

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Avaliação da necessidade proteica e substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja em rações para o pampo prateado *Trachinotus marginatus*

Acadêmico: Eduardo Martins da Silva

Orientador: Marcelo Borges Tesser

Co-orientador: Luís André Sampaio

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do grau de doutor em Aquicultura no
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da
Universidade Federal do Rio Grande - FURG.

Rio Grande, Agosto de 2014

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	III
AGRADECIMENTOS.....	IV
RESUMO GERAL.....	5
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
OBJETIVO.....	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 1: Whole-Body And Muscle Amino Acid Composition of, <i>Trachinotus marginatus</i> , and Prediction of Dietary Requirements for Essential Amino Acids	
SUMMARY.....	35
RESUMEM.....	35
RESUMO.....	36
INTRODUÇÃO.....	36
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS.....	38
DISCUSSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	44
CAPÍTULO 2: Crescimento e metabolismo do nitrogênio em juvenis de <i>Trachinotus marginatus</i> alimentados com diferentes níveis proteicos	
RESUMO.....	48
ABSTRACT.....	48
INTRODUÇÃO.....	49
MATERIAL E MÉTODOS.....	50
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
CONCLUSÃO.....	59
AGRADECIMENTOS.....	59
BIBLIOGRAFIA.....	59

CAPÍTULO 3: Viabilidade da substituição parcial e total da farinha de peixe por concentrado proteico de soja em rações experimentais para juvenis de Pampo prateado (*Trachinotus marginatus*)

RESUMO.....	64
ABSTRACT.....	64
INTRODUÇÃO.....	65
MATERIAL E MÉTODOS.....	66
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
AGRADECIMENTOS.....	74
REFERÊNCIAS.....	74
DISCUSSÃO GERAL.....	79
CONCLUSÃO.....	85

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a minha esposa Tatiane, pelo companheirismo, apoio incondicional e acima de tudo pela amizade que construímos ao longo desses 10 anos de convivência e ao meu filho Adriano, que, com seu sorriso torna cada um dos meus dias melhores, que com um “Papai, te amo” me impulsiona a prosseguir.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela bolsa no durante o doutorado.

A minha esposa e filho pelo carinho e companheirismo durante este período conturbado.

A minha família, mãe, pai, avós, avôs, tios, tias, primos e irmãos que com acertos e erros contribuíram com minha formação pessoal.

Ao meu orientador Marcelo, pela oportunidade de realização deste trabalho, pelas discussões e conselhos sobre o trabalho.

Ao meu co-orientador Sampaio pelas sugestões durante o desenvolvimento desse trabalho e pelas “soluções” nos casos de aperto.

Ao professor Romano, pela ajuda em toda análise histológica desenvolvida no trabalho.

A todo pessoal do laboratório de piscicultura que de uma maneira ou outra me ajudou na realização dos experimentos

Aos colegas Gabriel, Nego Léo e Diogão pela essencial ajuda na coleta dos pampos e manutenção dos experimentos.

As colegas Marta e Virgínia pelo auxílio nas técnicas histológicas.

Ao Anderson, sempre disposto à molhar o pezinho nas coletas na praia

Ao todo pessoal de manutenção da estação que sempre foram solícitos em atender ao que era solicitado.

A todo pessoal do laboratório pela amizade, brincadeiras e tudo mais.

A todos que, com certeza esqueci, mas que de alguma forma participaram do desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO GERAL

Esta tese teve como objetivos estimar as necessidades por aminoácidos essenciais, a influência de diferentes níveis de proteína no desempenho de juvenis de *Trachinotus marginatus*, como também a viabilidade da substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja para juvenis desta espécie. Todos os peixes usados nesta tese foram coletados por meio de rede de arrasto na zona de rebentação da praia do Cassino, Rio Grande - RS, e transportados para o Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Neste local os peixes foram submetidos a banhos profiláticos com formol a 50 ppm por uma hora durante três dias e permaneceram em aclimação por mais quatro dias. Para estimar as necessidades por aminoácidos essenciais, foram coletadas amostras de carcaça e músculo. Após análise da composição de aminoácidos das amostras foram estimadas as necessidades por aminoácidos essenciais, a partir do índice A/E [(AAE individual / AAE total) * 1000] determinado para cada amostra. Os juvenis de pampo apresentam composição e exigência por aminoácidos muito semelhantes a outros teleósteos marinhos. Enquanto as exigências por aminoácidos essenciais não forem determinadas experimentalmente, as exigências estimadas neste experimento podem ser usadas para se formular dietas balanceadas para *T. marginatus*. Para avaliar o nível proteico capaz de produzir o melhor crescimento de juvenis de pampo, grupos de dez (10) peixes foram estocados em nove tanques de 50 L em sistema de recirculação de água composto por filtro mecânico, filtro biológico e filtro ultra violeta. Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente quatro vezes ao dia durante 60 dias com dietas contendo 43, 54 ou 64% de proteína bruta (PB43, PB54 e PB64). O delineamento experimental foi totalmente casualizado e em triplicata. O ganho em peso, a taxa de crescimento específico e a conversão alimentar não apresentaram diferença significativa. Contudo, o acréscimo de proteína consumida aumentou o índice hepatossomático e a taxa de excreção de amônia pós-prandial, bem como reduziu a eficiência proteica. Os peixes alimentados com a dieta PB43 apresentaram menor concentração da transaminase glutâmico oxalacética hepática além de menor concentração de triglicerídeos no músculo e fígado. A composição da carcaça, o teor de glicogênio e de proteínas totais para músculo e fígado não mostraram diferenças significativas, excetuando o maior teor de lipídios da carcaça no tratamento PB43. Esses resultados sugerem que a melhor utilização da proteína por juvenis de pampo se deu quando consumiram a dieta com

43% de proteína, sem prejuízo para o crescimento. A viabilidade da substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja foi investigada por meio da alimentação de juvenis de pampo com rações contendo 0, 25, 50, 75 ou 100% de concentrado proteico de soja em substituição à farinha de peixe (CPS0, CPS25, CPS50, CPS75 e CPS100, respectivamente). As rações foram formuladas para conter 43 % de proteína bruta. Foram estocados 16 juvenis de pampo em cada um dos 15 tanques de 300 L que compunham cinco sistemas de recirculação de água equipados com filtro mecânico e filtro biológico. A alimentação dos peixes foi feita quatro vezes ao dia até a saciedade aparente durante 45 dias. A conversão alimentar, a taxa de eficiência proteica, a taxa de eficiência lipídica e a retenção lipídica não apresentaram diferenças ($p>0,05$). O peso médio final, o ganho em peso, a taxa de crescimento específico e os índices hepatossomático e viscerossomático foram menores para o tratamento CPS100 ($p<0,05$), porém não foram alterados até o tratamento CPS75. O consumo total de alimento e de proteína dos animais alimentados com a dieta CPS100 foram inferiores aos demais tratamentos, o que provocou menor retenção proteica nos peixes. Os resultados indicam que a farinha de peixe pode ser substituída por CPS em até 75 % nas rações para *Trachinotus marginatus* sem causar prejuízo no desempenho dos peixes. Os dados obtidos nesta tese permitem a formulação de dietas que supram as exigências de aminoácidos essenciais, com adequado teor proteico e com a possibilidade da substituição de até 75 % da farinha de peixe por concentrado proteico de soja.

Palavras-chave: Aminoácido, carangidae, metabolismo proteico, nutrição substituição proteica.

General Abstract

This thesis aimed to estimate the requirement for essential amino acids, the influence of different protein levels on the performance of juvenile *Trachinotus marginatus*, as well as the feasibility of replacing fish meal by soy protein concentrate for juveniles of this species. All fish used in this thesis were collected by trawl in the surf zone of Cassino Beach, Rio Grande - RS, and transported to the Marine Aquaculture Station of the Federal University of Rio Grande - FURG. There, the fish were subjected to prophylactic baths with 50 ppm formalin for one hour during three days and remained acclimation for more four days. To estimate the needs for essential amino acids, carcass and muscle samples were collected. After analysis of the amino acid composition of the samples were estimated needs for essential amino acids, from the index A / E [(individual EAA / total AAE) * 1000] determined for each sample. The composition and requirement of juvenile pompano was very similar to other marine teleost. While the requirements for essential amino acids are not determined experimentally, the estimated requirements in this experiment can be used to formulate balanced diets for *T. marginatus*. To evaluate protein level capable of producing the best growth of juvenile pompano, groups of ten (10) fish were stocked in nine tanks of 50 L in water recirculation system composed of mechanical filter, biological filter and ultra violet filter. The fish were fed to apparent satiation four times daily for 60 days diets containing 43, 54 or 64 % crude protein (43, 54 and 64 CP). The experiment was completely randomized design and in triplicate. The weight gain, specific growth rate and feed conversion did not differ significantly. However, the increased of protein consumed increased hepatossomatic index and the rate of excretion of postprandial ammonia and reduced protein efficiency. Fishes fed with diet 43CP showed lower concentration of glutamic oxaloacetic transaminase liver, as well as, lower concentrations of triglycerides in muscle and liver. Carcass composition, the content of glycogen and total protein for muscle and liver showed no significant differences, except for the highest lipid content of the carcass in the treatment 43CP. These results allow us to infer that the best protein utilization by juvenile pompano is when consuming diet with 43 % protein, without affecting growth. The viability of the total replacement of fish meal by soy protein concentrate was investigated by feeding juvenile pompano diets containing 0, 25, 50, 75 or 100% soy protein concentrate replacing fish meal (SPC0 , SPC25, SPC50, SPC75 and SPC100, respectively). The

diets were formulated to contain 43% crude protein. Sixteenth juvenile pompano were stocked in each 15 tanks of 300 L that made up the five systems recirculating water equipped with mechanical and biological filter. Feeding the fish was taken four times daily to apparent satiation for 45 days. The feed conversion, protein efficiency rate, lipid efficiency rate and lipid retention did not differ ($p > 0.05$). The final weight, weight gain, specific growth rate, hepatosomatic and viscerosomatic index were lower for SPC100 ($p < 0.05$), but treatment remained unchanged until treatment SPC75. The total consumption of food and protein from animals fed the diet SPC100 were lower to the other, which caused less protein retention for these animals. The results show that fish meal can be replaced by SPC up to 75 % in diets for juveniles pompano *Trachinotus marginatus* without harming the fish performance. The data obtained in this thesis enables the preparation of diets that supply the essential amino acid requirements with a suitable protein content and with the possibility of replacing up to 75 % of fish meal by soy protein concentrate.

Keywords: amino acid, Carangidae, nutrition, protein metabolism, protein replacement,

INTRODUÇÃO GERAL

Produção de pescado no Mundo

A pesca e a aquicultura produziram 158 milhões de toneladas de pescado em 2012, um aumento de 10 milhões de toneladas em relação à 2010, sendo que 136,2 milhões de toneladas foram destinadas ao consumo humano (SOFIA 2014). A disponibilidade de pescado cresceu drasticamente entre 1961 e 2009, com taxa de crescimento de 3,2 % ao ano, ultrapassando, portanto a taxa de crescimento populacional anual estimada em 1,6 % no período. Em concordância com este crescimento, o consumo per capita de pescado em nível mundial aumentou de 9,9 Kg na década de 1960 para 19,2 Kg em 2012. A China se destaca neste cenário pelo alto índice de crescimento da produção de 6 % e consumo per capita de 35,1 Kg em 2010 (SOFIA 2014). O consumo per capita no Brasil também apresenta esta tendência pois aumentou de 6,46 Kg em 2003 para 9,03 Kg em 2009. Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura este consumo per capita estava previsto somente para 2011 (MPA 2014).

A proporção de pescado destinado à alimentação humana cresceu desde a década de 1980, que era de 71 % do total, para mais de 86 % em 2012 com um total de 136 milhões de toneladas. A aquicultura se destaca em âmbito mundial no que tange à produção de alimento, sendo sua contribuição em 2012 foi de 66,6 milhões de toneladas de pescado produzidos para o consumo humano, em um valor de US\$ 137,7 bilhões. Neste ano, 46 % (63 milhões de toneladas) dos peixes comercializados para fins comestíveis, estavam vivos, frescos ou refrigerados. Nos países em desenvolvimento estas apresentações representaram 54 % do volume comercializado, enquanto os produtos congelados vêm crescendo ao longo dos anos (24 % em 2012). Nos países desenvolvidos, essa proporção aumentou para um recorde de 55 % em 2012 (SOFIA 2014).

A produção mundial de peixes foi de 44.151.250 toneladas, das quais 38.599.250 toneladas foram produzidas em águas interiores e 5.551.905 toneladas em ambiente marinho. A China tem a maior produção de peixes em água doce do mundo, com 23.341.134 toneladas, e a segunda maior produção em águas marinhas, 1.028.399 toneladas, em um total de 24.369.533 toneladas de peixe produzidas, o que representa 55,2 % da produção mundial.

O Brasil ocupa atualmente o 15º lugar no ranking dos países produtores, sendo o 8º maior produtor de peixes de água doce, com uma produção de 611.343 toneladas,

enquanto a piscicultura marinha é inexpressiva. No entanto, o país produz 74.415 toneladas de crustáceos e 20.699 toneladas de moluscos, perfazendo um total de 707.461 toneladas produzidas pela aquicultura, o que representa 1,1 % da produção mundial da aquicultura, excetuando as plantas aquáticas. (SOFIA 2014). A aquicultura marinha no Brasil se restringe a malacocultura e a carcinicultura. A produção de moluscos esta concentrada na produção de mexilhão, de ostra do pacífico e de vieira, produzidos principalmente em Santa Catarina. Já a criação de crustáceos se concentra no Rio Grande do Norte e Ceará, representando 78 % do montante produzido pela aquicultura marinha (MPA 2011).

A piscicultura marinha no Brasil

O Brasil apresenta boas perspectivas para o desenvolvimento da criação de peixes marinhos, tendo em vista a grande quantidade de áreas litorâneas (8.400 Km) com condições climáticas e hidrográficas adequadas, além disso existe um grande número de espécies sendo estudadas com potencial para criação comercial (Assad & Bursztyrn 2000). Entre elas, se destacam os robalos flecha e peva (*Centropomus undecimalis* e *Centropomus parallelus*), a garoupa verdadeira (*Epinephelus marginatus*), o linguado (*Paralichthys orbgnyanus*), o pampo (*Trachinotus marginatus*) e o bijupirá (*Rachycentron canadum*) (Baldisserotto & Gomes 2010). Além disso, grandes incentivos governamentais, por meio do Ministério da Pesca e Aquicultura, estão ocorrendo, principalmente com o bijupirá, com o objetivo de alavancar a produção no país. No entanto, a falta de tecnologia, fatores econômicos de mercado, a falta de mão de obra e de serviços especializados, a ausência de legislação específica e a baixa qualidade da ração, são fatores limitantes para o desenvolvimento da piscicultura marinha no país (Cavalli *et al.* 2011).

De acordo com Machiels & Henken (1985) e Lazo *et al.* (1998), a criação de uma espécie de peixe só será viável quando a disponibilidade de dietas adequadas, de boa digestibilidade e que proporcionem os nutrientes necessários para suportar o crescimento e a saúde dos animais estiverem disponíveis. Além disso, a farinha de peixe é o ingrediente mais caro das rações para peixes e sua redução ou completa eliminação das dietas traria benefícios econômicos e ambientais reduzindo o custo com alimentação por parte dos produtores (Lech & Reigh 2012). Em 2013, o valor estimado da tonelada de farinha de peixe foi de US\$ 1.800,00, enquanto o farelo de soja apresentou valor aproximadamente três vezes menor (SOFIA 2014).

Embora a aquicultura tenha aumentado sua contribuição no total peixes destinados ao consumo humano de 5,3 % em 1970 para 35,2 % em 2002, ainda é fortemente dependente da pesca marinha para o abastecimento de ingredientes indispensáveis para dieta de peixes criados, como a farinha e óleo de peixe. Para o ano de 2002 apenas aproximadamente 40,9 % da produção da aquicultura (20 milhões de toneladas) foi dependente de rações, para essa produção foi consumido o equivalente, em peso úmido, entre 21 e 22 milhões de toneladas de peixes pelágicos na forma de farinha e óleo de peixe, sendo que a piscicultura marinha é consumidora da maior parte da farinha de peixe destinada a fabricação de rações para organismos aquático em um total de aproximadamente 24 % (Tacon 2004), sendo este um dos principais entraves para a piscicultura (Tacon & Metian 2008).

