectivamente, 0,00, 4,00, 8,00, 12,00, 16,00 e 20,00 g. Kg⁻¹ de L-lisina (Ajinomoto®, Chuo, Japan), foram extrusadas no Laboratório de Aquicultura do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus – AM (Liebl et al., 2019).

Os ingredientes da composição da dieta (Tabela 1) foram moídos finamente em moinho de facas tipo Wiley (Tecnal®, Piracicaba, Brasil), e somados aos nutrientes cristalinos DL-metionina, L-arginina, L-histidina, L-isoleucina, L-fenilalanina e L-treonina, na quantidade de 2,50 g cada, e os nutrientes L-ácido glutâmico, L-triptofano e L-valina, adicionados em respectivamente, 10 a 50 g; 1,6 g e 1,0 g (Liebl et al., 2019). Confeccionadas, as dietas foram fornecidas quatro vezes ao dia até a saciedade aparente dos juvenis de tambaqui monitorados durante 90 dias.

Findado o período, a alimentação foi interrompida por 24 horas, os peixes foram coletados (n= 9 peixes/dieta), anestesiados com benzocaína (100 mg. L⁻¹), eutanasiados, lavados em água clorada (5 ppm), embalados individualmente em sacos plásticos e armazenados a -20°C até o descongelamento em temperatura ambiente (20°C) para análises (Simões et al., 2007; Maghelly et al., 2014). Após a verificação morfométrica, foi sequenciada a extração e pesagem em balança (precisão de 0,001g; Gehaka®, São Paulo, Brasil) de partes do corpo do peixe para verificação dos rendimentos.

Tabela 1. Dietas elaboradas com níveis de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Liebl et al., 2019).

Lisina (g. Kg⁻¹)

Ingredientes¹ (g/Kg)	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20
Milho	356.20	360.20	364.20	368.20	372.20	376.20
Glúten de milho 60	230.00	230.00	230.00	230.00	230.00	230.00
Quirera de arroz	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
Farelo de trigo	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
Farinha de peixe	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
Fosfato bicálcico	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Óleo de soja	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Suplemento mineral e vitamínico	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Calcário calcítico	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Bicarbonato de sódio	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Antifúngico	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Antioxidante BHT ²	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-lisina HCl	0,00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00

¹Composição calculada segundo Furuya et al. (2006) e Rostagno et al. (2011)

²BHT: Butil-hidroxi-tolueno

2.3. Análise morfométrica

Os dados para a análise morfométrica foram verificados utilizando ictiômetro e paquímetro (Mitutoyo®, São Paulo, Brasil). Os parâmetros analisados foram (Figura 1): comprimento total - CT, comprimento padrão - CP, comprimento do tronco - CTR, comprimento da cabeça - CC, altura da cabeça - AC, altura do corpo - ACO, altura da cauda - ACD, comprimento da nadadeira caudal inferior - CNCI, comprimento da nadadeira caudal superior - CNCS e espessura lombar – EL (Pires et al., 2011).

Também foram verificadas as razões (cm. cm⁻¹) entre os parâmetros analisados segundo Adames et al. (2014):

- CC.CP⁻¹: Comprimento da cabeça/Comprimento padrão;
- CC.AC⁻¹: Comprimento da cabeça/Altura da cabeça;
- CP.CT⁻¹: Comprimento padrão/Comprimento total;
- ATR.CTR⁻¹: Altura do tronco/Comprimento do tronco.

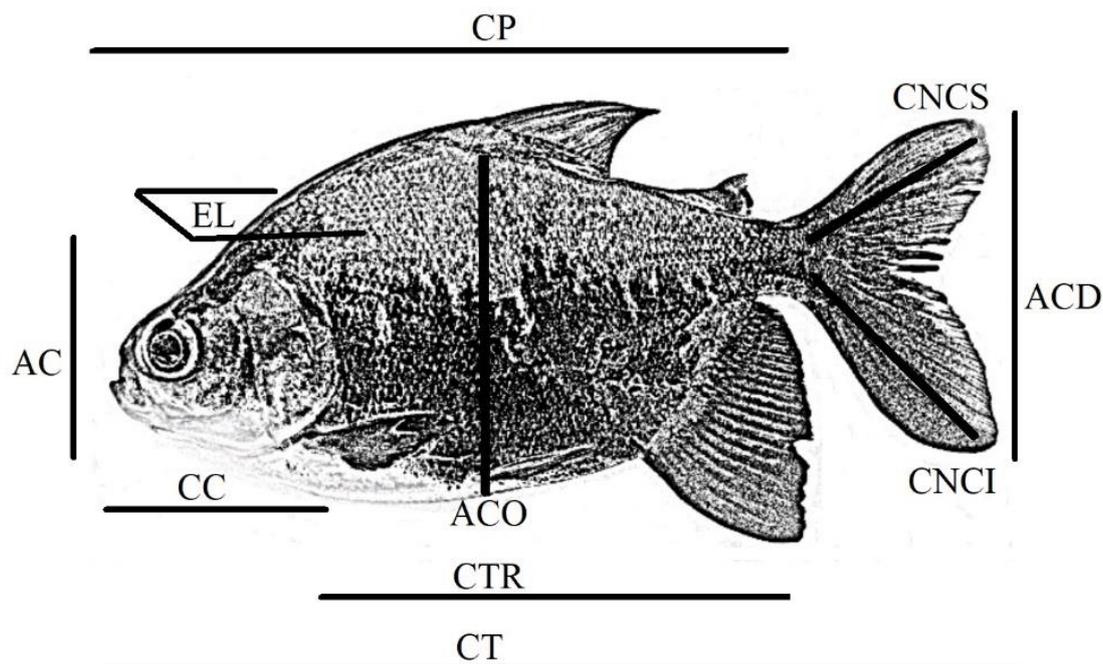


Figura 1. Medidas morfométricas em tambaqui (*Colossoma macropomum*) na fase juvenil: comprimento total - CT, comprimento padrão - CP, comprimento do tronco - CTR, comprimento da cabeça - CC, altura da cabeça - AC, altura do corpo - ACO, altura da cauda - ACD, comprimento da nadadeira caudal inferior - CNCI, comprimento da nadadeira caudal superior - CNCS e espessura lombar - EL.

2.4. Caracterização do filé: Rendimentos do corte e composição química

Foram verificados o percentual do peixe eviscerado (carcaça), do filé com pele e filé sem pele, utilizando tesoura, bisturi, lâminas cortantes, pinças, e alicate específico para o processo da filetagem com retirada da pele.

Os produtos foram calculados segundo Souza & Inhamuns (2011) através das fórmulas:

- Peixe eviscerado (PEV): $[(\text{Peso do peixe sem vísceras}) \cdot (\text{Peixe inteiro})^{-1}] \times 100$;
- Filé com pele (FCP): $[(\text{Peso do filé com pele}) \cdot (\text{Peso do peixe inteiro})^{-1}] \times 100$;
- Filé sem pele (FSP): $[(\text{Peso do filé sem pele}) \cdot (\text{Peso do peixe inteiro})^{-1}] \times 100$.

Na verificação centesimal dos componentes (%) proteína bruta e extrato etéreo (AOAC, 2005), os filés extraídos foram moídos, homogeneizados (Leonhardt et al., 2006), secos em estufa a 105°C e trituradas para análises com correção do teor de umidade.

Na análise da proteína bruta foi praticado o método MicroKjehldal, com etapas de digestão e destilação da matéria, seguida de titulação com ácido. Os lipídios totais (extrato

etéreo), foram verificados pelo método Bligh e Dyer, analisando lipídios neutros, fosfolipídios e glicolipídios, com extração livre de aquecimento. Para verificação dos minerais totais, a matéria orgânica foi incinerada na mufla a 550°C. Os dados coletados foram inseridos nas seguintes equações:

- Extrato etéreo (EE): $[(\text{Peso dos lipídios} \times 4) \cdot (\text{Peso da amostra})^{-1}] \times 100$;
- Proteína integral na amostra (PT): $(\text{Proteína total} \cdot \text{Fator de correção da umidade})^{-1}$;
- Fator de correção da umidade (FCU): $(100 \cdot \text{Matéria seca})^{-1}$;
- Matéria Seca (MS): $[(\text{Peso da amostra seca} \cdot \text{Peso da amostra úmida})^{-1}] \times 100$;
- Minerais totais ou cinzas (MT): $[(\text{Peso das cinzas} \times 100) \cdot \text{Peso da amostra}]^{-1}$.

2.5. Análise dos subprodutos e resíduos

O peixe inteiro (g) foi pesado para as relações entre seu peso e o peso dos subprodutos e resíduos. Os subprodutos verificados foram: tronco limpo e pele bruta; e os resíduos foram: cabeça, musculatura abdominal ventral, nadadeiras, brânquias e vísceras.

Os peixes foram processados utilizando tesoura, bisturi, lâminas cortantes, pinças, e alicate anatômico para o processo da retirada da pele, que foi extraída no sentido céfalo-caudal. Para evisceração foi realizado incisão no sentido dorso ventral.

A relação em porcentagem entre o peso do peixe inteiro e o peso do tronco limpo, foi originada após os processos de extração da cabeça, pele e nadadeiras dorsal, caudal, pélvica, peitoral e ventral. O peso da porção residual cabeça foi determinado após decapitação do peixe inteiro.

Para o cálculo percentual da musculatura abdominal ventral foi realizado um corte na extensão lateral do ventre do peixe, seguindo até o término das costelas (Souza et al., 2002).

O peso das nadadeiras e o peso das brânquias foram verificados após a retirada destas porções residuais dos juvenis de tambaqui.

Os produtos (%) foram calculados segundo Souza e Inhamuns (2011) e Costa et al. (2014), através das fórmulas:

- Carcaça sem cabeça (CSC): $[(\text{Peso do peixe e sem cabeça}) \cdot \text{Peixe inteiro}^{-1}] \times 100$;
- Filé com pele (FCP): $[(\text{Peso do filé com pele}) \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}] \times 100$;
- Filé sem pele (FSP): $[(\text{Peso do filé sem pele}) \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}] \times 100$.

Os subprodutos (%) e os resíduos (%) da filetagem dos peixes foram calculados de acordo com Pires et al. (2011):

- Pele bruta (PB): $(\text{Peso da pele} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$;
- Tronco limpo (TL): $(\text{Peixe decapitado} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$;
- Cabeça (CB): $(\text{Peso da cabeça com brânquias} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$;
- Musculatura abdominal ventral (MAV): $(\text{Peso da musculatura abdominal ventral} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$;
- Nadadeiras (ND): $(\text{Peso das nadadeiras} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$;
- Brânquias (BQ): $(\text{Peso das brânquias} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$;
- Vísceras (VS): $(\text{Peso das vísceras} \cdot \text{Peso do peixe inteiro}^{-1}) \times 100$.

2.6. Monitoramento da qualidade da água

As concentrações de oxigênio dissolvido ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pH foram verificadas diariamente utilizando aparelho multiparâmetro (G-50, Horiba®, Quioto, Japão) e o teor de nitrito ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) foi monitorado semanalmente utilizando kits colorimétricos específicos, seguindo orientações do fabricante (Alfakit®, Florianópolis, Brasil). A manutenção da qualidade da água ocorreu mediante sifonamento e reposição diária de água (20 % do volume), de acordo com Liebl et al. (2019).

Os valores médios obtidos para pH, temperatura da água, oxigênio dissolvido e teor de nitrito foram, respectivamente: $5,74 \pm 0,07$; $26,25 \pm 0,06$ $^{\circ}\text{C}$; $4,95 \pm 0,32$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e $0,013 \pm 0,008$. No monitoramento da qualidade da água, os valores médios obtidos para o pH, temperatura da água, oxigênio dissolvido e teor de nitrito, foram mantidos nos níveis recomendados para o cultivo do tambaqui (Aride et al., 2007; Araujo-Lima & Gomes, 2005; Mendonça et al., 2012; Rebouças, et al., 2014).

2.7. Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado – DIC, com seis tratamentos e três repetições. Os tratamentos trabalhados foram dietas contendo aminoácido lisina nos níveis 6,60, 9,72, 12,84, 15,96, 19,08 e 22,20 $\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$. As respostas obtidas para os rendimentos, morfometria e composição química foram verificadas na análise de variância – ANOVA ($p < 0,05$), teste de comparação múltipla de Tukey, e interpretados com modelos de regressão linear, quadrático, quadrático com platô ou exponencial, de acordo com o melhor ajuste para a variável.

Os dados em porcentagem foram padronizados antes de serem analisados estatisticamente, utilizando a fórmula: $\text{arc. sen. } \sqrt{P\%/100}$ (Haddad & Vendramim, 2000; Furuya et al., 2006). O software R® (r-project, Auckland, Nova Zelândia), versão 3.5.3, foi utilizado para atestar estatisticamente todas as análises realizadas.

3. RESULTADOS

3.1. Parâmetros morfométricos e razões morfométricas

Na análise dos parâmetros morfométricos não foi encontrada significância estatística entre os níveis de lisina para os dados do comprimento total, comprimento padrão, comprimento do tronco, comprimento da cabeça, altura da cabeça, altura do tronco e altura da cauda ($p>0,05$). De igual forma, para espessura caudal inferior, espessura caudal superior e espessura lombar, a diferença significativa entre os tratamentos não ocorreu ($p>0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Caracterização morfométrica dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas com níveis crescentes de lisina.