O crescimento anual da aquicultura mundial, desde 1990, passou de 6,2 % em 2010 para 9,5 % em 2012 (SOFIA 2014), tal incremento traz consigo um importante aumento na demanda por ração, sendo a farinha de peixe a principal fonte proteica usada na fabricação de rações. A farinha de peixe é o ingrediente mais caro da fórmula de uma dieta para peixes o que onera em demasia tanto a manufatura destas, como a criação dos peixes. Esse aumento na demanda por farinha de peixe pressiona o setor pesqueiro a aumentar seu esforço de captura, o que vai de encontro com a atual situação dos estoques pesqueiros, uma vez que, cerca de 30 % dos estoques monitorados pela FAO encontra-se sobre explorado (SOFIA 2014). Todos esses fatores alavancam pesquisas em nível mundial na busca por fontes proteicas alternativas de qualidade que possam substituir a farinha de peixe diminuindo assim a dependência por este insumo (Ngandzali *et al.* 2011).

Desta forma, fica clara a necessidade de mais estudos sobre alimentação e nutrição de peixes marinhos nativos, para que se torne possível a manufatura de rações com menor custo e que sejam capazes de promover o melhor crescimento dos peixes, possibilitando o pleno desenvolvimento da atividade no Brasil.

O gênero *Trachinotus*

O gênero *Trachinotus* está alocado dentro da família Carangidae, a qual apresenta a maior riqueza de espécies na costa brasileira (Haimovici & Klippel 1999). Esta família engloba várias espécies economicamente importantes em áreas tropicais e sub-tropicais (Crabtree *et al.* 2002), em especial do gênero *Trachinotus*. Os pampos apresentam boa adaptabilidade a sistemas de criação intensiva, fato este, dado pela

pronta aceitação da dieta artificial e tolerância às condições ambientais adversas (Jory *et al.* 1985). O gênero *Trachinotus* apresenta cinco espécies com distribuição no Atlântico Ocidental; *Trachinotus carolinus*, de Massachusetts (EUA) até o Rio Grande do Sul no Brasil, *Trachinotus cayennensis* da Península Guajira na Colômbia até o estado da Paraíba no Brasil, *Trachinotus goodei*, de Massachusetts (EUA) até a Argentina, *Trachinotus falcatus*, de Massachusetts até o litoral sul de São Paulo (Brasil) e *Trachinotus marginatus*, com distribuição do sudeste do Brasil até o norte da Argentina (Menezes & Figueiredo 1980) (Figura 2), sendo esta, a espécie mais abundante no litoral sul do Brasil (Fischer *et al.* 2004).

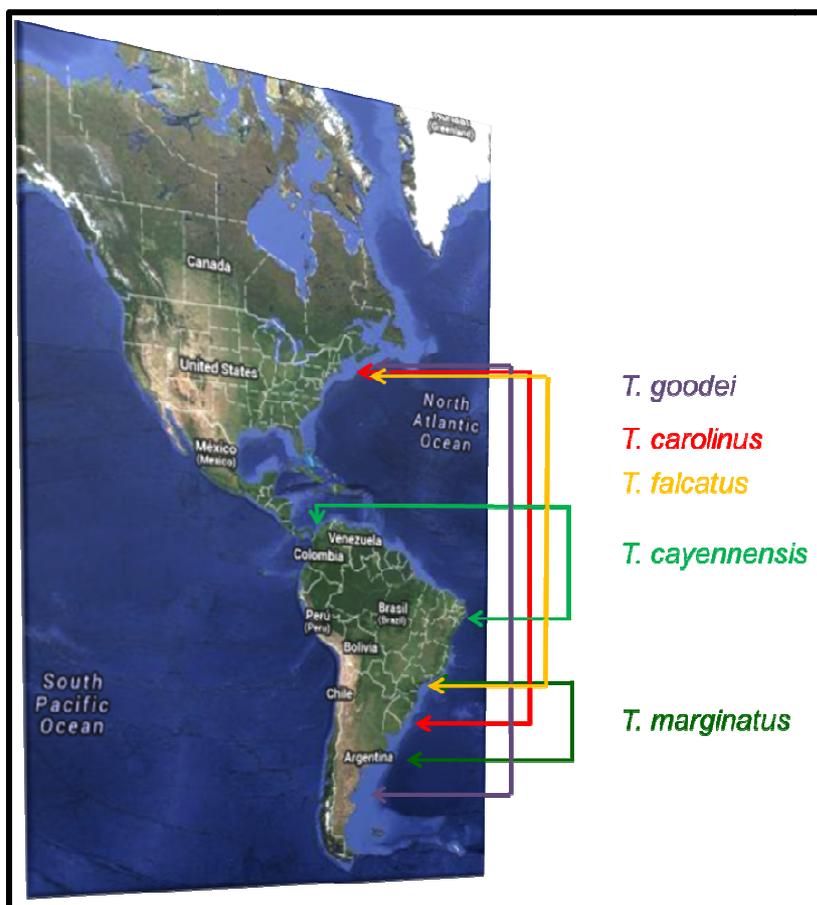


Figura 2. Distribuição no Atlântico das espécies do gênero *Trachinotus* na costa das Américas. Adaptado de www.mapadaamerica.com

Espécies do gênero *Trachinotus* são alvo de muitos estudos, sendo *T. blochii* (Lan *et al.* 2007; Pakingking *et al.* 2011; Gopakumar *et al.* 2012), *T. ovatus* (Tutman *et al.* 2004; Wang *et al.* 2012; Zang *et al.* 2014; Chen *et al.* 2010; Zang *et al.* 2010) e *T. carolinus* (Tatum 1972; Lazo *et al.* 1998; Weirich & Riche 2006; González-Félix *et al.* 2010; Riche & Williams 2011; Riche 2014) as espécies mais estudadas.

Trachinotus marginatus

Segundo Cunha (1987) os juvenis de *Trachinotus marginatus* (Figura 3) são comuns na zona de arrebentação do litoral do Rio Grande do Sul, com abundância máxima nos meses de dezembro a fevereiro, enquanto os adultos habitam águas profundas do Rio de Janeiro até o Uruguai (Lima & Vieira 2009). Fischer *et al.* (2004) demonstrou seu hábito alimentar diversificado, composto de invertebrados de pequeno porte e juvenis de outros peixes. A maturação sexual ocorre quando as fêmeas atingem 254,9 mm e os macho alcançam 187,2 mm, sendo o período reprodutivo entre primavera e verão em eventos de desova total (Lemos *et al.* 2011).



Figura 4. *Trachinotus marginatus* Cuvier 1832, Carangidae, Actinopterygii, Perciformes. Foto arquivo pessoal.

Esta espécie apresenta boa tolerância ao choque agudo de salinidade, sendo a salinidade média letal inferior 7 ‰ e superior 58 ‰ (Sampaio *et al.* 2003). Costa *et al.* (2008) comprovaram maior tolerância da espécie a exposição aguda de amônia e nitrito em salinidade 10 ‰, valor muito próximo do ponto isomótico do pampo que foi de 357,5 mOsmoles/kg H₂O⁻¹ equivalente à salinidade 13 ‰ (Abou Anni 2011). Neste estudo os juvenis de pampo cresceram mais em salinidade de 3 a 12 ‰.

O consumo de oxigênio pós-prandial foi estudado por Cunha *et al.* (2009) onde observaram que 2,5 horas passadas da alimentação, os juvenis de *T. marginatus* não apresentaram o consumo característico da fase pós-prandial, sugerindo uma frequência de alimentação de até 8 vezes por dia. Este resultado foi corroborado por Cunha *et al.* (2013) que determinaram que juvenis de *T. marginatus* apresentam melhor crescimento quando alimentados com 8 % da biomassa em frequência de oito vezes diárias em fotoperíodo de 24 horas de luz.

Os anestésicos benzocaína e eugenol foram avaliados por Okamoto *et al.* (2009). Ambos foram qualificados como bons anestésicos para juvenis do pampo *T. marginatus* devido ao curto período de anestesia e recuperação para a concentração de 50 ppm. Porém, os autores indicaram a benzocaína como o anestésico a ser utilizado por apresentar melhor custo/benefício.

Mais recentemente, Kütter *et al.* (2012) demonstraram que a suplementação na dieta com ácido lipóico em concentrações entre 316,4 e 524 mg Kg⁻¹ diminuem a peroxidação lipídica no músculo sem prejuízo para o crescimento. Em estudo posterior, Kütter *et al.* (2013) demonstraram que a administração intraperitoneal de ácido lipóico em dose de 20 mg Kg⁻¹ promove efeito antioxidante nos peixes, já com 40 e 60 mg Kg⁻¹, o ácido lipóico manteve o efeito antioxidante no cérebro, porém apresentou atividade pró-oxidante no fígado.

O montante de trabalhos realizados com espécies do gênero *Trachinotus*, demonstra que elas estão sendo fortemente cogitadas para produção comercial (Stikney 2009). No entanto, em especial para *T. marginatus* o estudo de aspectos como densidades de estocagem para engorda e larvicultura, temperatura ideal, reprodução e estudos que investiguem as exigências nutricionais para a espécie são de fundamental importância para que se viabilize sua produção.

Importância da proteína para nutrição de peixes

As proteínas são as macromoléculas mais importantes e abundantes no organismo vivo, podendo ocorrer na forma de pequenos peptídeos até grandes polímeros. Suas unidades formadoras são os aminoácidos, e apenas 20 tipos de aminoácidos diferentes constituem todas as proteínas. Essas unidades são fortemente unidas entre si por ligações covalentes e devido às características peculiares da cadeia lateral de cada um dos aminoácidos, as células podem formar uma incrível gama de proteínas com funções extremamente distintas. Os aminoácidos são constituídos de um carbono ao qual está ligado um grupo carboxila, um grupo amino, diferindo entre si pela cadeia lateral, que varia em estrutura, tamanho e carga elétrica (Nelson & Cox 2002).

As proteínas são o maior constituinte orgânico dos peixes podendo alcançar 75 % da matéria seca. Para formação desta biomassa os peixes necessitam obter substrato para renovação de proteínas desgastadas e construção de novas unidades, principalmente durante o crescimento e a reprodução (Wilson 2002).

O metabolismo de síntese e degradação proteica é sustentado pelos aminoácidos disponibilizados após a absorção e quebra dos di-peptídeos formados pela hidrólise promovida por enzimas específicas do trato digestório (Watanabe 1988). Níveis insuficientes de proteína bruta na dieta podem interferir em processos metabólicos vitais e reduzir o crescimento dos peixes. Por outro lado, quando a proteína é ofertada em excesso, resulta na desaminação dos aminoácidos, desviando a rota metabólica para fins energéticos que utilizam as cadeias carbônicas dos aminoácidos para síntese de açúcares e gorduras (Melo *et al.* 2006), aumentando a excreção de nitrogênio sob a forma de amônia gasosa (Merino *et al.* 2007).

Mais do que o nível ideal de proteína bruta em uma ração, é imprescindível que o perfil de aminoácidos seja adequado, uma vez que os peixes possuem exigência por um perfil de aminoácidos essenciais adequado e não puramente pela proteína (Bicudo & Cyrino 2009). Os aminoácidos essenciais são aqueles os quais os animais não possuem capacidade de síntese, sendo a dieta o único aporte destes nutrientes a arginina, a histidina, a isoleucina, a leucina, a lisina, a metionina, a fenilalanina, a treonina, o triptofano e a valina são os 10 aminoácidos essenciais para os peixes (Wilson 2002). Quando as exigências por aminoácidos do peixe são supridas pela dieta, ocorre diminuição da exigência proteica (Ng & Hung 1994) e incremento do desempenho dos peixes (Zang *et al.* 2008). Trabalhos com o intuito de determinar as necessidades por aminoácidos essenciais são realizados desde a década de 60 quando foi postulado o conceito de proteína ideal, no qual a composição de aminoácidos do corpo dos peixes reflete suas necessidades por aminoácidos essenciais. A partir deste fato, se multiplicaram os trabalhos que tentavam estimar as necessidades por aminoácidos desta forma.

Um dos precursores na utilização deste método foi Arai (1981), neste trabalho ficou demonstrado que as exigências por aminoácidos essenciais podem ser expressas como uma razão entre o total de aminoácidos da carcaça e o conteúdo de um aminoácido em particular. Seguindo esta metodologia, Wilson & Poe (1985) mostraram que existe alta correlação ($r^2 = 0,96$) entre as exigências por aminoácidos e a composição de aminoácidos da carcaça. Posteriormente, Wilson (2002) ratificou esta ideia quando demonstrou que ocorre alta relação entre as exigências calculadas e as exigências determinadas em experimento dose resposta. Desde então são vários os trabalhos com este objetivo, Gurure *et al.* (2007), para *Salvelinus alpinus*; Bicudo & Cyrino (2009), para *Prochilodus lineatus* e *Brycon amazonicus*; Hossain *et al.* (2011),

para *Pampus argentus* e Snellgrove *et al.* (2011), para *Carassius auratus*. Geralmente a determinação das exigências por aminoácidos essenciais é feita em experimentos dose-resposta. Esta metodologia demanda muito tempo e dinheiro, ao contrário, estimar as necessidades por aminoácidos essenciais pela composição corporal é mais rápido e barato (Alam *et al.* 2002).

As necessidades nutricionais dos peixes talvez seja o maior limitante do processo produtivo na aquicultura, uma vez que a alimentação corresponde ao maior custo da produção (Craig & Helfrich 2002). Essas exigências estão relacionadas com aspectos biológicos como: espécie, idade, sexo e desenvolvimento das gônadas e do trato digestório; parâmetros ambientais, entre eles, temperatura, fotoperíodo e qualidade da água; e de aspectos de manejo como a quantidade de alimento ofertado e a frequência alimentar (Watanabe 1988; Pezzato *et al.* 2004), estando o valor nutricional da dieta subjugado a sua digestibilidade.

A necessidade proteica é um aspecto importante a ser investigado para determinar as exigências nutricionais de uma espécie (Gao *et al.* 2005, Martínez-Palacios *et al.* 2007). A proteína destaca-se dentre os nutrientes, pelo importante papel biológico que desempenha em processos enzimáticos, de transporte (hemoglobina), reserva energética, proteínas contrácteis (miosina e actina), proteínas estruturais, de defesa e controladoras (hormônios) (Pezzato *et al.* 2004).

O teor proteico da ração e o montante de alimento ofertado são os principais determinantes do crescimento dos peixes, da eficiência alimentar e da qualidade de água (Jana *et al.* 2006, Mohanta *et al.* 2008). Portanto é importante que se realizem estudos com o intuito de maximizar o uso deste ingrediente, reduzindo assim a quantidade de amônia liberada no ambiente (Sá *et al.* 2008). Porém, é imprescindível lembrar que o perfil de aminoácidos presentes na proteína é decisivo para sua qualidade e determina seu valor como componente da dieta. Dietas com excesso de proteína podem ser tão prejudiciais para o crescimento dos peixes quanto dietas pobres em proteína.

Carvalho *et al.* (2010) demonstraram que o excesso de proteína (50 % de proteína bruta) diminuiu o consumo de alimento, o ganho de peso, e a taxa de crescimento específico, além de aumentar a taxa de excreção de amônia para juvenis de *Mugil liza*. Por outro, com 35 % de proteína bruta na dieta a eficiência proteica melhorou e a taxa de excreção de amônia reduziu. O mesmo resultado foi encontrado anteriormente por Yang *et al.* (2002) para *Bidyanus bidyanus*, onde peixes alimentados com dietas contendo 13, 19, 25, 31 ou 37 % de proteína bruta, apresentaram ganho de

peso e eficiência alimentar ascendentes conforme o teor de proteína, não encontrando diferença entre os níveis de 37, 43, 49 e 55 % de proteína bruta. Já a taxa de eficiência proteica diminuiu à medida que aumentou o nível de proteína bruta da ração e o teor de lipídios da carcaça mostrou tendência contrária. Estes resultados demonstram que uma dieta com teor de proteínas inadequado pode comprometer o desempenho e alterar o metabolismo dos peixes.

Considerando a limitada disponibilidade e o alto valor da farinha de peixe, US\$ 1.800 / tonelada (SOFIA 2014), é necessário buscar fontes proteicas alternativas para que se diminua a dependência por este ingrediente oneroso das rações. Em 2002, Watanabe já havia postulado a fundamental importância da redução desta dependência para o desenvolvimento sustentável da criação de peixes carnívoros. Fontes proteicas vegetais como as oleaginosas e leguminosas são estudadas a mais tempo, principalmente pela facilidade de acesso e baixo valor se comparadas com a farinha de peixe (Lech & Reigh 2012). A substituição parcial da farinha de peixe por uma fonte de proteína vegetal é comumente usada gerando bons resultados, porém a substituição total raramente apresenta os mesmos resultados (Moyano *et al.* 1992, Gomes *et al.* 1995). Isto é causado principalmente pelo menor teor de proteína da maioria dos vegetais utilizados se comparados à farinha de peixe, pelo desequilíbrio de aminoácidos, alterações de paladar e pela presença de fatores antinutricionais endógenos (Pereira & Olivia-Teles 2004). Os substitutos com resultados mais promissores são encontrados com o uso de ingredientes como o girassol, o glúten de milho, o glúten de trigo e em menor importância as farinhas de ervilha e tremoço, com destaque para a soja Tacon (2004).

O farelo de girassol é resultante da moagem das sementes de girassol (*Heliantus annuus*) no processo industrial para extração de seu óleo para consumo humano. Este farelo apresenta teor de proteína bruta variando entre 28 e 45 %, mas é deficiente em lisina (NRC 2011). Com baixo teor de fatores antinutricionais (polifenóis 1-3%), porém apresenta altos níveis de fibras (18-23 %) e lignina (Mérida *et al.* 2010). Mesmo assim, sua introdução em substituição à farinha de peixe mostrou bons resultados. Martínez (1984) não detectou prejuízo para o crescimento de trutas, *Salmo Gairdneri*, alimentadas com dieta contendo 22 % de farelo de girassol. Para a salmão do Atlântico (*Salmo salar*), Gill *et al.* (2006) conseguiram a inclusão de 33 % deste farelo sem efeitos adversos para o desenvolvimento dos peixes. Enquanto (Sanchez-Lozano *et al.* 2007), mostraram que a substituição máxima para juvenis de *Sparus aurata* é de 12 %.

O glúten de milho é obtido quando o amido é extraído do grão. O glúten de milho apresenta em torno de 60 % de proteína bruta, com bom perfil de aminoácidos essenciais, com exceção da lisina e arginina, além disso não possui compostos prejudiciais a digestão ou ao crescimento dos peixes (Lech e Reigh, 2012). Os autores acima citados demonstraram que o GM tem aproximadamente 57 % de digestibilidade aparente para proteína bruta e energia para *Trachinotus carolinus*. Yiğit *et al.*, (2012) mostraram que o crescimento de juvenis de *Sparus aurata* não é prejudicado pelo consumo de rações com substituição de 10 % da farinha de peixe por GM, mesmo sem suplementação de aminoácidos. Já Pereira e Olivia-Teles (2003) demonstraram para juvenis de *Sparus aurata* que é possível substituir 60 % da proteína da farinha de peixe por GM em dietas contendo somente essas duas fontes de proteína. O crescimento de juvenis de *Lateolabrax japonicus* não é prejudicado quando os peixes são alimentados com dietas contendo 60 % de GM em substituição à farinha de peixe, porém o GM suprime o consumo de alimento e interfere negativamente na absorção de aminoácidos pela diminuição da expressão do gene do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I) no fígado (Mem *et al.*, 2014).

O glúten de trigo é obtido de maneira similar ao glúten de milho, pela extração de separação da fração não nitrogenada e concentração do conteúdo proteico do trigo. O glúten de trigo apresenta alta digestibilidade proteica e não provocou alterações histológicas no intestino de *Salmo salar* alimentados com dietas contendo 17 % deste ingrediente (Storebakken *et al.*, 2000). Helland e Grisdale-Helland (2006) destacaram a importância do glúten de trigo para alimentação de peixes como substituto para a farinha de peixe. Em seu trabalho estes autores demonstraram que juvenis de *Hippoglossus hippoglossus* alimentados com dietas contendo 30 % de glúten de trigo em substituição à farinha de peixe (sem suplementação de aminoácidos) não sofrem alterações no peso final, na taxa de crescimento específico ou na conversão alimentar. Nesse caso as dietas contendo glúten de trigo apresentaram maior retenção de arginina, lisina, metionina e treonina. Já para *Dicentrarchus labrax* alimentados com dietas contendo glúten de trigo e suplementadas com arginina, lisina e metionina, a substituição de 70 % da farinha de peixe não influenciou o ganho de peso, a taxa de crescimento específico ou a conversão alimentar. Além disso, o músculo dos peixes alimentados com essa dieta apresentou maior concentração de n-6 e n-6 PUFA com destaque para o DHA (Messina *et al.*, 2013).

O farelo da ervilha (*Pisum sativum*) tem sido considerada como bom substituto para a farinha de pescado em rações para peixes por apresentar baixo conteúdo de fatores antinutricionais, bom balanço proteico e por seu conteúdo de amido (Drew et al. 2007, Gatlin III et al. 2007). O teor proteico da farelo de ervilha está em torno de 21 %, com deficiência de metionina e cisteína, enquanto os lipídios representam 3,15 % (Gouveia & Davis 1998). Davies & Gouveia (2010) observaram pequena diminuição do crescimento de *Cyprinus carpio*, mas sem modificações na composição corporal de carpas quando foram alimentadas com rações contendo 45 % de farinha de ervilha sem tratamento prévio. Neste experimento em mesmo nível de adição, porém com farinha tostada não houve modificações no crescimento dos peixes ou em sua composição.

O mais incomum dos ingredientes mencionados neste projeto, com certeza é o farelo de tremoço (*Lupinus ssp*). Contudo, o farelo das sementes de tremoço tem sido usado como componente de dietas de peixes em vários trabalhos (Robaina et al. 1995, Burel et al. 2000, Carter & Hauler 2000, Glencross et al. 2004, 2006, 2008, 2010). As sementes desta leguminosa da família Fabaceae apresentam em torno de 45 % de proteína bruta e teor de lipídios em torno de 8,5 % (Glencross et al. 2005). A digestibilidade para estes componentes é de aproximadamente 90 e 80 %, respectivamente, no entanto são pobres em lisina e metionina (Glencross et al. 2010). O tremoço vem sendo considerado como um bom substituto para a soja por sua significância nutricional (Wrigley 2003), porém sua aplicação deve ser cuidadosa, pois este apresenta concentração importante de alcalóides. Além destes, no farelo de tremoço, se encontram outros fatores antinutricionais como o ácido fítico e inibidores da tripsina, embora em menor concentração do que na soja (Pettersen & Crosbie 1990). A substituição de 40% da farinha de peixe por concentrado proteico de tremoço não prejudica o consumo de alimento, o crescimento ou a conversão alimentar de trutas arco-íris (Glencross et al. 2006).

A soja (*Glycine max*) é usada, principalmente, para a extração do óleo de soja e o subproduto deste processo é o farelo de soja que se caracteriza por apresentar teor proteico e perfil de aminoácidos essenciais próximo ao da farinha de peixe, embora apresente deficiência em metionina e lisina. A metionina tem papel importante para correta síntese proteica juntamente com a cisteína, sendo que esta pode ser sintetizada a partir da primeira, já a lisina é considerada o principal aminoácido limitante para peixes por ser essencialmente constitutiva de proteínas, o que inviabiliza a síntese de novas proteínas quando em concentrações abaixo do necessário (Wilson 2002).

No entanto, a soja apresenta fatores antinutricionais como, inibidores da tripsina, lecitinas aglutinantes, saponinas, ácido fítico e carboidratos não digestíveis que provocam redução no desempenho dos animais. Estes carboidratos podem alterar a comunidade bacteriana do intestino e provocar alterações morfométricas no trato digestório e no fígado (Krogdahl *et al.* 2010). Ainda assim o farelo de soja é considerado a fonte proteica vegetal mais promissora para substituição da farinha de peixe por apresentar excelente composição de aminoácidos (Lech & Reigh 2012), além de boa palatabilidade, digestibilidade e adequado balanço nutricional (Alvarez *et al.* 2007).

Os derivados de soja são uns dos ingredientes mais estudados atualmente, sendo os produtos processados de soja mais adequados para alimentação de peixes do que o farelo de soja uma vez que possuem menor teor de fatores antinutricionais e teor proteico mais elevado, podendo reduzir a dependência pela farinha de peixe e ajudar a promover o crescimento sustentável do setor (USSEC, 2008).

O concentrado proteico de soja (CPS) é obtido após do beneficiamento da soja para a extração do óleo. O resíduo desse processo é moído para obtenção do farelo de soja e posteriormente submetido a extração alcoólica que concentra a proteína da soja, remove os carboidratos solúveis e diminui drasticamente os níveis de fatores antinutricionais como os inibidores de tripsina, as glicinas, as saponinas e os oligossacarídeos que são encontrados em maior concentração no farelo de soja (Brown *et al.* 2008). A inclusão de derivados de soja na dieta é feita com sucesso para diversas espécies de peixe, contudo a completa substituição da farinha de peixe pode reduzir o crescimento e impactar negativamente a sanidade dos peixes (Xu *et al.* 2012).

O teor de proteína bruta do CPS é superior ao do farelo de soja e similar ao teor proteico encontrado para farinha de peixe (65-76 %). Além disso apresenta melhor digestibilidade de proteína e energia, e melhor palatabilidade em relação ao farelo de soja (Cruz-Suárez *et al.* 2009). O perfil de aminoácidos do CPS é semelhante ao da farinha de peixe exceto para metionina e lisina. O CPS tem custo de aproximadamente U\$ 600 / tonelada. A baixa umidade lhe confere alta estabilidade durante a armazenagem deste ingrediente, uma característica interessante no âmbito comercial. Ademais, por ser derivado de cultivares bem estabelecidas e isoladas, sua composição e qualidade são uniformes, diferente da farinha de peixe, cuja composição pode variar de acordo com a matéria prima e com o processo empregado para sua obtenção (Allan *et al.* 2000). No que tange às características físicas da ração produzida com o CPS, há

melhor aderência dos ingredientes da ração durante a extrusão dos pellets e aumento da estabilidade da ração na água.

Bañuelos-Vargas *et al.* (2014) mostraram que juvenis de *Totoaba macdonaldi* alimentados com rações contendo 30 % de substituição da FP por CPS não sofreram alterações na taxa de crescimento diário. No mesmo experimento peixes alimentados com rações contendo 60 % de CPS e suplementação de taurina (1 %) também não tiveram seu prejudicado. Já para *Seriola lalandi*, a substituição da FP por CPS não deve ultrapassar 20 %, visto que os juvenis alimentados com rações contendo 30 % de CPS apresentaram maior conversão alimentar e piores eficiências proteica e energética (Bowyer *et al.* 2013). O crescimento e a eficiência alimentar de juvenis de *Rachycentron canadum* não apresentaram alterações quando os peixes foram alimentados com rações contendo 75 % de substituição de FP por CPS em relação à dieta sem CPS (Salze *et al.*, 2010). Ribeiro (2012) demonstrou que é possível substituir totalmente a FP por CPS em rações para juvenis de tilápia-do-Nilo, concluindo que a utilização do CPS em formulações de rações comerciais pode ser uma alternativa nutricional e economicamente viável.

Considerando o exposto, se evidencia a importância de determinar as necessidades aminoacídicas e proteicas, assim como a possibilidade da substituição da FP por CPS em rações para alimentação do pampo, *Trachinotus marginatus*.

Objetivo geral

Investigar as necessidades aminoacídicas, observar o desempenho zootécnico e metabolismo proteico de peixes alimentados com dietas contendo diferentes níveis proteicos e avaliar a viabilidade da utilização de concentrado proteico de soja em rações para juvenis de pampo *Trachinotus marginatus*.

Objetivos específicos

Determinar a composição e perfil de aminoácidos da carcaça e de músculo de juvenis de pampo e estimar as exigências por aminoácidos essenciais baseado nestas análises;

Avaliar o crescimento, a composição centesimal e a taxa de excreção de amônia pós-prandial de juvenis de pampo alimentados com diferentes níveis de proteína;

Determinar as concentrações de triglicérides, de colesterol, de glicogênio, de transaminase glutâmico pirúvica, de transaminase glutâmico oxalacética e de proteínas totais no músculo e fígado de juvenis de pampo alimentados com dietas contendo diferentes níveis proteicos;

Avaliar diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja em dietas para juvenis de pampo *T. marginatus*, sobre o desenvolvimento zootécnico e composição corporal dos peixes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU ANNI, I. 2011. Efeito da salinidade sobre o comportamento ionosmorregatório e crescimento de juvenis de pampo *Trachinotus marginatus*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.
- ALAM, S., TESHIMA, S., YANIHARTO, D., KOSHIO, S., ISHIKAWA, M. 2002. Influence of different dietary amino acid patterns on growth and body composition of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 210, 359-369.
- ALLAN, G.L., PARKINSON, S., BOOTH, M.A., STONE, D.A.J., ROWLAND, S.J., FRANCES, J., WARNER-SMITH, R. 2000. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*. 186, 293-310.
- ALVAREZ, J.S., HERNÁNDEZ-LLAMAS, A., GALINDO, J. FRAGA, I., GARCÍA, T., VILLARREAL, H. 2007. Substitution of fishmeal with soybean meal in practical diets for juvenile white shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Aquacul. Res.* 38, 689-695.
- ARAI, S. 1981. A purified test diet for Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fry. *Bull. Jap. Soc. Scientic. Fisheries*, 47, 547-550.
- ASSAD, L.T. & BURSZTYN, M. 2000. Aquicultura Sustentável. In: VALENTI, W.C., POLI, C.R., PEREIRA J.A., BORGHETTI, J.R. (Ed.). Aquicultura no Brasil: Bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília, CNPq/MCT. 33-72.
- BALDISSEROTO, B. & GOMES, L.C. 2010. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Editora UFSM, Santa Maria 2ª Ed. 606p.
- BAÑUELOS-VARGAS, I., LÓPEZ, L.M., PÉREZ-JIMÉNEZ, A., PERES, H. 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comp. Biochem. Physiol.*, Part B. 170, 18-25.
- BICUDO, A.J.A. & CYRINO, J.E.P. 2009. Estimating amino acid requirement of brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *J. W. Aquacul. Soc.* 40, 818–823.
- BOWYER, J.N., QIN, J.G., SMULLEN, R.P., ADAMS, L.R., THOMSON, M.J.S., STONE, D.A.J. 2013. The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures□: 2. Soy protein concentrate. *Aquaculture*, 410-411, 1-10.

- BROWN, P.B., KAUSHIK, S., PERES, H. 2008. Protein feedstuffs originating from soybeans. In: LIM, C.E., WEBSTER, C.D., LEE, C.S. (Eds.), *Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets*. Haworth Press, New York, pp. 205-224.
- BUREL, C., BOUJARD, T., KAUSHIK, S.J., BOEUF, G., GEYTEN, S.V.D., MOL, K.A., KÜHN, E.R., QUINSAC, A., KROUTI, M., RIBAILLIER, D. 2000. Potential of plant-protein sources as fishmeal substitutes in diets of turbot *Psetta maxima*: Growth, nutrient utilization and thyroid status. *Aquaculture*, 188, 363-382.
- CARTER, C.G., HAULER, R.C. 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 185, 299-311.
- CARVALHO, C. V. A, BIANCHINI, A., TESSER, M. B., SAMPAIO, L. A. 2010. The effect of protein levels on growth, postprandial excretion and tryptic activity of juvenile mullet *Mugil platanus* (Günther). *Aquacul. Res.*, 41, 511-518.
- CAVALIN, F.G. & WEIRICH, C.R. 2009. Larval performance of aquacultured Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) fed rotifers (*Brachionus plicatilis*) enriched with selected commercial diets. *Aquaculture*, 292, 67-73.
- CAVALLI, R.O., DOMINGUES, E.C., HAMILTON, S. 2011. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. *Rev. Bras. Zootec.*, 40, 155-164.
- CHAVES, I.S., LUVIZZOTTO-SANTOS, R., SAMPAIO, L.A.N., BIANCHINI, A, MARTÍNEZ, P.E. 2006. Immune adaptive response induced by *Bicotylophora trachinoti* (Monogenea: Diclidophoridae) infestation in pompano *Trachinotus marginatus* (Perciformes: Carangidae). *Fish & Shellfish Immunol.* 21, 242-50.
- CHEN, X., JI, J., LI, J., WEI, A., XU, C., XU, S., XU, X., ZHU, W. 2010. Feed for *Trachinotus ovatus* comprises fish meal, corn powder, bean pulp, cotton seed pulp, rapeseed dregs, leftovers of livestock, vitamin complex and trace elements. Patent Number(s): CN101756074-A
- COSTA, L.D.F., MIRANDA-FILHO, K.C., SEVERO, M P, SAMPAIO, L.A. 2008. Tolerance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* to acute ammonia and nitrite exposure at different salinity levels. *Aquaculture*, 285, 270-272.
- CRABTREE, R.E., HOOD, P.B., SNODGRASS, D. 2002. Age, growth and reproduction of permit (*Trachinotus falcatus*) in Florida waters. *Fish. Bull.*, 100, 26-34.
- CRUZ-SUÁREZ, L.A., TAPIA-SALAZAR, M., VILLARREAL-CAVAZOS, D., BELTRAN-ROCHA, J., NIETO-LÓPEZ, M.G., LEMME, A., RICQUE- MARIE, D.