Variável	Lisina (g. Kg ⁻¹)						P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	
Comprimento total	14.33 ± 1,0	14.47 ± 0,9	15.05 ± 0,9	15.60 ± 0,7	14.77 ± 1,3	15.40 ± 0,3	0.48
Comprimento padrão	11.30 ± 0,8	11.63 ± 0,7	11.75 ± 0,4	12.70 ± 0,6	11.90 ± 1,13	12.27 ± 0,2	0.28
Comprimento do tronco	7.50 ± 0,5	7.63 ± 0,4	7.40 ± 0,4	8.27 ± 0,5	7.40 ± 0,2	8.10 ± 0,1	0.10
Comprimento da cabeça	3.90 ± 0,2	3.97 ± 0,2	4.25 ± 0,0	4.47 ± 0,1	4.13 ± 5,4	4.17 ± 0,1	0.53
Altura da cabeça	3.60 ± 0,3	3.43 ± 0,3	3.60 ± 0,1	3.73 ± 0,2	3.30 ± 5,4	3.60 ± 0,1	0.14
Altura do tronco	6.00 ± 0,3	5.90 ± 0,4	6.05 ± 0,3	6.47 ± 0,3	6.40 ± 0,7	6.43 ± 0,0	0.32
Altura da cauda	6.50 ± 0,4	7.10 ± 0,5	6.90 ± 0,5	7.40 ± 0,4	7.10 ± 0,7	7.53 ± 0,3	0.15
Comprimento da NCI	3.30 ± 0,3	3.47 ± 0,3	3.60 ± 0,1	3.67 ± 0,1	3.43 ± 0,2	3.77 ± 0,0	0.54
Comprimento da NCS	3.30 ± 0,0	3.63 ± 0,4	3.55 ± 0,0	3.53 ± 0,2	3.37 ± 0,1	3.70 ± 0,1	0.27
Espessura lombar	4.00 ± 0,3	4.00 ± 0,3	4.55 ± 0,2	4.37 ± 0,5	4.63 ± 0,5	4.87 ± 0,2	0.18

¹Análise de variância ($p<0,05$). NCI: nadadeira caudal inferior; NCS: nadadeira caudal superior.

Na verificação das razões morfométricas as médias das relações do comprimento da cabeça e comprimento padrão (CC/CP), comprimento e altura da cabeça (CC/AC) e da altura do tronco e comprimento do tronco (ATR/CTR), não apresentaram variações (Tabela 3). No

entanto, na razão entre o comprimento padrão e o comprimento total (Figura 1) foram detectadas diferenças significativas ($p=0,03$).

Tabela 3. Razões morfométricas dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas com níveis crescentes de lisina.

Razões morfométricas (cm. cm ⁻¹)	Lisina (g. Kg ⁻¹)						P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	
CC.CP ⁻¹	0.48 ± 0,01	0.45 ± 0,01	0.49 ± 0,01	0.45 ± 0,01	0.45 ± 0,03	0.44 ± 0,00	0.73
CC.AC ⁻¹	0.60 ± 0,07	0.58 ± 0,06	0.60 ± 0,02	0.58 ± 0,06	0.52 ± 0,02	0.56 ± 0,05	0.93
CP.CT ⁻¹	0.66 ± 0,01 ab	0.65 ± 0,01 ab	0.63 ± 0,01 a	0.65 ± 0,01 b	0.62 ± 0,01 ab	0.66 ± 0,01 ab	0.03 *
ATR.CTR ⁻¹	1.67 ± 0,01	1.79 ± 0,02	1.62 ± 0,00	1.66 ± 0,03	1.72 ± 0,08	1.81 ± 0,00	0.18

¹Análise de variância ($p<0,05$). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

CC.CP⁻¹: comprimento da cabeça/comprimento padrão; CC.AC⁻¹: comprimento da cabeça/altura da cabeça; CP.CT⁻¹: comprimento padrão/comprimento total; ATR.CTR⁻¹: altura do tronco/comprimento do tronco.

3.2. Caracterização do filé: Rendimentos do corte e composição química

Os produtos carcaça eviscerada, filé sem pele e filé com pele não apresentaram diferença significativa entre os níveis de lisina adicionados nas dietas ($p>0,05$). Na análise de regressão (efeito quadrático com platô) foi verificada formação de platô para filé com pele sob adição de 1,37% de L-lisina ou 18,22 g. Kg⁻¹ de lisina total ($y=34,00273+4,532873x-1,657618x^2$; $R^2=0,13$), com produção de 37,10% do filé ($p=0,00$).

A composição do filé, a proteína bruta e o extrato etéreo foram igualmente ausentes de expressão que diferenciasses estatisticamente as médias dos tratamentos ($p>0,05$).

O maior teor de minerais totais ou cinzas foi verificado no tratamento experimental contendo 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina. Os teores dos minerais nos filés dos peixes nutridos com 22,20 e 6,60 g. Kg⁻¹ de lisina diferenciaram entre si, sendo 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina o nível que apresentou menor percentual de minerais na diferença (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização do filé e rendimento de carcaça dos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas elaboradas com níveis crescentes de lisina.

Variáveis (%)	Lisina (g. Kg ⁻¹)						P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	
Produto							
Carcaça							
eviscerada	89.37 ± 0,80	89.76 ± 1,18	90.12 ± 0,70	90.83 ± 1,29	82.28 ± 9,05	90.42 ± 1,70	0.29
Filé sem pele	24.66 ± 11,01	24.64 ± 4,03	22.91 ± 2,28	26.66 ± 2,93	25.75 ± 2,04	28.81 ± 1,93	0.27
Filé com pele	34.92 ± 3,53	34.56 ± 5,74	36.54 ± 2,44	38.24 ± 1,44	35.75 ± 2,69	37.08 ± 2,00	0.71
Composição química							
Proteína bruta	18.26 ± 0,65	16.94 ± 0,43	14.28 ± 0,68	16.34 ± 1,94	18.13 ± 0,36	16.80 ± 0,05	0.05
Extrato etéreo	2.53 ± 0,16	1.62 ± 0,21	2.25 ± 0,01	2.51 ± 0,73	2.08 ± 0,45	1.75 ± 0,06	0.06
Minerais totais	1.28 ± 0,03 a	1.30 ± 0,01abc	1.22 ± 0,01ab	1.31 ± 0,01abc	1.16 ± 0,01ab	1.27 ± 0,01 c	0.01*
Umidade	76.16 ± 0,01a	77.26 ± 0,01a	77.75 ± 0,01a	77.95 ± 0,11a	77.49 ± 0,12a	79.12 ± 0,04b	0.00*

¹Análise de variância (p<0,05); P: Probabilidade de significância; *: Diferença significativa entre os dados. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

3.3. Subprodutos e resíduos

O peso médio do peixe inteiro foi de 61,32 ± 5,48 g. Foram verificados subprodutos e resíduos da filetagem de tambaqui sob influência de níveis de lisina, não sendo constada significância estatística (p>0,05) sobre o subproduto tronco limpo e as porções residuais da cabeça, músculo abdominal ventral, brânquias e vísceras.

A porcentagem do subproduto pele bruta expressou diferença entre os níveis de 12,84 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total (p=0,03) adicionados nas dietas dos juvenis de tambaqui, com dados correspondentes, respectivamente, a 13,63 e 8,27% do peso dos peixes analisados (Tabela 5).

Tabela 5. Rendimentos médios dos subprodutos e resíduos do corte de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de lisina.

Variáveis	Lisina (g. Kg ⁻¹)						P
	6.60	9.72	12.84	15.96	19.08	22.20	
Peixe inteiro (g)	58.22 ± 9.17	57.77 ± 8.35	57.89 ± 5.03	70.47 ± 6.97	57.76 ± 10.87	65.82 ± 1.38	0.46
Subprodutos (%)							
Tronco limpo	23.01 ± 1,06	24.36 ± 4,88	24.54 ± 0,86	25.63 ± 1,65	23.44 ± 0,72	27.08 ± 2,00	0.66
Pele bruta	10.26 ± 0,71 ab	9.92 ± 1,83 ab	13.63 ± 4,34 a	11.57 ± 1,69 ab	10.01 ± 0,49 ab	8.27 ± 0,81 b	0.03 *

Resíduos (%)							
Cabeça	21.29 ± 1,98	20.08 ± 1,44	20.83 ± 0,59	19.37 ± 1,12	20.15 ± 1,06	20.96 ± 0,90	0.59
MAV	3.16 ± 0,61	2.94 ± 1,00	3.38 ± 0,93	3.93 ± 0,85	3.21 ± 0,96	3.19 ± 0,63	0.77
Nadadeiras	1.628 ± 0,64 a	2.67 ± 1,23 b	2.85 ± 0,07 b	2.84 ± 0,29 b	2.76 ± 0,09 b	2.54 ± 0,25 b	0.00 *
Brânquias	3.63 ± 0,37	3.38 ± 0,36	3.49 ± 0,85	3.89 ± 0,36	3.70 ± 0,64	3.59 ± 0,31	0.89
Vísceras	8.37 ± 0.00	7.95 ± 0.01	7.37 ± 0.51	7.43 ± 0.00	7.18 ± 0.01	8.42 ± 0.01	0,12

¹Análise de variância (p<0,05). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). MAV: Músculo abdominal ventral.

Com os dados obtidos neste trabalho, foi possível estimar a equação quadrática $y=1,47232-0,06487134x+0,03726182x^2$ para o percentual de pele dos juvenis de tambaqui (p<0,03; R² =0,39), onde a curva evoluiu de forma crescente a partir da adição de 13,96 g. Kg⁻¹ de lisina total (0,87 % de L-lisina) gerando produção de pele calculada como 1,44% do peso do peixe (Figura 2).

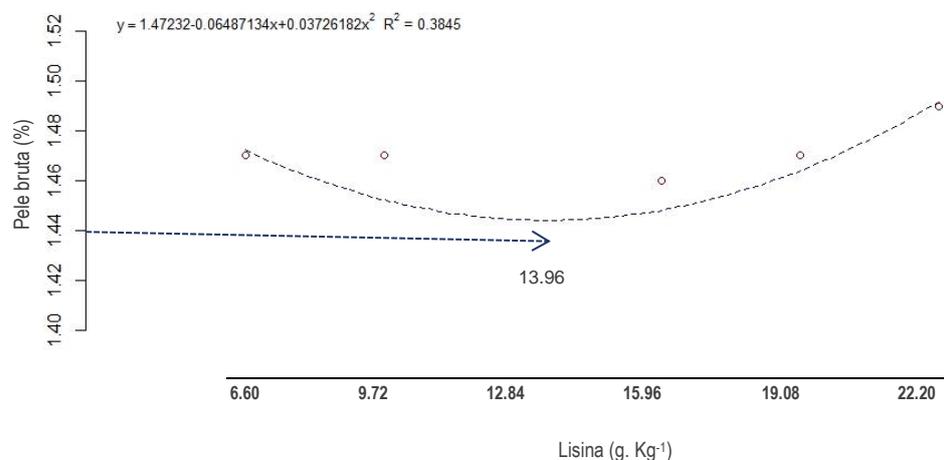


Figura 2. Efeito da regressão quadrática sobre o percentual de rendimento da pele bruta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis lisina.

As médias das nadadeiras observadas se diferenciaram estatisticamente quando comparadas amostras dos níveis testados com amostras da dieta com lisina 6,60 g. Kg⁻¹ (0,00g de L-lisina) (p=0,00). A adição nos níveis de lisina possibilitou estimar o crescimento das nadadeiras de forma quadrática (p=000), gerando valores de x e y descritos na fórmula algébrica: $y=1,552856-0,019362x+0,00799914x^2$ (R²=0,7568) com resposta positiva a partir da adição de 18,36 g. Kg⁻¹ de lisina e rendimento estimado em 1,54% (Figura 3).

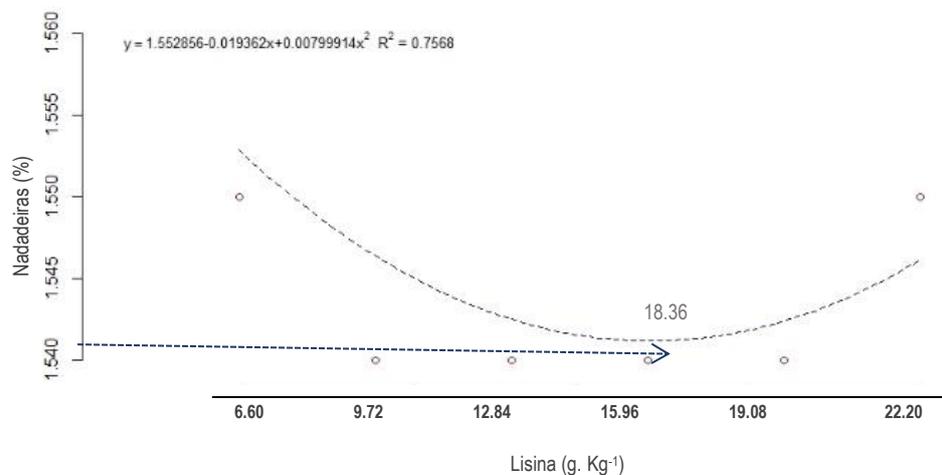


Figura 3. Efeito do modelo de regressão quadrática sobre o percentual (arc. sen. $\sqrt{P\%/100}$) de rendimento das nadadeiras de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo níveis de lisina.

4. DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros morfométricos e razão morfométrica

A morfometria da estrutura corporal do peixe é uma das ferramentas utilizadas para otimização da indústria de pescado fomentando normatização dos cortes dos subprodutos e produtos, sendo também trabalhada como ferramenta no processo de melhoramento genético das espécies produtivas (Santos et al., 2007; Adames et al., 2014).

Confrontando as respostas obtidas neste trabalho, Mourad et al. (2018) avaliaram o crescimento morfométrico do tambaqui, do pacu e dos híbridos tambacu e paqui (*Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum*), objetivando estimar medidas finais e obter parâmetros genéticos, e verificaram diferenças significativas sobre o comprimento padrão, comprimento da cabeça, altura do corpo, e largura do corpo em modelos estatísticos. Os tambaquês com peso inicial de $54,59 \pm 11,01$ g cultivados por Mourad et al. (2018) tiveram o peso final estimado em 1056,82g, com comprimento padrão calculado em 30,47 cm, comprimento da cabeça em 9,69 cm, e a altura e a largura do corpo em, respectivamente, 15,35 e 4,10 cm.

A análise métrica das formas do peixe sinaliza a conformação do filé e dos rendimentos, favorecendo o esclarecimento do potencial econômico e no planejamento da elaboração do produto (Carneiro et al., 2004; Maghelly et al., 2014). A ausência de significância estatística

verificada na morfometria sugere igual comportamento para os dados dos rendimentos dos juvenis de tambaqui sob nutrição com L-lisina.

A razão morfométrica $CP.CT^{-1}$ compreende o comprimento padrão (CP), que é verificado na extensão da extremidade da cabeça até a inserção da nadadeira caudal, e o comprimento total (CT), aferido da extremidade da cabeça até a extremidade da cauda do peixe (Figura 1). Sendo o comprimento da nadadeira caudal total (sequência horizontal do início até o extremo da nadadeira) o que difere uma medida e outra, a diferença encontrada para $CP.CT^{-1}$ ($p=0,03$) pode estar relacionada à influência da inclusão de lisina nas dietas sobre esta porção. No entanto, neste trabalho foram verificadas apenas o comprimento das nadadeiras caudais na porção inferior e superior (Figura 1), e imprecisões humanas sobre a medição não estão descartadas, podendo ter contribuído para a resposta da razão morfométrica entre CP e CT.

4.2. Caracterização do filé: Rendimentos do corte e composição química

Michelato et al. (2016) encontraram para tilápia do Nilo na fase final de produção $30,69 \pm 0,04\%$ de filé com pele no nível observado de $15,1 \text{ g. Kg}^{-1}$ de lisina, sendo o rendimento máximo estimado em $14,6 \text{ g kg}^{-1}$, correspondendo a $5,8\%$ da proteína da dieta. O percentual se manteve abaixo dos dados observados para o rendimento dos tambaquis analisados, onde a maior resposta foi no nível de $15,96 \text{ g. Kg}^{-1}$ de lisina com $38,24\%$ de filé (Tabela 4).

Tambaqui coletados em rios amazônicos rendem cerca de $32,00$ a $35,96\%$ de filé com pele e de $25,7$ a $29,08\%$ de filé sem pele (Souza & Inhamunz, 2011). Assim, somente o tratamento com $0,8\%$ de L-lisina se manteve abaixo desses valores ($22,91\%$), estando os demais próximo ou superando o descrito.

A porcentagem de rendimento do filé pode variar entre $25,4\%$ a 42% de acordo com particularidades biológicas de cada espécie e fatores administrados como a nutrição (Adames et al., 2014).

Carneiro et al. (2004) verificaram para o jundiá cinza (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824), rendimentos máximos de filé de $34,74\%$, enquanto para o barbado (*Pirirampus pirirampu* Spix & Agassiz, 1829) a porcentagem do filé em relação ao peso do peixe inteiro encontrada por Adames et al. (2014) foi de $38,57$ a $42,13\%$.

Trabalhando com o tambaqui, Lima et al. (2018) encontraram maiores percentuais em peixes com menores pesos, sendo o rendimento de filé com pele de até $57,5 \pm 8,7\%$, extrapolando o valor de $35,96\%$ verificados por Souza e Inhamunz (2011) (pesos entre $1.071,2$ e 1.229g).

Ainda que a projeção dos dados do filé com pele para os juvenis de tambaqui analisados neste trabalho tenha sido de 18,22 g. Kg⁻¹ de lisina e alcance rendimento de 37,10%, somente 13% desta tendência é explicada pela adição de lisina na dieta ($R^2=0,13$), evidenciando a possibilidade da influência de outras variáveis nutricionais na resposta equacionada.

A composição química do filé do peixe caracteriza nutricionalmente a porção para consumo humano, sendo fator determinante na definição dos equipamentos, no seguimento dos processos industriais e definição dos padrões para comercialização do pescado (Leonhardt et al., 2006).

Os teores dos componentes químicos dos peixes oscilam entre 70 e 85% para umidade, 15 e 24% para proteína, 1 e 2% para minerais, podendo variar entre espécies e dentro de uma mesma espécie, sendo influenciados pela idade, condições de cultivo, porção do corpo e dieta consumida (Arbeláez-Rojas et al., 2002).

Minerais complexados com aminoácidos tendem a aumentar a absorção do nutriente no intestino, propiciando o transporte por meio das membranas da mucosa e evitando a formação de compostos insolúveis com possíveis fatores antinutricionais da dieta (Barros, et al 2004). Para a maior concentração de minerais nos filés de tambaquis sem adição de L-lisina é sugestivo a necessidade do peixe em criar mecanismos para aumentar a absorção do nutriente.

Nos filés dos peixes alimentados com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total o teor de umidade encontrado superou os demais e expressou diferença significativa na ANOVA (Tabela 4). Contudo, os dados se aproximam das informações verificadas por Oetterer et al. (2004) com tilápia vermelha (79,20%) e com tilápia do Nilo (78,43%), mas são inferiores aos valores encontrados por Arbeláez-Rojas et al. (2002) no tempo 0 (zero) do trabalho com juvenis de tambaqui (86,2± 10,9 g e 15,1 ± 0,5 cm) em cultivos intensivos e superintensivos.