2009. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*, 292, 87-94.
- CUNHA, V.L., RODRIGUES, R.V., OKAMOTO, M.H., SAMPAIO, L.A. 2009. Consumo de oxigênio pós-prandial de juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. *Cienc. Rur.*, 39, 1245-1247.
- CUNHA, V.L., SHEI, M.R.P., OKAMOTO, M.H., RODRIGUES, R.V., SAMPAIO, L.A. 2013. Feeding rate and frequency on juvenile pompano growth. *Pesq. Agropec. Bras.* 48, 950-954.
- DAVIES, A., GOUVEIA, A. 2010. Response of common carp fry fed diets containing a pea seed meal (*Pisum sativum*) subjected to different thermal processing methods. *Aquaculture*, 305: 117-123.
- DREW, M.D., BORGESON, T.L., THIESSEN, D.L. 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 138, 118-136.
- FISCHER, L.G., PEREIRA, L.E.D., VIEIRA J.P. 2004. Peixes estuarinos e costeiros. Rio Grande: *Ecoscientia*, 127p.
- GAO, Y., LV, J., LIN, Q., LI, L. 2005. Effect of protein levels on growth, feed utilization, nitrogen and energy budget in juvenile southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. *Aquacul. Nutr.*, 11, 427-433.
- GATLIN III, D.M., BARROWS, F.T., BROWN, P., DABROWSKI, K., GAYLORD, T.G., HARDY, R.W., HERMAN, E., HU, G., KROGDAHL, A., NELSON, R., OVERTURF, K., RUST, M., SEALEY, W., SKONBERG, D., SOUZA, E.J., STONE, D., WILSON, R., WURTELE, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.*, 38, 551-579.
- GILL, N., HIGG, D.A., SKURA, B.J., ROWSHANDELI, M., DOSANJH, D., MANN, J., GANNAM, A.L. 2006. Nutritive value of partially dehulled and extruded sunflower meal for post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in sea water. *Aquac. Res.*, 37, 1348-1359.
- GLENCROSS, B.D., EVANS, D., JONES, J.B., HAWKINS, W.E. 2004. Evaluation of the dietary inclusion of yellow lupin (*Lupinus luteus*) kernel meal on the growth, feed utilisation and tissue histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 235, 411-422.

- GLENCROSS, B.D., SWEETINGHAM, M., HAWKINS, W.E. 2010. A digestibility assessment of pearl lupin (*Lupinus mutabilis*) meals and protein concentrates when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 303, 59-64.
- GLENCROSS, B.D., HAWKINS, W.E., EVANS, D., RUTHERFORD, N., DODS, K., MCCAFFERTY, P., SIPSAS, S. 2008. Evaluation of the influence of *Lupinus angustifolius* kernel meal on dietary nutrient and energy utilization efficiency by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.*, 14, 129-138.
- GLENCROSS, B.D., HAWKINS, W.E., EVANS, D., MCCAFFERTY, P., DODS K., JONES, J.B., SWEETINGHAM, M., MORTON, L., HARRIS, D., SIPSAS, S. 2006. Evaluation of the influence of the lupin alkaloid, gramine when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 253, 512-522.
- GLENCROSS, B.D., HAWKINS, W.E., EVANS, D., MCCAFFERTY, P., DODS K., MAAS, R., SIPSAS, S. 2005. Evaluation of the digestible value of lupin and soybean protein concentrates and isolates when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using either stripping or settlement faecal collection methods. *Aquaculture.*, 245, 211-220.
- GOMES, E.F., REMA, P., KAUSHIK, S.J. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130, 177-186.
- GONZÁLEZ-FÉLIX, M.L., DAVIS, D.A., ROSSI, W., PEREZ-VELAZQUEZ, M. 2010. Evaluation of apparent digestibility coefficient of energy of various vegetable feed ingredients in Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture*, 310, 240-243.
- GOPAKUMAR, G., NAZAR, A.K.A., JAYAKUMAR, R., TAMILMANI, G., KALIDAS, C., SAKTHIVEL, M., RAMESHKUMAR, P., RAO, G.H., PREMJOITHI, R., BALAMURUGAN, V., RAMKUMAR, B., JAYASINGH, M., RAO, G.S. 2012. Broodstock development through regulation of photoperiod and controlled breeding of silver pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801) in India. *Indian J. Fish.*, 59, 53-57.
- GOUVEIA, A & SJ DAVIES. 1998. The nutritional evaluation of a pea seed meal (*Pisum sativum*) for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 166, 311-320.

- GURURE, R., ATKINSON, J., MOCCIA, R. D. 2007. Amino acid composition of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) and the prediction of dietary requirements for essential amino acids. *Aquacul. Nutr.*, 13, 266-272.
- HAIMOVICI, M & KLIPPEL, S. 1999. Diagnóstico da biodiversidade dos peixes teleosteos demersais marinhos e estuarinos do Brasil. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 68 p.
- HEILMAN, M.J. & SPIELER, R.E. 1999. The daily feeding rhythm to demand feeders and the effects of timed meal-feeding on the growth of juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture*, 180, 53-64.
- HELLAND, S.J., GRISDALE-HELLAND, B. 2006. Replacement of fish meal with wheat gluten in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effect on whole-body amino acid concentrations. *Aquaculture*, 261, 1363-1370.
- HOFF, F.H., MOUNTAIN, J., FRAKES, T., HALCOTT, K. 1978. Spawning, oocyte development and larvae rearing of the Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *J. World Aquacul. Soc.*, 9, 1-4.
- HOFF, F.H., PULVER, T., MOUNTAIN, J. 1978. Conditioning florida pompano (*Trachinotus carolinus*) for continuous spawning. *J. World Aquacul. Soc.*, 9, 1-4.
- HOSSAIN, B.M.A., ALMATAR, S.M., JAMES, C.M. 2011. Whole body and egg amino acid composition of silver pomfret *Pampus argenteus* (Euphrasen, 1788) and prediction of dietary requirements for essential amino acids. *J. Applied Ichthyol.*, 27, 1067-1071.
- JANA, S.N., GARG, S.K., BARMAN, U.K., ARASU, A.R.T., PATRA, B.C. 2006. Effect of varying dietary protein levels on growth and production of *Chanos chanos* (Forsskal) in inland saline groundwater: laboratory and field studies. *Aquacul. Internat.*, 14, 479-498.
- JORY, D.E., IVERSEN, E.S., LEWIS, R.H. 1985. Culture of the fishes of the genus *Trachinotus* (Carangidae) in the Western Atlantic. *J. World Maric. Soc.*, 16, 87-94.
- KRANTZ, G.E. 1973. Commercial pilot production of the florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *J. World Aquacul. Soc.*, 4, 1-4.
- KROGDAHL, A., PENN, M., THORSEN, J., REFSTIE, S., BAKKE, A.M., 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquacul. Res.*, 41, 333-344.
- KÜTTER, M.T., MONSERRAT, J.M., PRIMEL, E.G., CALDAS, S.S., TESSER, M.B. 2012. Effects of dietary α -lipoic acid on growth, body composition and antioxidant

status in the Plata pompano *Trachinotus marginatus* (Pisces, Carangidae). *Aquaculture*, 368-369, 29-35.

LAN, H.P., CREMER, M.C., CHAPPELL, J., HAWKE, J. 2007. Growth performance of pompano (*Trachinotus blochii*) fed fishmeal and soy based diets in offshore OCAT Ocean Cages. U.S. Soybean Export Council, 12125 Woodcrest Executive Drive Suite 140, St. Louis, MO 63141, USA

LAZO, J.P., DAVIS, D.A., ARNOLD, C.R. 1998. The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *Aquaculture*, 169, 225-232.

LECH, G.P. & REIGH, R.C. 2012. Plant products affect growth and digestive efficiency of cultured Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) fed compounded diets. *PloS ONE*, 7, e34981.

LIMA, M.S.P. & VIEIRA, J.P. 2009. Variação espaço-temporal da ictiofauna da zona de arrebentação da Praia do Cassino, Rio Grande do Sul, Brasil. *Zoologia*, 26, 499-510.

MACHIELS, M.A.M. & HENKEN, A.M. 1985. Growth rate, feed utilization and energy metabolism of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), as affected by dietary protein and energy content. *Aquaculture*, 44, 271-284.

MARTÍNEZ, C.A. 1984. Advances in the substitution of fish meal and soybean meal by sunflower meal in diets of rainbow trout (*Salmo Gairdneri* L.). *An. Inst. Cienc. Mar Limnol. Univ. Nac. Auton. Méx.* 13, 345-350.

MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A., RÍOS-DURÁN, M.G., AMBRIZ-CERVANTES, L., JAUNCEY, K.J., ROSS, L.G. 2007. Dietary protein requirement of juvenile Mexican Silverside (*Menidia estor* Jordan 1879), a stomachless zooplanktophagous fish. *Aquacult. Nutr.*, 13, 304- 310.

MARTINS, S.A.E.M. & BIANCHINI, A.D.B. 2008. Copper accumulation and toxicity in the Plata pompano *Trachinotus marginatus* Cuvier 1832 (Teleostei, Carangidae), *Pan-Am. J. Aquatic Sci.* 3: 384-390.

MELO, J.F.B., LUNDSTEDT, L.M., METÓN, I., BAANANTE, I.V., MORAES, G. 2006. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, Part A. 145, 181-187.

MEN, K., AI, Q., MAI, K., XU, W., ZHANG, Y., & ZHOU, H. 2014. Effects of dietary corn gluten meal on growth, digestion and protein metabolism in relation to IGF-I gene expression of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 428-429, 303-309.

- MENEZES, N.A. & FIGUEIREDO J.L. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. São Paulo, USP. 96p
- MÉRIDA, S.N., TOMÁS-VIDAL, A., MARTÍNEZ-LLORENS, S., & CERDÁ, M.J. 2010. Sunflower meal as a partial substitute in juvenile sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) diets: amino acid retention, gut and liver histology. *Aquaculture*, 298, 275-281.
- MERINO, G.E., PIEDRAHITA, R.H., CONKLIN, D.E. 2007. Ammonia and urea excretion rates of California halibut (*Paralichthys californicus*, Ayres) under farm-like conditions. *Aquaculture*, 271, 227-243.
- MESSINA, M., PICCOLO, G., TULLI, F., MESSINA, C.M., CARDINALETTI, G., & TIBALDI, E. 2013. Lipid composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed diets containing wheat gluten and legume meals as substitutes for fish meal. *Aquaculture*, 376-379, 6-14.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). 2014. Potencial pesqueiro. Publicado em 18 de Junho de 2014. Acessado em 02 de Julho de 2014. www.mpa.gov.br/index.php/aquicultura/potencial-brasileiro
- MOHANTA, K.N., MOHANTY, S.N., JENA, J.K., SAHU, N.P. 2008. Optimal dietary lipid level of silver barb, *Puntius gonionotus* fingerlings in relation to growth, nutrient retention and digestibility, muscle nucleic acid content and digestive enzyme activity. *Aquacult. Nutr.*, 14, 350-359.
- MOYANO, F.J., CARDENETE, G., DE LA HIGUERA, M. 1992. Nutritive value of diets containing a high percentage of vegetable proteins for trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Living Res.*, 5, 23-29.
- NELSON, D. & COX, M. 2005. Lehninger, Principles of Biochemistry, Fourth Edition. New York: W.H. Freeman and Company, p.89.
- NG, W.K. & HUNG, S.S.O. 1994. Amino acid composition of whole-body, egg and selected tissues of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), *Aquaculture*, 126, 329-339.
- NGANDZALI, B.O., ZHOU, F., XIONG, W., SHAO, Q.J., XU, J.Z. 2011. Effect of dietary replacement of fish meal by soybean protein concentrate on growth performance and phosphorus discharging of juvenile black sea bream, (*Acanthopagrus schlegelii*) *Aquacult. Nutr.*, 17, 526-535.
- NRC (National Research Council). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington (USA): The National Academies Press; 2011.

- OKAMOTO, M.H., TESSER, M.B., LOUZADA, L.R., SANTOS, R.A., SAMPAIO, L.A. 2009. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. *Ciência Rural*, 39, 866-870.
- PAKINGKING, R., MORI, K.I., BAUTISTA, N.B., JESUS-AYSON, E.G., REYES, O. 2011. Susceptibility of hatchery-reared snubnose pompano *Trachinotus blochii* to natural betanodavirus infection and their immune responses to the inactivated causative virus. *Aquaculture*, 311, 80-86.
- PEREIRA, T.G., & OLIVIA-TELES, A. 2003. Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Aquacul. Res.*, 34, 1111-1117.
- PEREIRA, T.G. & OLIVA-TELES, A. 2004. Evaluation of micronized lupin seed meal as an alternative protein source in diets for gilthead sea bream *Sparus aurata* L. juveniles. *Aquacul. Res.*, 35, 828-835.
- PETTERSON, D.S., & CROSBIE, G.B. 1990. Potential for lupins as food for humans. *Food Austrália*, 42, 266-268.
- PEZZATO, L.E., BARROS, M.M., FRACALOSSO, D.M., CYRINO, J.E.P. 2004. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.P., URBINATI, E.C., FRACALOSSO, D.M., CASTAGNOLLI, N. (Eds.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. *Soc. Bras. Aquic. Biol. Aquática*, 75-170.
- RIBEIRO, M.J.P. 2012. Concentrado proteico de soja em rações para tilápia-do-Nilo. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.
- RICHE, M. & WILLIAMS, T.N. 2011. Fish meal replacement with solvent-extracted soybean meal or soy protein isolate in a practical diet formulation for Florida pompano (*Trachinotus carolinus*, L.) reared in low salinity. *Aquacul. Nutr.*, 17, 368-379.
- RICHE, M. 2009. Evaluation of digestible energy and protein for growth and nitrogen retention in juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *J. World Aquac. Soc.*, 40, 45-57.
- ROBAINA, L., IZQUIERDO, M.S., MOYANO, F.J., SOCORRO, J., VERGARA, J.M. MONTERO, M., & FERNANDEZ- PALACIOS, H. 1995. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 130, 219-233.

- ROMANO, L., TESSER, M.B., SAMAPIO, L.A., ABREU, P.C. 2012. Yersiniose em *Trachinotus marginatus* (pampo). Diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 64, 909-915.
- ROSSI, W. & DAVIS, D.A. 2012. Replacement of fishmeal with poultry by-product meal in the diet of Florida pompano *Trachinotus carolinus* L. *Aquaculture*, 338-341, 160-166.
- SÁ, R., POUSÃO-FERREIRA, P., OLIVA-TELES, A. 2008. Dietary protein requirement of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquacult. Nutr.*, 14, 309-317.
- SAMPAIO, L.A., TESSER, M.B., BURKERT, D. 2003. Tolerância de juvenis do pampo *Trachinotus marginatus* (Teleostei, Carangidae) ao choque agudo de salinidade em laboratório. *Ciência Rural*, 33, 757-761.
- SANCHEZ-LOZANO, N.B., TOMÁS-VIDAL, A., MARTÍNEZ-LLORENS, S., NOGALES-MÉRIDA, S., ESPERT, J., MOÑINO, A., PLA, M., & JOVER, M. 2007. Growth and economic profit of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed sunflower meal. *Aquaculture*, 272, 528-534.
- SNELLGROVE, D.L., ALEXANDER, L.G., CENTRE, W., LANE, F., MOWBRAY, M., LE, L. 2011. Whole-body amino acid composition of adult fancy ranchu goldfish (*Carassius auratus*). *British J. Nutr.*, 106, 110-112.
- STATE, T. & FISHERIES, W. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014.
- STICKNEY, R.R. 2009. Aquaculture: and introductory text. 2nd ed. CABI, Wallingford, U.K. 320pp.
- STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K.D.; BAEVERFJORD, G., NIELSEN, B.G., ASGARD, T., SCOTT, T., DE LAPORTE, A. 2000. Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture*, 184, 115-132.
- TACON, A.G.J. 2004. Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective, *Aquatic Res., Cult. Develop.* 1, 3-14.
- TACON, A.G.J. & METIAN, M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture*, 285, 145-158.

- TATUM, W.M. 1972. Comparative growth, mortality and efficiency of pompano (*Trachinotus carolinus*) receiving a diet of ground industrial fish with those receiving a diet of trout chow. *J. World Aquacul. Soc.*, 3, 1-4.
- TATUM, W.M. 1973. Comparative growth of pompano (*Trachinotus carolinus*) in suspended cages receiving diets of a floating trout chow with those receiving a mixture of 50% trout chow and 50 % sinking ration. *J. World Aquacul. Soc.*, 4, 1-4.
- TUTMAN, P., GLAVIĆ, N., KOŽUL, V., SKARAMUCA, B., GLAMUZINA, B. 2004. Preliminary Information on Feeding and Growth of Pompano, *Trachinotus Ovatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces; Carangidae) in Captivity. *Aquacul. Internat.*, 12, 387-393.
- WANG, F., HAN, H., WANG, Y., MA, X. 2012. Growth, feed utilization and body composition of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* fed at different dietary protein and lipid levels. *Aquacul. Nutr.* doi: 10.1111/j.1365-2095.2012.00964.x
- WATANABE, T. 1988. Fish nutrition and Mariculture. The general aquaculture course. Kanagawa International Fisheries Trainig Center. JICA Newsl., 233p.
- WATANABE, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fish. Science*, 68, 242-252.
- WEIRICH, C.R. & RICHE, M. 2006. Acute tolerance of juvenile Florida pompano , *Trachinotus carolinus* L ., to ammonia and nitrite at various salinities. *Aquacul. Res.*, 36, 855-861.
- WILSON, R.P. & COWEY, C.B. 1985. Amino acid composition of whole-body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, 48, 373-376.
- WILSON, R.P. 2002. Amino acids and proteins. *In*: J.E. Halver (Ed.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, California, USA: p. 143-179.
- WRIGLEY, C. 2003. The lupin - the grain with no starch. *Cereal Foods World.*, 48, 30-31.
- XU, Q.Y., WANG, C.A., ZHAO, Z.G., LUO, L. 2012. Effects of replacement of fish meal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *J. Anim. Sci.*, 25, 1588-1594.
- YANG, S.D., LIOU, C.H., LIU, F.G. 2002. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 213, 363-372.

- YIĞIT, M., BULUT, M., ERGÜN, S., GÜROY, D., KARGA, M., KESBIÇ, O.S., YILMAZ, S., ACAR, Ü., GÜROY, B. 2012. Utilization of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *J. Fish. Sci.*, 6, 63-73.
- ZHANG, C., AI, Q. MAI, K. TAN, B. LI, H., ZHANG, L. 2008. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) *Aquaculture*, 283, 123-127.
- ZHANG, H., CHEN ,D., TIAN, Y., LIU, X., WANG, H., CHENG, C., HUANG, Z., HAN, C., WANG, J., WANG, L., XU, Z., WANG, X., JIANG, Y., JIANG, H., ZHENG, C., WANG, Z., FAN, N., FENG, E., FU, Y. 2010. Feed composition for *Trachinotus ovatus*, comprises steamed and domestic fish meal, fermented soybean meal, peanut meal, high gluten flour, blood powder, marine fish oil, monocalcium phosphate, mineral substance and vitamin. Patent Number(s): CN101869228-A
- ZHANG, Q., YU, H., TONG, T., TONG, W., DONG, L., XU, M. 2014. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus* and its disease resistance against *Vibrio vulnificus*. *Fish and Shellfish Immunol.*, 38, 7-14.

Whole-body and muscle amino acid composition of Plata pompano (*Trachinotus marginatus*) and prediction of dietary essential amino acids requirements

Composición de aminoácidos de la carcasa y del músculo del Pámpano (*Trachinotus marginatus*) y estimación de las necesidades por aminoácidos esenciales

Composição de aminoácidos da carcaça e do músculo do Pampo prateado (*Trachinotus marginatus*) e estimativa das necessidades por aminoácidos essenciais

Marcelo Borges Tesser¹, Oceanól, MSc, Dr; Eduardo Martins da Silva¹, Biól, MSc;
Luís A Sampaio², Oceanól, MSc, Dr.

¹Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia (IO),
Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande-RS, Brasil.

²Laboratório de Piscicultura Marinha e Estuarina, Instituto de Oceanografia (IO),
Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande-RS, Brasil.

Summary

Background: knowing the essential amino acid (EAA) requirement values is fundamental to formulate good quality and cost-effective fish feeds. However, such requirements have been established for few fish species. The estimation of amino acid requirements based on amino acid composition of fish is a fast and reliable alternative. **Objective:** to determine whole-body and muscle amino acid composition of Plata pompano (*Trachinotus marginatus*) and estimate its EAA requirements. **Methods:** EAA requirements were estimated using A/E ratios [(Individual EAA / Total EAA) * 1000]. **Results:** histidine, leucine, lysine and phenylalanine were present in higher concentrations in muscle tissue in comparison with the whole-body. On the other hand, arginine, isoleucine, methionine, tryptophan and valine concentration were not different between whole-body and muscle. A/E ratios for Plata pompano determined in the present study are similar to those reported in other fish species, although valine A/E ratios were slightly smaller. **Conclusion:** until dose-response experiments are conducted to precisely determine EAA requirements, the estimated EAA values using whole-body EAA -as proposed in this study- could be used to formulate diets for Plata pompano.

Key words: *A/E ratio, Carangidae, nutrition.*

Resumen

Antecedentes: conocer los requerimientos de aminoácidos esenciales (EAA) es fundamental para la formulación de raciones rentables y de buena calidad para peces. Sin embargo, dichos requerimientos se han establecido solo para unas pocas especies de peces. La determinación de las necesidades de aminoácidos basada en la composición de aminoácidos de los peces es un método alternativo rápido y viable. **Objetivo:** determinar la composición de aminoácidos del cuerpo completo y del músculo del Pámpano (*Trachinotus marginatus*) y estimar sus necesidades de EAA. **Métodos:** el requerimiento de aminoácidos esenciales se calculó utilizando el índice A/E [(Individual EAA/Total EAA) * 1000]. **Resultados:** la histidina, leucina, fenilalanina y lisina estaban en una mayor concentración en el músculo que en el cuerpo. Por otro lado, arginina, isoleucina, metionina, triptófano y valina no mostraron ninguna diferencia significativa entre la composición del músculo y el cuerpo. Los valores de A/E para Pámpano determinados en este estudio son similares a los reportados para otras especies de peces, pero no los de valina, que fue levemente menor. **Conclusiones:**

hasta que no sean realizados experimentos de dosis-respuesta, el cálculo de los requerimientos de aminoácidos esenciales a partir de la concentración de aminoácidos del cuerpo - como se propone en este estudio - puede ser utilizado en la formulación de dietas para pámpano.

Palabras clave: *Carangidae, nutrición, razón A/E.*

Resumo

Antecedentes: estimar as necessidades por aminoácidos essenciais (AAE) é importante para formular dietas de boa qualidade e com bom custo-benefício. No entanto, poucas espécies de peixes possuem suas necessidades por (AAE) estabelecidas. A determinação das necessidades por (AAE) baseada na composição de aminoácidos do peixe é uma alternativa rápida e viável. **Objetivo:** determinar a composição de aminoácidos da carcaça e do músculo do Pampo prateado (*Trachinotus marginatus*) e estimar suas necessidades por (AAE). **Métodos:** as necessidades por AAE foi estimada usando o índice A/E [(AAE individual/AAE total) * 1000]. **Resultados:** histidina, leucina, lisina e fenilalanina estavam em maior concentração no músculo do que na carcaça. Por outro lado, arginina, isoleucina, metionina, triptofano e valina não apresentaram diferenças significativas entre a composição da carcaça e do músculo. O índice A/E determinado no presente estudo para o Pampo prateado é similar ao reportado para outras espécies de peixe, entretanto o valor do índice A/E para a valina foi ligeiramente menor. **Conclusão:** até que experimentos dose resposta sejam realizados para determinar com exatidão as necessidades por aminoácidos essenciais, os valores estimados para as necessidades por aminoácidos essenciais usando a composição da carcaça como proposto neste estudo pode ser usada na formulação de dietas para o Pampo prateado.

Palavras chave: *Carangidae, nutrição, razão A/E.*

Introduction

Although great research efforts have been conducted to establish protein requirements for different species, fish and other organisms do not have an actual protein requirement, but do require a well-balanced mixture of essential (EAA) and non-essential amino acids (NEAA) (Wilson, 2002). A diet providing the required EAA maximizes growth and feed utilization (Zhang *et al.*, 2008), reducing the need for crude protein (Ng and Hung, 1994).

A requirement estimate of EAA is an important input in the formulation of cost-effective, good-quality feeds for fish. According to the NRC (2011) EAA requirements have been established for few fish species. Generally, EAA requirements have been experimentally estimated by feeding diets containing graded levels of the particular amino acid to be examined (Ahmed, 2012; Khan, 2012). This methodology is considered costly and time consuming. On the other hand, measurement of whole-body EAA composition has been used to estimate dietary EAA requirements for several fish species (Meyer and Fracalossi, 2005; Bicudo and Cyrino, 2009; Hossain *et al.*, 2011), being an inexpensive and rapid alternative to dose–response studies. Arai (1981) introduced the concept of A/E ratios $[(\text{EAA} / \text{total EAA}) * 1000]$ when formulating diets for coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). In his study, fish receiving diets supplemented with amino acids to simulate whole-body A/E ratio had improved growth and feed efficiency. Wilson and Poe (1985) found a strong correlation ($r = 0.96$) between body amino acid composition and EAA requirements of *Ictalurus punctatus*. Moreover, Wilson (2002) reported a good correlation between EAA requirements determined by the traditional method with those calculated from whole-body amino acid concentration for channel catfish.

Some *Trachinotus* species are considered appropriate for aquaculture in virtue of their quick adaptation to captivity, good tolerance to extreme environmental conditions and rapid growth (Jory *et al.*, 1985). Plata pompano (*Trachinotus marginatus*) is native to the southern Atlantic Ocean (Menezes and Figueiredo, 1980). Several investigations are underway with this species due to a great interest in its commercial production (Sampaio *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2008; Kütter *et al.*, 2012). However, to the best of our knowledge, essential amino acid requirements of Plata pompano have not been reported. Thus, this study aimed to determine muscle and whole-body EAA composition of Plata pompano, and, accordingly, estimate its EAA requirements.

Material and Methods

The Ethics Committee for Animal Research of Universidade Federal do Rio Grande, Brazil (23116.001423/2014-59) approved this study.

Plata pompano juveniles were captured using a beach seine net (8 mm mesh) at Rio Grande – Brazil (Southwestern Atlantic Coast, 32°17'S - 52°10'W) and stocked at a density of 0.1 juveniles/L in five 300 L tanks, where they were acclimated for two weeks prior to sampling. Fish were reared with filtered seawater (35 ppt) kept at 25 °C,

with a water exchange rate of 100% per day. Photoperiod was adjusted to 12 h dark and 12 h light. Animals were hand-fed four times per day with a commercial diet (NRD – 0.8/1.2, INVE – Salt Lake City, UT, USA) to apparent satiety.

A total of 30 fish (25.03 ± 7.29 g) were used for amino acid determinations. Prior to sampling, fish were fasted for 48 h to clean the digestive tract. Fish were euthanized with benzocaine (500 ppm). Pools from five fish were considered an analytical sample. Three samples of whole-body intact fish and three samples of muscle tissue (whole fish fillet) were stored at -80 °C until protein and amino acid analysis. All samples were dried at 105 °C for 5 hours, ground and kept frozen until analysis. Muscle and whole-body protein were assayed according to the method by Hagen and Augustin (1989). Amino acids were dosed according to White *et al.* (1986).

The concentration of each specific amino acid was expressed relative to the total amino acid content of the sample. The A/E ratios of EAA composition for whole-body and muscle were calculated using the formula suggested by Arai, (1981): $A/E \text{ ratio} = [(\text{Individual EAA}/\text{Total EAA}) * 1000]$. The EAA requirement profile of Plata pompano was estimated based on a known lysine requirement of 4.8 g per 100 g protein for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Tibaldi and Lanari, 1991) using the formula suggested by Kaushik, (1998): $\text{EAA requirement} = (\text{determined requirement for lysine} * A/E \text{ ratio of individual amino acid}) / A/E \text{ ratio for lysine}$. A similar procedure was conducted by Hossain *et al.* (2011) to estimate EAA requirements of silver pomfret (*Pampus argenteus*) using the lysine requirement of Asian sea bass (*Lates calcarifer*).

Data were compared with the reported EAA values and A/E ratios for other carnivorous marine species. Whole-body and muscle amino acid composition were compared by paired-comparison t-test at 5 % significance level. Plata pompano A/E ratios were subjected to linear regression analysis to determine their relationships with A/E ratios for other carnivorous marine species

Results

Whole-body and muscle amino acid composition of *T. marginatus* is presented in Table 1. Hystidine, leucine, lysine and threonine were present in higher concentrations ($p < 0.05$) in the muscle tissue than in the whole-body. On the other hand, arginine, isoleucine, methionine, phenylalanine, tryptophan and valine did not present significant differences ($p > 0.05$) between whole-body and muscle composition.

Table 1. Whole-body and muscle amino acid (aa) composition (g in 100 g protein) of *Trachinotus marginatus* and other carnivorous fish.

	<i>Pleuronectes ferruginea</i> ^A	<i>Hippoglossus hippoglossus</i> ^A	<i>Paralichthys olivaceus</i> ^A	<i>Salmo salar</i> ^B	Other teleosts ^C	<i>Trachinotus marginatus</i> *	
						Whole-body	Muscle
EAA							
Arg	6.79±0.03	6.85±0.02	6.75±0.03	6.61±0.03	6.16±0.98	6.63±0.36	6.26±0.11
His	2.45±0.02	2.88±0.02	2.36±0.01	3.02±0.08	2.47±0.63	2.13±0.10b	2.39±0.05 ^a
Ile	4.11±0.11	4.36±0.03	3.91±0.02	4.41±0.03	4.29±0.92	2.94±0.26	3.31±0.23
Leu	7.57±0.04	7.82±0.03	7.59±0.03	7.72±0.03	7.20±0.70	7.06±0.38b	8.31±0.08 ^a
Lys	8.56±0.04	8.85±0.04	9.15±0.04	9.28±0.30	7.38±0.89	7.93±0.45b	9.87±0.23 ^a
Met	2.28±0.08	2.83±0.05	2.92±0.00	1.83±0.03	2.75±0.45	3.02±0.43	3.09±0.05
Phe	3.98±0.01	4.63±0.02	4.55±0.02	4.36±0.03	4.10±0.47	3.59±0.26	3.83±0.19
Thr	4.43±0.05	4.62±0.01	4.49±0.02	4.95±0.02	4.39±0.54	4.00±0.03b	4.24±0.03 ^a
Trp	1.32±0.03	1.07±0.03	1.06±0.01	0.93±0.01	ND	1.04±0.19	1.15±0.17
Val	5.63±0.33	5.24±0.10	4.57±0.01	5.09±0.02	4.73±0.53	3.43±0.40	3.71±0.18
NEAA							
Ala	6.42±0.03	6.00±0.02	6.39 ± 0.02	6.52±0.05	6.17±0.82	6.77± 0.25	6.30±0.24
Asp	9.87± 0.09	10.02±0.02	10.24 ± 0.02	9.92±0.11	9.19±0.85	9.04±0.19	10.19±0.07
Cys	1.22±0.04	0.87±0.02	0.97 ± 0.02	0.95±0.05	1.00±0.30	0.97±0.07	0.43±0.06
Glu	14.58±0.08	14.42±0.03	15.18 ± 0.03	14.31±0.01	14.29±2.49	13.28±0.45	14.28±0.11
Gly	8.40±0.14	6.65±0.06	6.54 ± 0.11	7.41±0.17	6.81±1.69	11.07±1.15	7.53±0.09
Pro	4.58±0.08	4.68±0.04	4.73 ± 0.04	4.64±0.01	4.37±1.13	6.98±0.78	5.34±0.19

Ser	4.62±0.07	4.48±0.03	4.69 ± 0.02	4.61±0.03	4.15±0.47	4.73±0.14	4.50±0.04
Tau	0.65±0.04	0.90±0.03	0.58 ± 0.06	ND	ND	2.45±0.06	2.08±0.21
Tyr	2.53±0.08	2.82±0.03	3.31 ± 0.02	3.50±0.01	3.02±0.62	2.99±0.12	3.21±0.02

*Data for individual amino acids are expressed as mean ± SD, n=3,. (g / 100 g protein). ^AData obtained from whole-body tissue (Kim and Lall, 2000); ^BData obtained from whole-body tissue (Wilson and Cowey, 1985); ^CMean data from several teleosts compiled by Mambrini and Kaushik, (1995). ND: not determined.

The A/E ratios for whole-body and muscle of *Plata pompano* determined in the present study are similar to those reported for other marine fish species, although A/E values for valine were slightly smaller (Table 2). A high correlation was observed between whole-body A/E ratios of *Plata pompano* with A/E ratios for yellowtail flounder ($y = 14.945 + 0.8508 * x$, $r^2 = 0.93$, $p < 0.001$), halibut ($y = 12.2677 + 0.877 * x$, $r^2 = 0.93$, $p < 0.001$) and Japanese flounder ($y = 3.1809 + 0.9687 * x$, $r^2 = 0.96$, $p < 0.001$). The estimated amino acid requirements for *Plata pompano* are presented in Table 3.