Alguns pesquisadores observaram uma relação inversamente proporcional entre teores de umidade e proteína nos filés de peixes (Oliveira et al., 2008; Moura et al., 2009). Porém, para os juvenis de tambaqui, o aumento da umidade observado nos filés das dietas com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total não alterou o teor de proteína.

A não diferenciação do teor de proteína nos filés dos tambaquis pode ser vinculada com a ausência de significância entre as médias dos rendimentos dos filés e do rendimento de carcaça.

Para carcaça eviscerada Furuya et al. (2006) obtiveram resultado diferente do encontrado neste trabalho, examinando tilápias do Nilo (5,72 ± 0,10 g) sob adição de níveis de lisina na dieta. Os autores verificaram comportamento linear positivo, atribuído a condição da

lisina como aminoácido com preferência de deposição no tecido muscular. No entanto, esta tendência não ocorreu para tambaqui, sendo possível que o período necessário para o equilíbrio da relação da lisina da dieta com o perfil de aminoácido corporal sob expressão do rendimento da carcaça, seja maior que o tempo experimental trabalhado para a espécie amazônica.

4.3. Subprodutos e resíduos

As informações obtidas sobre os subprodutos cooperam para inovações no aproveitamento do peixe e promovem opções no processamento de espécies nativas, que tendem a serem comercializadas de formas tradicionais como peixes inteiros, eviscerados ou filetados (Bombardelli & Sanches, 2008).

Segundo Contreras-Guzmán (1994), porções como cabeça, nadadeiras, pele e vísceras, são classificadas como resíduos. No entanto, Souza et al., (2001) trabalha a pele bruta de tilápia do Nilo como um subproduto da filetagem, considerando possível comercialização para curtumes, e as demais partes analisadas (nadadeiras, cabeça e vísceras) como resíduos do processamento do filé.

As porcentagens do rendimento de pele atestadas para o tambaqui variam entre 6,29 a 6,89%, para o pacu a oscilação está entre 8,90 a 9,58% e para matrinxã (*Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1829), entre 9,46 a 12,8% (Souza & Inhamunz, 2011). Porém, de modo geral, o percentual de pele para peixes teleósteos é de 7,5% (Contreras-Guzmán, 1994; Simões et al., 2007).

Embora os dados obtidos (Tabela 5) superem a quantidade esperada do tecido epitelial para peixes ósseos, os juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) alimentados com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total se mantiveram próximos desta estimativa. No entanto, o mesmo não ocorreu para tambaquis dos demais tratamentos, sobretudo para os peixes que receberam dietas contendo 12,84 g. Kg⁻¹ de lisina total, que produziram maior quantidade de pele bruta e se diferenciaram estatisticamente dos peixes alimentados com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total. Esta tendência observada nos níveis mais altos de lisina adicionados na dieta (15,96, 19,08 e 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina total) em reduzir o percentual de pele preconiza que a lisina não traduzida em pele possa ter sido utilizada para manter outros processos biológicos ou gerar maior quantidade de filé.

Para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) na fase adulta Souza e Maranhão (2001), investigando peixes com pesos entre 300 e 500g, encontraram os valores de

6,16 e 6,56% de pele bruta, Souza et al. (2005) registraram dados para percentual de pele entre 6,30 a 6,71% (500 a 800g), enquanto as pesquisas de Silva et al. (2009), entre 5,77 a 6,31% (200 a 600g). Todos estes dados ficaram abaixo do rendimento do subproduto pele para juvenis de tambaqui nutridos com lisina, que pode ser direcionada para aproveitamento em outros alimentos, manufaturas ou extração de colágeno.

Níveis adequados de lisina na dieta auxiliam na prevenção de danos nas nadadeiras e tendem a aumentar parâmetros do desempenho zootécnico rendimentos das frações aproveitáveis do peixe (Takishita et al., 2009; Furuya et al., 2013).

Os valores observados e estimados para nadadeiras são menores do que as porcentagens entre 8,0 a 8,14 encontradas para tilápia por Souza e Maranhão (2001) avaliando rendimentos deste parâmetro em tilápia do Nilo (300 a 500g), e que os valores de 3,61 a 4,17% verificados por Silva et al (2014) trabalhando com tilápias com pesos entre 300 e 500g.

No entanto, as informações sobre o rendimento das nadadeiras de tambaqui com maiores percentuais observados em 12,84 e 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total concordam com a resposta obtida na morfometria para razão entre CP.CT⁻¹ que indicou possível influência da lisina sobre as nadadeiras, proporcionando efeito sobre o CT e sobre CP.CT⁻¹.

5. CONCLUSÃO

Diante das respostas obtidas, conclui-se que a inclusão de lisina em dietas para juvenis de tambaqui não favoreceu de maneira expressiva o percentual de subprodutos, resíduos e a morfometria dos peixes, evidenciando a necessidade de maiores investigações acerca do comportamento do nutriente sobre as porções potencialmente comercializáveis da espécie amazônica, condicionando providências no cultivo e no processamento que permitam maior aproveitamento do peixe e maximize o ganho produtivo.

6. REFERÊNCIAS

Adames, M. S., Krause, R. A., Damasceno, D. Z., Piana, P. A., de Oliveira, J. D. S., & Bombardelli, R. A. (2014). Características morfométricas, rendimentos no processamento e composição centesimal da carne do barbado. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(2), 251-260.

Aguiar, D. H., Bock, C., Padovani, C. R., & Pai-Silva, M. D. (2008). MyoD, myogenin and proliferating cell nuclear antigen expression in growing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*

L.). *Aquaculture research*, 39(15), 1673-1679. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02042.x>.

AOAC. (2005). Official methods of analysis of the association of analytical chemists. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists. pp. 937.

Araujo-lima, C. A. R. M., & Gomes, L. C., Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldissotto, B.; Gomes, L. C. (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, p. 175-202, 2005.

Arbeláez-Rojas, G. A., Fracalossi, D. M., & Fim, J. D. I. (2002). Body composition of tambaqui, *Colossoma macropomum*, and matrinxã, *Brycon cephalus*, when raised in intensive (igarape channel) and semi-intensive (pond) culture systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(3), 1059-1069. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000500001>.

Aride, P. H. R., Roubach, R., & Val, A. L. (2007). Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*, 38(6), 588-594. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01693.x>.

Barros, M. M., Pezzato, L. E., de Miranda, E. C., do Carmo, M. V., & Sampaio, F. G. (2004) Complexo zinco aminoácido em dietas práticas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 26(4), 437-441. <http://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v26i4.1716>.