Table 2. A/E ratios of whole-body and muscle tissue for *Trachinotus marginatus* and other carnivorous fish species.

	<i>Pleuronectes</i>	<i>Hippoglossus</i>	<i>Paralichthys</i>	<i>Salmo</i>	<i>Trachinotus marginatus</i>	
	<i>ferruginea</i> ^A	<i>hippoglossus</i> ^A	<i>olivaceus</i> ^A	<i>salar</i> ^B	Whole-body	Muscle tissue
Arg	133.4	129.5	130.7	125.5	144.95 *	125.73
His	48.2	54.5	45.7	57.3	46.57	48.00
Ile	80.8	82.5	75.6	83.8	64.28	66.48
Leu	148.8	148.0	147.1	146.6	154.35 *	166.9
Lys	168.3	167.6	177.6	176.2	173.37 *	198.23
Met + Cys ^c	69.0	70.1	75.3	52.8	84.23 *	70.69
Phe + Tyr ^d	128.0	141.0	152.4	149.3	144.07	141.1
Thr	87.1	87.4	87.0	94.0	87.45	85.16
Trp	26.0	20.2	20.6	17.6	22.74	23.10
Val	110.6	99.2	88.5	96.7	74.99	74.51

*Significant difference of A/E ratio between whole-body and muscle tissue. ^AKim and Lall (2000) whole-body ratio; ^BCalculated from Wilson and Cowey (1985); ^cMethionine + cystine, ^dPhenylalanine + tyrosine.

Table 3. Dietary amino acid requirement estimates (g/100g protein) for selected species and of *Trachinotus marginatus*.

EAA	<i>Trachinotus marginatus</i> ^A		<i>Paralichthys</i>	<i>Pagrus</i>	<i>Salmo</i>
	Whole-body	Muscle tissue	<i>olivaceus</i> ^C	<i>major</i> ^C	<i>salar</i> ^D
Arg	4.01	3.04	3.4	3.5	4.0
His	1.29	1.16	1.3	1.4	1.5
Ile	1.78	1.61	2.0	2.2	ND
Leu	4.27	4.04	3.9	4.2	ND
Lys ^B	4.80	4.80	4.6	4.4	5.3
Met + Cys	2.33	1.71	1.9	2.2	3.4
Phe + Tyr	3.99	3.42	3.8	4.1	5.6
Thr	2.42	2.06	2.3	1.8	2.7
Trp	0.63	0.56	0.5	0.6	0.7
Val	2.08	1.80	2.5	2.5	3.1

^AAmino acid requirement estimates through the methodology proposed by Kaushik (1998). ^BAttributed lysine requirement (Tibaldi and Lanari, 1991). ^CDietary amino acid requirement estimates based on lysine requirement and whole-body amino acid composition (Forster and Ogata, 1998). ^DDietary amino acid requirement estimates in a growth experiment for lysine and calculated requirement of other AAE for whole-body (Rollin *et al.*, 2003). ND: not determined.

Discussion

The differences found in whole-body and muscle amino acid composition were also reported for common carp (*Cyprinus carpio*) and lambari (*Astyanax altiparanae*) (Buchtová *et al.*, 2007; Abimorad and Castellani, 2011). Whole-body and muscle amino acid contents of Plata pompano were compared to values reported to others fish (Table 1) and the variations detected among amino acid content of Plata pompano and yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*), halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) were considered small. Wilson and Cowey (1985) have already shown no differences in whole-body amino acid composition among salmon species, and Mambrini and Kaushik (1995) also suggested that whole-body amino acid composition should not be significantly different for most teleosts.

A/E ratios for Plata pompano are similar to those reported for other fish species.

Moreover, a high correlation between whole-body A/E ratios of *Plata pompano* with the A/E ratios for yellowtail flounder, halibut, and Japanese flounder was observed, showing a preserved amino acid profile between salt water species. A significant correlation between whole-body A/E ratios of different species was also determined by Gatlin (1987) and Hossain *et al.* (2011). According to Wilson and Cowey (1985), the occurrence of similar A/E ratio among different fish species suggests that amino acid requirements expressed as percentage of dietary protein are similar, and this may also apply for the species shown in Table 2.

Since lysine is normally the first limiting amino acid in most feedstuffs, the requirements for the other indispensable amino acids are expressed in relation to the lysine requirement based on the ideal protein concept (NRC, 2011). In the present study, *Plata pompano* EAA requirement profiles were estimated using the lysine requirement for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) determined through a dose-response experiment (Tibaldi and Lanari, 1991), since no lysine requirement has been established for *Plata pompano*. The estimated amino acid requirements for *Plata pompano* are presented in Table 3 and a considerable homogeneity in the amino acid requirement estimated from whole-body for *Plata pompano* and Japanese flounder, red sea bream, and Atlantic salmon were encountered. In agreement with this study, Meyer and Fracalossi (2005) found similar amino acid requirements among omnivorous freshwater fish.

According to the NRC (2011) most fish species fed high quality diets deposit between 25-55% of the total amino acid intake. Accordingly, protein deposition is one of the determinants of amino acid requirement by fish. Although this concept does not account for the amino acids used for maintenance of metabolic demands (Gurure *et al.*, 2007), the body amino acid composition might be a reasonable starting point when attempting to define dietary EAA requirements. Furthermore, several authors have demonstrated that diets formulated on amino acid patterns similar to body tissues result in improved growth and feed efficiency (Arai 1981; Brown 1995; Small and Soares Jr, 1998). In conclusion, until dose-response experiments are conducted to determine EAA requirements more precisely, the estimated EAA values using whole-body or muscle EAA, as proposed in this study, could be used when formulating diets for *Plata pompano*.

Acknowledgments

E.M. Silva is a Graduate student in Aquaculture at FURG and is supported by the Brazilian Ministry of Fisheries and Aquaculture (MPA) and CAPES. L.A. Sampaio is a research fellow at CNPq (# 308013/ 2009-3).

References

- Abimorad EG, Castellani D. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-dorabo amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. *Bol Inst Pesca* 2011; 37:31-38.
- Ahmed I. Dietary amino acid L-tryptophan requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), estimated by growth and haemato-biochemical parameters. *Fish Physiol Biochem* 2012; 38:1195-1209.
- Arai S. A purified test diet for Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fry. *B Jpn Soc Sci Fish* 1981; 47:547-550.
- Bicudo JAA, Cyrino JEP. Estimating Amino Acid Requirement of Brazilian Freshwater Fish from Muscle Amino Acid Profile. *J World Aquacult Soc* 2009; 40:818-823.
- Brown PB. Using whole-body amino acid patterns and quantitative requirements to rapidly develop diets for new species such as striped bass (*Morone saxatilis*). *J Appl Ichthyol* 1995; 11:342-346.
- Buchtová H, Svobodov Z, Kocour M, Velsek J. Amino acid composition of edible parts of three year-old experimental scaly crossbreds of common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758). *Aquac Res* 2007; 38:625-634.
- Costa LDF, Miranda-Filho KC, Severo MP, Sampaio LA. Tolerance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* to acute ammonia and nitrite exposure at different salinity levels. *Aquaculture* 2008; 285:270-272.
- Forster I, Ogata HY. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* 1998; 161:131-142.
- Gatlin DM. Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the goldfish, golden shiner and fathead minnows. *Aquaculture* 1987; 60:223-229.
- Gurure R, Atkinson J, Moccia RD. Amino acid composition of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) and the prediction of dietary requirements for essential amino acids. *Aquacult Nutr* 2007; 13:266-272.

- Hagen SR, Frost B, Augustin J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino acids in food. *J Assoc Off Analyt Chem* 1989; 72:912-916.
- Hossain MA, Almatar SM, James CM. Whole-body and egg amino acid composition of silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen, 1788) and prediction of dietary requirements for essential amino acids. *J Appl Ichthyol* 2011; 27:1067-1071.
- Jory D, Iversen E, Lewis R. Culture of the fishes of the genus *Trachinotus* (Carangidae) in the Western Atlantic. *J World Maricult Soc* 1985; 16:87-94.
- Kaushik SJ. Whole-body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. *Aquat Living Resour* 1998; 11:355-358.
- Khan FMA. Effects of dietary arginine levels on growth, feed conversion, protein productive value and carcass composition of stinging catfish fingerling *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Aquacult Int* 2012; 20:935-950.
- Kim JD, Lall SP. Amino acid composition of whole-body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 2000; 187:367-373.
- Kütter MT, Monserrat JM, Tesser MB. Effects of dietary α -lipoic acid on growth, body composition and antioxidant status in the Plata pompano *Trachinotus marginatus* (Pisces, Carangidae). *Aquaculture* 2012; 368-369:28-35.
- Mambrini M, Kaushik J. Indispensable amino acid requirements of fish — correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. *J of Appl Ichthyol* 1995; 11:240-247.
- Menezes NA, Figueiredo JL. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil IV. Teleostei (3). Museu de Zoologia-USP, São Paulo 1980; 104 p.
- Meyer G, Fracalossi DM. Estimation of jundiá (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirements based on muscle amino acid composition. *Sci Agr* 2005; 62:401-405.
- Ng WK, Hung SSO. Amino acid composition of whole-body, egg and selected tissues of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), *Aquaculture* 1994; 126:329-339.
- NRC (National Research Council). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington (USA): The National Academies Press; 2011.

- Rollin X, Mambrini M, Abbaudi T, Larondelle Y, Kaushik J. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *Brit J Nutr* 2003; 90:865-876.
- Small BC, Soares JH. Estimating the quantitative essential amino acid requirements of striped bass *Morone saxatilis*, using fillet A/E ratios. *Aquacult Nutr* 1998; 4:225-232.
- Sampaio LA, Tesser MB, Burkert D. Tolerância de juvenis do pampo *Trachinotus marginatus* (Teleostei, Carangidae) ao choque agudo de salinidade em laboratório. *Cienc Rural* 2003; 33:757-761.
- Tibaldi E, Lanari D. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed semipurified diets. *Aquaculture* 1991; 95:297-304.
- White JA, Hart RJ, Fry JC. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *J Autom Chem* 1986; 8:170-177.
- Wilson RP, Cowey CB. Amino acid composition of whole-body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture* 1985; 48:373-376.
- Wilson RP, Poe WE. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp Biochem Phys B* 1985; 80: 385-388.
- Wilson RP. Amino acids and proteins. In: Halver JE, editor. *Fish Nutrition*. San Diego (California): Academic Press; 2002. p.143-179.
- Zhang C, Ai Q, Mai K, Tan B, Li H, Zhang L. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Aquaculture* 2008; 283:123-127.

**Crescimento e metabolismo do nitrogênio em juvenis de *Trachinotus marginatus*
alimentados com diferentes níveis proteicos**
**[*Growth and nitrogenous metabolism of juveniles Trachinotus marginatus feeding
with differently protein levels*]**

Eduardo Martins da Silva^{(1)*}, José María Monserrat⁽²⁾, Luís André Sampaio⁽³⁾ e Marcelo Borges Tesser⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Rua do Hotel, nº 2, CEP 96210-030, Rio Grande, RS, Brasil. ⁽²⁾Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Ciências Biológicas (ICB). ⁽³⁾Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha. E-mail: *edu.aquicultura@gmail.com, josemmonserrat@gmail.com, sampaio@mikrus.com.br, mbtesser@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e alterações no metabolismo do nitrogênio, além da composição do fígado e do músculo de juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* alimentados com 43, 54 ou 64% de proteína bruta (PB43, PB54 e PB64, respectivamente). Grupos de 10 juvenis ($1,47 \pm 0,14$ g) foram estocados em nove tanques de 50 L em sistema de recirculação de água marinha durante 55 dias e alimentados quatro vezes ao dia com as rações pré-definidas. O ganho em peso, a taxa de crescimento específico e a conversão alimentar não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Contudo, o acréscimo de proteína consumida aumentou o índice hepatossomático e a taxa de excreção de amônia pós-prandial, bem como diminuiu a eficiência proteica. Os peixes alimentados com a dieta PB43 apresentaram menor concentração da transaminase glutâmico oxalacética hepática além de menor concentração de triglicerídeos no músculo e fígado ($p < 0,05$). A composição da carcaça, o teor de glicogênio e de proteínas totais para músculo e fígado não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$), excetuando o maior teor de lipídios da carcaça no tratamento PB43. Concluímos que a melhor utilização da proteína por juvenis de pampo é observada quando eles são alimentados com uma dieta contendo 43% de proteína.

Palavras-chaves: amônia, proteína, transaminases, *Trachinotus marginatus*

ABSTRACT

*The experiment aimed at to evaluate the growth, the nitrogen metabolism and liver and muscle composition of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* fed at different protein levels (PB43, PB54, PB64). Groups of 10 juveniles (1.47 ± 0.14 g) were stocked at nine tanks with 50 L in a marine recirculating aquaculture system during 55 days. Fish were fed four times a day. The weight gain, specific growth rate and feed conversion rate did not present significant differences ($p > 0.05$). However, the increase in protein consumption augmented the hepatosomatic index, the pos prandial ammonia excretion rate and reduced the protein efficiency rate. Fish fed with PB43 presented lower hepatic glutamic oxaloacetic transaminase and lower concentration of triglycerides in muscle and liver ($p < 0.05$). Carcass composition, glycogen and muscle and liver protein content did not present significant differences ($p > 0.05$), excepting the lipid content in fish carcass fed with PB43. It is concluded that the better protein utilization in juvenile pompano is observed when they are fed with 43% protein.*

*Keywords: ammonia, protein, transaminases, *Trachinotus marginatus**

INTRODUÇÃO

A proteína é um dos nutrientes mais importantes, pois é necessária para o crescimento, a manutenção e a reprodução dos peixes, podendo ser utilizada como importante fonte energética (Martínez-Pálacios *et al.*, 2007). A inclusão de níveis adequados de proteína na dieta assegura alta eficiência proteica pelos peixes (Carvalho *et al.*, 2010), o que é importante, pois esse é o constituinte mais caro nas formulações de dietas para peixes (Siddiqui e Khan, 2009). Dessa forma, a inclusão de níveis de proteína adequados promove melhor crescimento dos peixes com menor custo.

Por outro lado, quando a proteína é ofertada em excesso, seus aminoácidos podem ser transaminados e/ou desaminados e nesse caso o esqueleto carbônico resultante é desviado para rotas metabólicas energéticas (Melo *et al.*, 2006), resultando em um aumento da excreção de nitrogênio, principalmente na forma de amônia não ionizada (Sá *et al.*, 2008). O processo denominado de transaminação que ocorre principalmente no fígado, embora também seja observado no tecido muscular (Carter e Houlihan, 2001), tem como principais enzimas a transaminase glutâmico pirúvica (TGP) e a transaminase glutâmico oxalacética (TGO) (Nelson e Cox, 2002) e provoca um grande acúmulo de glutamato no fígado que é usado na gliconeogênese, ou entra no ciclo de Krebs (Das, 2002).

Para juvenis de *Sparus aurata* alimentados com rações onde a proteína foi substituída por carboidratos, houve diminuição da concentração da TGP conforme o teor de proteína da dieta foi reduzido, indicando uma relação direta dessa concentração enzimática com o conteúdo de proteína oferecido aos peixes. Entretanto, a concentração da enzima TGO não mostrou qualquer alteração frente à modificação do teor proteico da dieta ofertada (Fernández *et al.*, 2007). Em contraste, Cho e Heo (2011) demonstraram que a atividade da TGP não foi alterada em *Paralichthys olivaceus* alimentados com 50, 55 ou 60% de proteína bruta. Esses dados mostram que a relação entre a atividade das enzimas chave do catabolismo de aminoácidos com a concentração de proteína na ração consumida não é bem estabelecida e tampouco a resposta enzimática segue um padrão (Peres e Olivia-Teles, 2007), embora essa relação seja utilizada como ferramenta para avaliar o metabolismo proteico do animal (Melo *et al.*, 2006).