Basso, L., & Ferreira, M. W. (2011). Efeito do peso ao abate nos rendimentos dos processamentos do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Agrarian*, 4(12), 134-139.

Bombardelli, R. A., & Sanches, E. A. (2008). Avaliação das características morfológicas corporais, do rendimento de cortes e composição centesimal da carne do armado (*Pterodoras granulosus*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(2), 221-229.

Buzollo, H., Sandre, L. C. G., Neira, L. M., Nascimento, T. M. T., Jomori, R. K., & Carneiro, D. J. (2019). Digestible protein requirements and muscle growth in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Nutrition*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12888>.

Carneiro, P. C. F., Mikos, J. D., Bendhack, F., & Ignácio, S. A. (2004). Processamento do jundiá *Rhamdia quelen*: rendimento de carcaça. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, 2(3), 11-17. <http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v2i3.15082>.

Cavalcante, V., Andrade, L. D. N., Bezerra, L. N., de Gurjão, L. M., & Farias, W. R. (2005). Reúso de água em um sistema integrado com peixes, sedimentação, ostras e macroalgas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 9(1), 118-122.

Chu, W., Chen, D., Li, Y., Wu, P., Zhang, J., & Liu, L. (2018). Muscle Fiber Differentiation and Growth Patterns During Hyperplasia and Hypertrophy in the Ricefield Eel Regulated by Myogenic Regulatory Factors. *North American Journal of Aquaculture*, 80(2), 180-186. <https://doi.org/10.1002/naaq.10025>.

Contreras-Guzmán, E. (1994). *Bioquímica de Pescados e Derivados*. Jaboticabal: FUNEP. 409p.

Costa, T. V., Machado, N. D. J. B., Brasil, R. J. M., & Fragata, N. P. (2014). Caracterização físico-química e rendimento do filé e resíduos de diferentes espécies de jaraqui (*Semaprochilodus* spp.). *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(1), 35-47.

Feltes, M., Correia, J. F., Beirão, L. H., Block, J. M., Ninow, J. L., & Spiller, V. R. (2010). Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi*, 14(6).

Furuya, W. M., Santos, V. D., Silva, L. C. R., Furuya, V. R. B., & Sakaguti, E. S. (2006). Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 937-942.

Furuya, W. M., Michelato, M., Sakaguti Graciano, T., Oliveira Vidal, L. V., Orlandi Xavier, T., Rossetto Barriviera Furuya, V., & Batista de Moura, L. (2013). Exigência de lisina digestível para a tilápia-do-Nilo de 87 a 226 g alimentada com dietas balanceadas para a relação arginina: lisina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4). DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1945>.

Gaylord, T. G., & Barrows, F. T. (2009). Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds. *Aquaculture*, 287(1-2), 180-184. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.037>.

Haddad, M. L., & Vendramim, J. D. (2000). Comparação de porcentagens observadas com casos extremos de 0 e 100%. *Anais da sociedade entomológica do Brasil*, 29(4), 835-837.

Hua, K., Suwendi, E., & Bureau, D. P. (2019). Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 505, 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.030>.

Leonhardt, J. H., Caetano Filho, M., Frossard, H., & Machado Moreno, A. (2006). Características morfológicas, rendimento e composição do filé de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, da linhagem tailandesa, local e do cruzamento de ambas. *Semina: Ciências Agrárias*, 27(1).

Liebl, A.R.S., Nascimento, M.S., Bussons, M.R.F.M., Furuya, W.M., Aride, P. H. R., Oliveira, A.T. (2019). Desempenho zootécnico e histologia hepática de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* sob dietas com inclusão do aminoácido cristalino L-lisina. *Aquaculture Research*, artigo em submissão.

Lima, L. K. F., dos Santos Noletto, S., Santos, V. R. V., Bem Luiz, D., & Kirschnik, P. G. (2018). Rendimento e composição centesimal do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por diferentes cortes e categorias de peso. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 12(2), 223-235.

Mafra, D. P., Dresch, R. T., Costa, L. H. C., Costa, C. S., Klein, S., & Diemer, O. (2016). Características morfológicas, rendimento corporal e composição química da piranha. *Agrarian*, 9(34), 383-389. ISSN 1984-2538.

Maghelly, O. R., Huergo, G. M., Zaniboni Filho, E., & Enke, D. B. S. (2014). Características morfológicas e rendimento corporal do Suruvi *Steindachneridion scriptum* agrupados por sexo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(3), 419-430. ISSN 1678-2305.

Mendonça, P. P., Costa, P. C., Polese, M. F., Vidal Jr, M. V., & Andrade, D. R. (2012). Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Archivos de Zootecnia*, 61(235), 437-448. DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922012000300012>.

Michelato, M., Oliveira Vidal, L. V., Xavier, T. O., Moura, L. B., Almeida, F. L. A., Pedrosa, V. B., Furuya, V. R. B., & Furuya, W. M. (2016). Dietary lysine requirement to enhance muscle

development and fillet yield of finishing Nile tilapia. *Aquaculture*, 457, 124-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.022>.

Moura, M. A. M., Galvão, J. A., Henrique, C. M., Da Silva, L. K. S., & Oetterer, M. (2009). Caracterização físico-química e de frescor de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas da pesca extrativista no médio Rio Tietê/SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 35(3), 487-495. ISSN: 1678-2305.

Mourad, N., Costa, A. C., Freitas, R. T., Serafini, M. A., Reis Neto, R. V., & Felizardo, V. O. (2018). Weight and morphometric growth of Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*) and their hybrids from spring to winter. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(3), 544-550. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-4808>.

NRC - National Research Council. (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. National academies press.

Oetterer, M., Siqueira, A., & Gryscek, S. B. (2004). Tecnologias emergentes para processamento do pescado produzido em piscicultura. *Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva*. São Paulo: TecArt, 481-500.

Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of fish diseases*, 35(2), 83-108. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>.

Oliveira, N. D. M. S., Oliveira, W. R. M., Nascimento, L. C., da Silva, J. M. S. F., Vicente, E., Fiorini, J. E., & Bressan, M. C. (2008). Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 83-89. ISSN: 0101-2061.

Ovie, S. O., & Eze, S. S. (2013). Lysine requirement and its effect on the body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8(1), 94-100. DOI: <https://doi.org/10.3923/jfas.2013.94.100>.

Pires, A. V., Pedreira, M. M., Pereira, I. G., da Fonseca Júnior, A., Araújo, C. V., & da Silva, L. H. (2011). Predição do rendimento e do peso do filé da tilápia-do-Nilo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 33(3), 315-319. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v33i3.10838>.

Rebouças, P. M., Lima, L. R., Dias, I. F., & Barbosa Filho, J. A. D. (2014). Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 2(2), 35-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.14269/2318-1265.v02n02a01>.