Espécies do gênero *Trachinotus* (Carangidae) são consideradas apropriadas para aquicultura por apresentar rápida adaptação ao cativeiro, boa tolerância às condições ambientais extremas e crescimento rápido (Jory *et al.*, 1985; Craig, 2000). O pampo,

Trachinotus marginatus (Cuvier 1832), tem distribuição do Rio de Janeiro no Brasil, até o Norte da Argentina (Fischer et al., 2004). Os juvenis são comuns na zona de arrebenção do litoral do Rio Grande do Sul (Lima e Vieira, 2009). A espécie é considerada eurialina (Sampaio et al., 2003), com maior tolerância à amônia e nitrito em salinidade 10‰ (Costa et al., 2008). Porém, mais informações a respeito do manejo de criação do pampo são necessárias, principalmente no que se refere ao manejo alimentar da espécie. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes níveis proteicos sobre o crescimento, composição corporal e a taxa de excreção de amônia além de determinar as concentrações de triglicerídeos, colesterol e glicogênio, e as concentrações enzimáticas da TGP e da TGO em fígado e músculo de juvenis de pampo *T. marginatus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os juvenis de pampo foram coletados durante o verão na zona de arrebenção na praia do Cassino (32° 04'54.00"S; 52° 09'48.00" W), Rio Grande – RS - Brasil, por meio de rede de arrasto e transportados imediatamente à Estação Marinha de Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande – FURG (Autorização para atividades com finalidade científica, nº 31890-2; Ministério do Meio Ambiente, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO).

Os peixes passaram por 10 dias de aclimatação as condições experimentais, neste período os peixes foram alimentados com ração comercial quatro vezes ao dia até a saciedade aparente. Banhos profiláticos em formol (50 ppm) durante uma hora por três dias seguidos. Posteriormente, os peixes, com peso médio de $1,47 \pm 0,14$ g, foram estocados aleatoriamente em 9 tanques de 50 L (3 tanques para cada dieta) na densidade de 10 peixes por tanque. Os tanques estavam conectados a um sistema de recirculação de água dotado de biofiltro, esterilizador ultravioleta e “skimmer”.

Três dietas isoenergéticas semi-purificadas foram formuladas e analisadas de acordo com o método proposto pela AOAC (1984) (Tab. 1). Os ingredientes secos foram homogeneizados previamente à mistura da água e do óleo de peixe. A água foi aquecida à 40°C e adicionada na proporção de 30% (p/v) à mistura seca para dissolver a gelatina e melhorar a consistência da massa a ser peletizada. Posteriormente à peletização, as dietas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C e armazenada à -20°C.

Tabela 1. Ingredientes e composição proximal de dietas testadas na alimentação de juvenis do pampo prateado (*Trachinotus marginatus*) contendo 43, 54 e 64 % de proteína bruta. Valores em termos de matéria seca.

Ingredientes (g Kg ⁻¹)	Dieta		
	PB43	PB54	PB64
Farinha peixe	50	50	50
Caseína	350	440	530
Gelatina	80	110	140
Dextrina	300	180	60
Óleo de Peixe	100	100	100
Celulose	89	89	89
Mist. Mineral e vit.	10	10	10
vit. C	1	1	1
Carboximetilcelulose	20	20	20
Total	1000	1000	1000
Análise proximal (g Kg ⁻¹ matéria seca)			
Proteína bruta analisada	430,9	541,3	642,2
Extrato etéreo	87	100,5	104,6
Extrato não nitrogenado	389,6	263,9	160,5
Fibra bruta	71,4	70,1	65,1
Cinzas	21,8	24,2	27,5
Umidade	80,6	57	57,5
Energia bruta (KJ g ⁻¹)	18,74	19,17	19,59
PB/EB (g KJ ⁻¹)	23	28,23	32,78

Os animais foram alimentados quatro vezes por dia (09:00, 12:00, 15:00 e 18:00h) até a saciedade aparente por 55 dias com suas respectivas dietas. Os parâmetros de qualidade de água foram mensurados em todos os tanques, sendo apresentados como um único valor de média \pm desvio padrão, uma vez que não diferem estatisticamente entre os tratamentos. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos diariamente por meio de oxímetro digital (YSI 550, Yellow Springs, OH, USA). A salinidade foi mensurada por meio de refratômetro (Atago, modelo 103, Tóquio, Japão). A alcalinidade e a concentração de amônia foram mensuradas duas vezes por semana de acordo com a metodologia de APHA (2005) e Solorzano (1969) respectivamente.

A taxa de excreção de amônia foi determinada ao final do experimento de crescimento pelo método proposto por Carvalho et al. (2010) com adaptações. Para tanto, todos os peixes de cada unidade experimental foram submetidos à jejum de 48 horas para esvaziar o trato digestório. Passado o período de jejum, foi ofertado 1,5 g da respectiva ração à cada tanque. Após o processo de alimentação, os peixes de cada unidade experimental foram transferidos para novos tanques de 30 L, onde permaneceram durante todo período de coleta de água. A água dos tanques estava a mesma temperatura e salinidade do sistema experimental original. A partir desse momento foi realizada uma coleta de água inicial, e a cada hora até 6 h após a alimentação. A amônia total foi determinada de acordo com Solorzano (1969). A taxa de excreção de amônia foi calculada pela diferença entre a concentração de amônia total na água antes da alimentação e após a alimentação à cada hora por 6 horas. A cada hora foram tomadas amostras de água de cada um dos tanques, tendo assim três réplicas de cada tratamento por hora. Este cálculo foi feito a partir da seguinte fórmula:

Taxa de excreção de amônia pós-prandial

= [(concentração final de AT – concentração inicial de AT)] x volume de água (L) / (biomassa do tanque (g) X tempo transcorrido (H))

Onde AT, é a concentração de amônia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4\text{-N}$ mg L⁻¹) na água.

Ao término da determinação da taxa de excreção pós prandial, foi realizada a biometria final e coleta dos tecidos. Todos os peixes foram anestesiados em benzocaína (50 ppm) e mortos por secção medular. O peso e o comprimento foram tomados por meio de balança analítica (Marte, BL-3200H, São Paulo, Brasil) e ictiômetro, respectivamente.

O desempenho zootécnico dos juvenis foi avaliado usando os seguintes índices:

Ganho em peso (GP)

= peso final – peso inicial

Taxa crescimento específico (TCE)

= $[(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{n}^\circ \text{ dias transcorridos}] \times 100$

Conversão alimentar (CA)

= peso seco de alimento consumido (g) / (biomassa final – biomassa inicial (g))

Eficiência proteica (EP)

= ganho de peso (g) / consumo de proteína (g)

Retenção proteica (RP)

= [(biomassa final X teor de proteína final da carcaça) – (biomassa inicial X teor de proteína inicial da carcaça) / consumo de proteína (g)] X 100

Consumo de Proteína

= Total de alimento consumido (g) X conteúdo de proteína da dieta (g)

Retenção lipídica (RL)

= [(biomassa final X teor de lipídios final da carcaça) – (biomassa inicial X teor de lipídios inicial da carcaça) / consumo de lipídios (g)] X 100

Consumo de Alimento (CA)

= 100 X [média de consumo diário (g) / (biomassa final (g) + biomassa inicial (g)) / 2]

Índice hepatossomático (IHS)

= 100 X (peso do fígado (g) / peso corporal (g))

Índice Viscerosomático (IVS)

= 100 X (peso das vísceras (g) / peso corporal (g))

Após a eutanásia de todos os peixes, as amostras de fígado e de músculo foram imediatamente retiradas e congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em ultra freezer (-80° C) até a realização das determinações bioquímicas. Todos os fígados e vísceras foram pesados para cálculo do IHS e IVS. A umidade, a proteína bruta, o extrato etéreo e o teor de cinzas das carcaças foram determinados por métodos padrões da AOAC (1995).

O extrato produzido para determinação do teor de triglicerídeos totais (TG), colesterol total (COL) e glicogênio (GG), foi obtido por meio de digestão ácida em banho de ultrassom (Laiz-Carrión et al., 2012). Os extratos foram então, centrifugados a 13.000 x g por 30 minutos a 4 °C e o sobrenadante congelado em ultra freezer (-80° C). O conteúdo (mg g⁻¹ de tecido úmido) de TG, COL e GG do fígado e do músculo foi determinado em três amostras de cada tanque, totalizando nove repetições para cada tratamento. As leituras foram feitas por meio de espectrofotômetro (Biotek, LX808, Winooski, Estados Unidos) em 490 nm, usando os kits comerciais Triglicérides Enzimático Líquido, Colesterol Enzimático Líquido e Glicose Enzimática Líquida, (Doles, Goiânia – GO, Brasil), respectivamente. A concentração de GG foi calculada com base na diferença entre a concentração de glicose no extrato bruto e a concentração de glicose no extrato digerido com a enzima amiloglicosidase de *Aspergillus niger*, conforme protocolo de Nery e Santos (1993).

Para a determinação da concentração de proteínas totais e das transaminases (TGP e TGO), outras três amostras de cada tanque (totalizando nove repetições para cada tratamento) de fígado e de músculo foram homogeneizados (1:5 P/V) em tampão Tris-HCl (100 mM, pH 7,75) com EDTA (2 mM) e Mg^{2+} (5 mM) (Amado *et al.*, 2011). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 20 minutos a 4 °C. O sobrenadante desta centrifugação foi armazenado em ultra freezer (-80 °C). O conteúdo de proteínas totais do fígado e do músculo foi determinado para todos os extratos obtidos em fluorímetro (Perkin Elmer, Victor 2, Perkin Elmer, Massachusetts, Estados Unidos) em 550nm, usando kit comercial, Proteínas Totais (Doles, Goiânia – GO, Brasil), com base em Biureto. O conteúdo de proteínas totais foi expresso em mg de proteína/g de tecido úmido. A determinação da concentração de TGO e TGP no fígado e no músculo foi realizada em todos os extratos obtidos em espectrofotômetro (Biotek, LX808 Winooski, Estados Unidos) em 490 nm com kit comercial, Transaminases (Doles, Goiânia – GO, Brasil).

Os dados foram analisados quanto à homogeneidade e normalidade pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente. A análise de variância uma via foi aplicada à todos os dados e quando foi encontrado diferença significativa, o teste de Duncan foi utilizado. Todos os testes foram realizados utilizando-se 5% como nível de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de qualidade da água – temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, alcalinidade e concentração de amônia dissolvida permaneceram em $26,5 \pm 0,75$ °C, 34 ± 2 ‰, $6,14 \pm 0,22$ mg L⁻¹, $132,7 \pm 14,63$ mg L⁻¹ de CaCO₃ e $0,18 \pm 0,16$ mg L⁻¹, respectivamente.

A sobrevivência de 100% para todos os tratamentos demonstra que os níveis proteicos testados não influenciaram nesse parâmetro, como também foi relatado para *T. carolinus* (Lazo *et al.*, 1998) e *Mugil liza* (Carvalho *et al.*, 2010).

Os juvenis de pampo alimentados com as diferentes dietas apresentaram o mesmo ganho em peso e taxa de crescimento específico (Tab. 2), o que sugere que todos os tratamentos supriram as necessidades proteicas e energéticas. Isso permite inferir que a necessidade proteica para a espécie não seja superior a 43%, uma vez que a taxa de crescimento específico aumenta até que seja atingida a exigência proteica da

espécie (Rema et al., 2008). Este teor de proteína bruta é semelhante ao reportado por Lazo et al. (1998) que sugeriram 45% de proteína bruta para juvenis de *T. carolinus*.

Os peixes podem regular a ingestão tanto para atingir as necessidades energéticas (Vivas et al., 2006), como também, para atingir as necessidades proteicas (Vivas et al., 2006; Siddiqui e Khan, 2009). Estes fatos podem auxiliar a explicar porque os peixes do tratamento PB64 consumiram significativamente menos alimento do que os demais tratamentos (Tab. 2).

Tabela 2. Índices zootécnicos de juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* alimentados com diferentes níveis de proteína na ração.

Variável	Dieta		
	PB43	PB54	PB64
Peso inicial (g)	1,45 ± 0,05	1,45 ± 0,02	1,48 ± 0,01
Peso final (g)	7,02 ± 0,16	6,77 ± 0,21	7,02 ± 0,58
GP (g)	5,22 ± 0,21	5,32 ± 0,22	5,53 ± 0,58
TCE (% dia ⁻¹)	1,22 ± 0,08	1,23 ± 0,06	1,22 ± 0,09
CA	1,30 ± 0,12	1,33 ± 0,02	1,38 ± 0,13
RP (%)	39,79±1,02 a	31,39±1,65 b	33,86±1,30 b
RL (%)	230,76±12,83	199,64±4,18	215,33±18,29
TCA (%)	0,078±0,003b	0,074 ±0,006 b	0,066±0,003 a
CP (g)	69,75 ± 0,52 a	78,91 ± 2,25 b	91,19 ± 1,28 c
IHS	3,25 ± 0,66 b	3,40 ± 0,74 ab	3,74 ± 0,72 a
IVS	8,76 ± 1,28	8,85 ± 0,91	9,09 ± 1,39

Médias seguidas de letras diferentes, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Onde; GP: ganho em peso; TCE: taxa de crescimento específico; CA: conversão alimentar; RP: retenção proteica; RL: retenção lipídica; TCA: taxa de consumo alimentar; CP: consumo de proteína; IHS: índice hepatossomático e IVS: índice viscerossomático.

Embora os peixes do tratamento PB43 tenham ingerido menor quantidade de proteína (Tab. 2), o crescimento desses peixes não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) dos demais grupos, resultando, desta forma em melhor retenção proteica. Este fato contrasta com outros estudos que demonstram que peixes alimentados com níveis proteicos acima de seu ótimo apresentam menor crescimento (Siddiqui e Khan, 2009; Carvalho *et al.*, 2010).

Os teores de umidade, de proteína bruta e de cinzas não diferiram entre as carcaças dos animais alimentados com as diferentes dietas (Tab. 3). Por outro lado, o teor de extrato etéreo nos peixes do tratamento PB43 foi significativamente maior ($p < 0,05$), isso possivelmente foi provocado pelo maior teor de carboidratos desta dieta,

uma vez que os carboidratos podem aumentar a atividade de enzimas lipogênicas (Kumar et al., 2009).

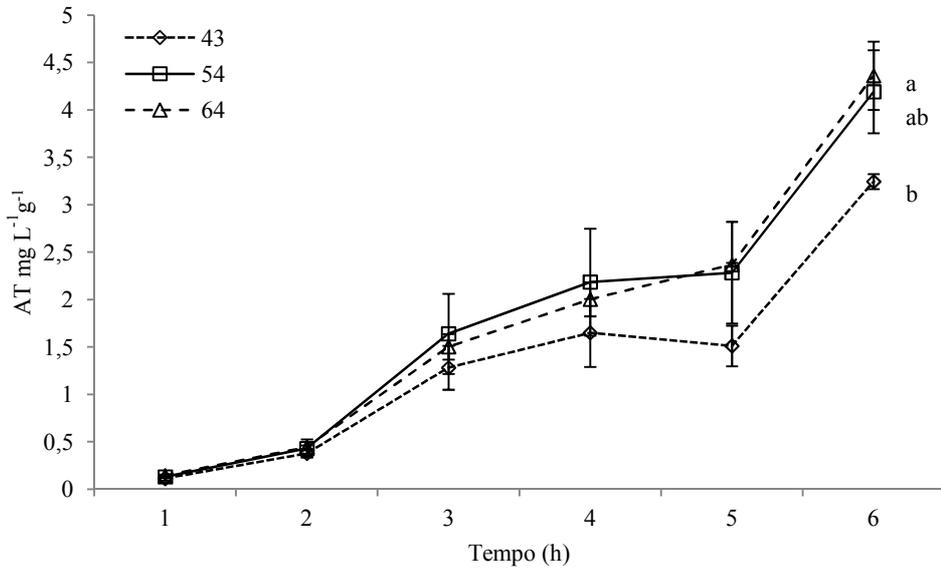
Tabela 3. Composição proximal da carcaça de juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* alimentados com diferentes níveis de proteína na ração.

Variável	Dieta		
	PB43	PB54	PB64
Umidade	629±6,5	637±10,5	637,7±4,8
Proteína	178,7±4,8	172,8±4,2	185,1±6,8
Extrato etéreo	154,5±3,4a	146,2±5,0b	144,9±3,0b
Cinzas	44,1±2,4	45,7±2,0	42,7±2,4

Médias seguidas de letras diferentes, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Valores expressos para matéria úmida (g Kg^{-1}).

Após 6 horas do início do teste de excreção de amônia, foi verificado que os peixes alimentados com a dieta PB43 apresentaram pico de excreção pós prandial significativamente menor ($p < 0,05$) do que quando comparado à taxa de excreção dos peixes do tratamento PB64 (Fig. 1). O aumento da excreção de produtos nitrogenados está relacionado com a utilização dos aminoácidos como componentes energéticos (Sá et al., 2008). Ainda, Zehra e Khan (2011) mencionam que existe correlação direta entre o consumo de proteína e a excreção de amônia. Esta correlação é mediada pelos processos de desaminação e/ou transaminação que liberam o grupo amino não reciclado por meio dos processos metabólicos aumentando sua excreção, sendo esta considerada como perda energética pelos peixes (Das, 2002). O aumento na taxa de excreção de amônia com o maior consumo de proteína encontrado no presente estudo corrobora os estudos mencionados acima.