Rodrigues, A. P. O. (2014) Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 40 (1), 135 – 145.

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Donzele, J. L., Gomes, P. C., Oliveira, R. D., Lopes, D. C., Ferreira, A. S., Barreto, S. L. T., & Euclides, R. F. (2011). Composição de alimentos e exigências nutricionais. *Tabelas brasileiras para aves e suínos, 3.ed.* Viçosa: UFV, DZO, 2011. 252 p.

Santos, V. B., Freitas, R. T. F., Logato, P. V. R., Freato, T. A., Orfão, L. H., & Millioti, L. C. (2007). Rendimento do processamento de linhagens de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do peso corporal. *Ciênc. agrotec.*, 31(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000200041>.

Silva, F.V., Sarmiento, N.L.A.F., Vieira, J. S., Tessitore, A. J. A., Oliveira L.L.S., & Saraiva, E. P. (2009). Características morfométricas, rendimentos de carcaça, filé, vísceras e resíduos em tilápias-do-Nilo em diferentes faixas de peso [Morphometric characteristics, carcass, fillet, vicera and residues in different weight categories of the Nile tilapia]. *Rev. Bras. Zootecn.*, 38(8), 1407-1412. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800003>.

Simões, M. R., Amaral Ribeiro, C. D. F., Amaral Ribeiro, S. D. C., Park, K. J., & Xidieh Murr, F. E. (2007). Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(3).

Souza, A. D., & Inhamuns, A. J. (2011). Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 41(2), 289-296.

Souza, F. O., Bomfim, M. A. D., Ribeiro, F. B., Lanna, E. A. T., Sousa, T. J. R. D., & Costa, D. D. C. D. (2019). Methionine plus cystine to lysine ratio in diets for tambaqui juveniles. *Revista Caatinga*, 32(1), 243-250. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252019v32n124rc>

Souza, M. L.R. (2002). Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista*

Brasileira de Zootecnia, 31(3), 1076-1084. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000500003>.

Souza, M. L. R., Dourado, D. M., Machado, S. D., Buccini, D. F., Jardim, M. I. A., Matias, R., ... & Ferreira, I. C. (2003). Análise da pele de três espécies de peixes: histologia, morfometria e testes de resistência. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(6), 1551-1559. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000700003>.

Souza, M. L.R., & Maranhão, T. C. F. (2001). Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 23, 897-901. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v23i0.2643>.

Souza, M. L.R., Macedo Viegas, E. M., Sobral, P. J.A., & Kronka, S. N. (2005). Efeito do peso de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre o rendimento e a qualidade de seus filés defumados com e sem pele. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(1).

de Sousa, W. L., Teófilo, E. M. D., Freitas, J. B. S., de Oliveira, A. L. T., Sousa, P. Z., & de Oliveira Sales, R. (2016). Aplicação do composto orgânico produzido a partir de resíduos de pescados e vegetais no cultivo do feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L) walp.) 1. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA*, 10(2), 252-270.

Takishita, S. S., Lanna, E. A. T., Donzele, J. L., Bomfim, M. A. D., Quadros, M., & Souza, M. P. (2009). Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(11), 2099-2105. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009001100004>.

Valente, L. M., Moutou, K. A., Conceição, L. E., Engrola, S., Fernandes, J. M., & Johnston, I. A. (2013). What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species?. *Reviews in Aquaculture*, 5, S168-S193. DOI: <https://doi.org/10.1111/raq.12020>.

CONCLUSÃO GERAL

As muitas pesquisas disponíveis sobre exigências de aminoácidos para diversas espécies de peixes cultivados permitem avaliações sobre os resultados alcançados e projeções sobre aperfeiçoamentos de métodos e modelos matemáticos, e envolvendo máximo de informações possíveis (desempenho, metabolismo, fisiologia, histologia, genética, economia e etc) em estudos futuros, especialmente para espécies altamente produtivas e que não possuem exigências determinadas, como o tambaqui.

De acordo com os dados de desempenho zootécnico a exigência de lisina para juvenis de tambaqui é de 15,96 g.Kg⁻¹ de lisina total, com verificações de hepatodistrofias (degeneração hidrópica, aumento do índice hepatossomático e esteatose em intensidade leve), e baixo desempenho quando alimentados com dietas nas concentrações insuficientes do aminoácido.

Com 15,96 g.Kg⁻¹ de lisina total houve maior expressão, com diferença estatística entre as dietas elaboradas, da densidade celular da mucosa no intestino anterior condicionando, possivelmente, maior absorção e contribuindo para os maiores ganhos de peso total, crescimento e conversão alimentar evidenciados na análise do desempenho. A altura das vilosidades foi estrategicamente aumentada no nível de menor adição de L-lisina, seguindo diminuição nos níveis de maior adição da lisina na dieta, agregando eficiência no aproveitamento dos nutrientes de acordo com a necessidade nutricional. A elevada incidência de mucinas ácidas secretadas por células caliciformes no intestino anterior dos tambaqui nutridos com 22,20 g. Kg⁻¹ de lisina expressa possível degradação proteolítica e maior proteção das vilosidades.

No intestino médio e no sangue, as proteínas totais também foram expressivas com 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina total, mantendo-se dentro da normalidade, e indicando possível resposta positiva da proteína mantida na corrente sanguínea e nas áreas de absorção quando a exigência de lisina é suprida. Diferenças entre índices hematimétricos (VCM e HCM), neutrófilos e linfócitos do período final e inicial, possivelmente foram sanadas com a dieta, não sendo notada nenhuma influência do hemograma no desempenho dos peixes. Entre as dietas elaboradas, informações do leucograma, eritrograma e trombograma não variaram, ressaltando a não influência dos níveis de lisina da dieta sobre o hemograma de tambaqui juvenis.

A atividade das enzimas digestivas amilase e a lipase não variou em relação aos níveis de lisina, sugerindo que o balanceamento das dietas foi suficiente para demanda

Liebl (2019). Exigência de lisina para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) com base no desempenho produtivo, morfohistológico e hematológico.

energética do tambaqui, não requerendo utilização da lisina como compensação. Para formação de filé em peixes adultos, o percentual de lisina estimado a partir de juvenis foi 18,22 g. Kg⁻¹ de lisina total. No entanto, é sugestivo a validação deste dado através de tambaquis na fase adulta.

Diante dos resultados obtidos, aceita-se as hipóteses alternativas H₁, H₂ e H₃ como verdadeiras (p<0,05), concluindo que a exigência de lisina para tambaqui na fase juvenil é 15,96 g. Kg⁻¹ de lisina ou 5,91 % da proteína da dieta.