Figura 1. Taxa de excreção de amônia total (AT) pós prandial para juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* alimentados com diferentes níveis de proteína na ração.



A menor taxa de excreção de amônia pós-prandial do tratamento PB43 tem relação com a menor concentração da enzima transaminase glutâmica oxaloacética (TGO) encontrada no fígado dos peixes desse tratamento (Tab. 4). A TGO é uma das principais enzimas de transaminação de aminoácidos (Jürss e Bastrop, 1995), ela transfere o radical nitrogenado do ácido aspártico para uma molécula de α -cetogluturato formando assim uma molécula de ácido oxaloacético e outra de ácido glutâmico, que por sua vez sofre desaminação para voltar à forma de α -cetogluturato liberando uma molécula de amônia gasosa que é então excretada. Neste caso o α -cetogluturato pode ser reutilizado em novas transaminações, ou caso se acumule no fígado, entrar como combustível no ciclo de Krebs, incrementando a obtenção de energia e sua deposição na forma de carboidratos e gordura (Das, 2002). A menor concentração da TGO no fígado no tratamento PB43 pode ser resultante do efeito economizador de proteína proporcionado pelo maior teor de carboidratos desta dieta, assim como encontrado para juvenis de *Sparus aurata* (Fernández *et al.*, 2007).

Tabela 4. Metabólitos de juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* alimentados com diferentes níveis de proteína na ração.

Tecido	Dieta		
	Variável	PB43	PB54
Fígado			
TG	5,09±2,69b	13,32±3,6a	6,31±2,30b
COL	0,44±0,15b	1,04±0,49a	0,51±0,30b
GG	25,13±10,26	27,99±4,47	31,45±9,03
PT	87,25±33,65	76,66±15,61	75,03±28,87
TGO	0,00048±0,0001b	0,00072±0,0002ab	0,00088±0,0005 ^a
TGP	0,0099±0,005	0,0112±0,005	0,0129±0,006
Músculo			
TG	4,03±1,90b	7,56±2,75a	7,74±3,01 ^a
COL	1,50±0,75	0,67±0,45	0,74±0,50
GG	1,84±0,39	2,50±1,15	2,01±0,75
PT	59,31±12,07	60,57±15,71	60,90±10,04
TGO	0,0148±0,003	0,0144±0,004	0,0133±0,003
TGP	0,0162±0,006	0,0157±0,006	0,0169±0,004

Médias seguidas de letras diferentes, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Onde, TG, é a concentração de triglicérides totais (mg g de tecido úmido⁻¹); COL, é a concentração de colesterol total (mg g de tecido úmido⁻¹); GG, é glicogênio (mg g de tecido úmido⁻¹); PT, é concentração de proteínas totais (mg g de tecido úmido⁻¹); TGO, transaminase glutâmica oxaloacética (U.I mg de proteína de tecido⁻¹) e TGP, é transaminase glutâmica pirúvica (U.I mg de proteína tecido⁻¹).

O conteúdo de glicogênio e proteína do fígado dos juvenis de pampo não apresentou diferença estatística entre os tratamentos (Tab. 4). Este fato difere dos resultados encontrados por Yang et al. (2003) e Zamora-Sillero et al. (2013) que encontraram maior deposição de glicogênio hepático em peixes alimentados com maior concentração de carboidratos digestíveis. Por outro lado, esse órgão apresentou menor teor de triglicérides para o tratamento PB43 quando comparado ao tratamento PB54, este mesmo padrão foi encontrado para o tecido muscular (Tab. 4). Esses dados sugerem que os triglicérides estejam sendo utilizados como material de deposição energética pelos peixes alimentados com 54% de proteína bruta. De fato, Jobling (2001) menciona que no fígado a principal fração lipídica depositada é o triglicérido.

O menor índice hepatossomático dos peixes do tratamento PB43, por sua vez, acorda com o menor teor de triglicerídeos no fígado e com a menor concentração da TGO hepática para os peixes deste tratamento, uma vez que menos proteína é utilizada como fonte energética na gliconeogênese resultando em menor deposição de material de reserva no fígado.

CONCLUSÕES

O crescimento de juvenis de pampo não foi afetado pelo consumo de proteína. O excesso de proteína consumido aumenta a excreção de amônia pós prandial após 6 h da alimentação. A proteína consumida é melhor aproveitada ao nível de 43% de proteína bruta na dieta.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado para Eduardo Martins da Silva e ao CNPq pela Bolsa de Produtividade para Luís André Sampaio e José María Monserrat.

REFERÊNCIAS

- AMADO, L.L.; GARCIA, M.L.; PEREIRA, T.C.B. et al. Chemoprotection of lipoic acid against microcystin-induced toxicosis in common carp (*Cyprinus carpio*, Cyprinidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, v.154, p.146-153, 2011.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 21st ed. APHA, Washington. 2005.
- ASSOCIATION of official analytical chemists - AOAC. *Official methods of analysis*. Arlington: AOAC International. 1995.
- CARTER, C.G.; HOULIHAN, D.F. Protein synthesis. In: Nitrogen Excretion, *Fish Physiology*. San Diego: Wright, P.A., Anderson, A.J. (Eds.). Academic Press, 2001. v.20, p.31-75.
- CARVALHO, C.V.A.; BIANCHINI, A.; TESSER, M.B. et al. The effect of protein levels on growth, postprandial excretion and tryptic activity of juvenile mullet *Mugil platamus* (Günther). *Aquac. Res.*, v.41, p.511-518, 2010.
- CHO, S.H.; HEO, T.Y. Effect of dietary nutrient composition on compensatory growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* using different feeding regimes. *Aquacult. Nutr.*, v.17, p.90-97, 2011.

- COSTA, L.D.F.; MIRANDA-FILHO, K.C.; SEVERO, M.P. et al. Tolerance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* to acute ammonia and nitrite exposure at different salinity levels. *Aquaculture*, v.285, p.270-272, 2008.
- CRAIG, S.R. Pompano Culture. In: Encyclopedia of aquaculture. New York: Stickney, R.R. (Ed.). John Wiley & Sons, USA, 2000. p.660-663.
- DAS, D. Metabolism of proteins. In: Das D (ed) Biochemistry. New York: Academic Publishers, 2002. p.463-504.
- FERNÁNDEZ, F.; MIQUEL, A.G.; CÓRDOBA, M. et al. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, v.343, p.1-10, 2007.
- FISCHER, L.G.; PEREIRA, L.E.D.; VIEIRA, J.P. *Peixes estuarinos e costeiros*. Rio Grande: Ecoscientia, 2004. p.127.
- JOBLING, M. Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. In: Food Intake in Fish (ed. by D. Houlihan, T. Boujard & M. Jobling), Blackwell Science Ltd, London, UK, 2001. p.354-375.
- JORY, D.; IVERSEN, E.; LEWIS, R. Culture of the fishes of the genus *Trachinotus* Carangidae in the western Atlantic. *J. World Maric. Soc.*, v.16, p.87-94, 1985.
- JÜRSS, K.A.; BASTROP, R. Amino acid metabolism in fish. In: HOCHACHKA, P.W.; MOMMSEN, T.P. Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes. Amsterdam: Elsevier Science, 1995. v.4, p.159-190.
- KUMAR, S.; SAHU, N.P.; PAL, A.K. et al. Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous alpha-amylase in the diet. *Fish Physiol. Biochem.*, v.35, p.301-315, 2009.
- LAIZ-CARRIÓN, R.; VIANA, I.R.; CEJAS, J.R. et al. Influence of food deprivation and high stocking density on energetic metabolism and stress response in red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquacult. Int.*, v.20, p.585-599, 2012.
- LAZO, J.P.; DAVIS, D.A.; ARNOLD, C.R. The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *Aquaculture*, v.169, p.225-232, 1998.
- LIMA, M.S.P.; VIEIRA, J.P. Variação espaço-temporal da ictiofauna da zona de arrebentação da Praia do Cassino, Rio Grande do Sul, Brasil. *Zoologia*, v.26, p.499-510, 2009.

- MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A.; RÍOS-DURÁN, M.G.; AMBRIZ-CERVANTES, L. et al. Dietary protein requirement of juvenile Mexican Silverside (*Menidia estor* Jordan 1879), a stomachless zooplanktophagous fish. *Aquacult. Nutr.*, v.13, p.304-310, 2007.
- MELO, J.F.B.; LUNDSTEDT, L.M.; METÓN, I. et al. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, v.145, p.181-187, 2006.
- NELSON, D.; COX, M. Lehninger, Principles of Biochemistry, Fourth Edition. New York: W.H. Freeman and Company, 2005. p.1167.
- NERY, L.E.M.; SANTOS, E.A. Carbohydrate metabolism during osmoregulation in *Chasmagnathus granulata*, Dana, 1851 (Crustacea, Decapoda). *Comp. Biochem. Physiol.*, v.106B, p.747-753, 1993.
- PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effect of the dietary essential amino acid pattern on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, v.267, p.119-128, 2007.
- REMA, P.; CONCEIÇÃO, L.E.C.; EVERS, F. et al. Optimal dietary protein levels in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquacult. Nutr.*, v.14, p.263-269, 2008.
- SÁ, R.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Dietary protein requirement of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquacult. Nutr.*, v.14, p. 309-317, 2008.
- SAMPAIO, L.A.; TESSER, M.B.; BURKERT, D. Tolerância de juvenis do pampo *Trachinotus marginatus* (Teleostei, Carangidae) ao choque agudo de salinidade em laboratório. *Cienc. Rural*, v.33, p.757-761, 2003.
- SIDDIQUI, T.Q.; KHAN, M.A. Effects of dietary protein levels on growth, feed utilization, protein retention efficiency and body composition of young *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Fish Physiol. Biochem.*, v.35, p.479-488, 2009.
- SOLORZANO, L. Determination of ammonia in natural waters by the phenol hypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, v.14, p.700-801, 1969.
- SOUZA, J.H.; FRACALLOSSI, D.M.; GARCIA, A.S.; RIBEIRO, F.F.; TSUZUKI, M.Y. Desempenho zootécnico e econômico de juvenis de robalo peva alimentados com dietas contendo diferentes concentrações proteicas. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.46, p.190-195, 2011.

- VIVAS, M.; RUBIO, V.C.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F.J. et al. Dietary self-selection in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) fed paired macronutrient feeds and challenged with protein dilution. *Aquaculture*, v.251, p.430-437, 2006.
- YANG, S.D.; LIN, T.S.; LIOU, C.H. et al. Influence of dietary protein levels on growth performance, carcass composition and liver lipid classes of juvenile *Spinibarbus hollandi* (Oshima). *Aquacult. Res.*, v.34, p.661-666, 2003.
- ZAMORA-SILLERO, J.; RAMOS, L.R.V.; ROMANO, L.A. et al. Effect of dietary dextrin levels on the growth performance, blood chemistry, body composition, hepatic triglycerides and glycogen of Lebranche mullet juveniles (*Mugil liza* Valenciennes 1836, Mugilidae). *J. App. Ichthyol.*, v.29, p.1342-1347. 2013.
- ZEHRA, S.; KHAN, M.A. Dietary protein requirement for fingerling *Channa punctatus* (Bloch), based on growth, feed conversion, protein retention and biochemical composition. *Aquacult. Int.*, v.20, p.383-395, 2011.

Capítulo 3: Manuscrito em elaboração

Substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja em rações experimentais para juvenis de Pampo prateado (*Trachinotus marginatus*)

Eduardo Martins da Silva⁽¹⁾, Diogo Alcântara Lopes⁽³⁾, Luís André Sampaio⁽³⁾ e
Marcelo Borges Tesser⁽¹⁾*

⁽¹⁾Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Rua do Hotel, nº 2, CEP 96210-030, Rio Grande, RS, Brasil. ⁽²⁾Universidade Federal do Rio Grande –FURG, Instituto de

Oceanografia, Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos.

⁽³⁾Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha.

E-mail: *mbtesser@gmail.com

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* alimentados com dietas contendo 0, 25, 50, 75 ou 100% de inclusão de concentrado proteico de soja (CPS0, CPS25, CPS50, CPS75 e CPS100, respectivamente) em substituição à farinha de peixe. Grupos de 16 juvenis ($2,43 \pm 0,01$ g) foram estocados em 15 tanques de 300 L em sistema de recirculação de água marinha por 45 dias e alimentados quatro vezes ao dia até a saciedade aparente com as respectivas rações experimentais. A conversão alimentar e a retenção lipídica não apresentaram diferenças ($p > 0,05$). O peso médio final, o ganho em peso, a taxa de crescimento específico e os índices hepatossomático e viscerossomático foram menores para o tratamento CPS100 ($p < 0,05$), porém se mantiveram sem alterações até o tratamento CPS75. O consumo total de alimento e de proteína dos animais alimentados com a dieta CPS100 foram inferiores aos demais, o que proporcionou menor retenção proteica para esses animais. Os resultados sugerem que farinha de peixe pode ser substituída por CPS em até 75 % nas rações para pampo prateado *Trachinotus marginatus* sem prejuízo para o desempenho dos peixes.

Palavras-chave: Carangidae, nutrição, proteína

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the growth performance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* fed diets containing 0, 25, 50, 75 or 100% inclusion of soy protein concentrate (SPC0, SPC25, SPC50, SPC75 and SPC100, respectively) in replacement of fish meal. Groups of 16 juveniles (2.43 ± 0.01 g) were stocked in 15 tanks of 300 L in recirculating sea water system for 45 days and fed four times to apparently satiation daily with their respective feed. The feed conversion, protein efficiency rate, the lipid efficiency rate and lipid retention did not differ ($p > 0.05$). The final weight, weight gain, specific growth rate, hepatosomatic and viscerosomatic index were lower for treatment SPC100 ($p < 0.05$), but remained unchanged until treatment SPC75. The total food and protein consumption from animals fed with diet SPC100 were lower to the other, which caused less protein retention for these animals. The results show that fishmeal can be replaced by SPC by up to 75% in diets for pompano *Trachinotus marginatus* without harming the performance of the fish.

Keywords: Carangidae, nutrition, protein

INTRODUÇÃO

A disponibilidade de produtos derivados de pescado como a farinha e óleo de peixe está cada vez menor o que eleva o valor de mercado desses produtos e onera a fabricação de alimentos para a produção de organismos aquáticos. Por outro lado, a produção aquícola tem aumentado constantemente nos últimos anos, consumindo grandes quantidades de farinha de peixe para sustentar o acréscimo na demanda por alimento inerte do setor, que, em 2008 foi de 29,2 milhões de toneladas com previsão de 51 milhões de toneladas em 2015 (FAO, 2012).

A farinha de peixe é o ingrediente central das dietas para peixes marinhos (Albert & Metian, 2008), provendo de maneira adequada proteínas e lipídios de alta qualidade. O aumento do custo operacional tanto para fornecedores de ração como para aquicultores, somado à mobilização pela diminuição do esforço de pesca nos oceanos limita sua ampla utilização (Song *et al.*, 2014) e impulsiona investigações sobre fontes de proteína alternativas, produtos que sejam mais baratos e renováveis.

Sem dúvidas os derivados de soja são os mais estudados, e os produtos processados de soja são considerados os mais adequados para alimentação de peixes. O concentrado proteico de soja (CPS) apresenta teor proteico em torno de 65 - 76 %, perfil de aminoácidos adequado à nutrição de peixes e é praticamente livre de fatores antinutricionais como, inibidores de tripsina, glicinas, saponinas e oligossacarídeos (Brown *et al.*, 2008). Tais características credenciam o CPS como um ingrediente alternativo a ser incluído nas dietas para reduzir a dependência por farinha de peixe e promover o crescimento sustentável do setor. Os fatores antinutricionais podem causar enterite no trato dos peixes, isso foi demonstrado por Hedrera *et al.* (2011) para larvas de *Dario renio* alimentadas com farelo de soja, as larvas que consumiram dietas com farelo de soja desenvolveram uma inflamação intestinal em dois dias após o início da alimentação. Os autores determinaram que não é a proteína do farelo de soja que provoca o processo inflamatório, mas sim, a saponina que está presente no farelo de soja.

A inclusão de derivados de soja na dieta é feita com sucesso para diversas espécies, contudo a completa substituição da farinha de peixe pode reduzir o crescimento e impactar negativamente a sanidade dos peixes. Xu *et al.* (2012) demonstraram que juvenis de *Acipenser schrenckii* alimentados com dietas contendo 50 % de isolado proteico de soja ou mais, apresentam concentração de proteínas totais e globulinas no soro diminuídas, enquanto a atividade da fosfatase alcalina foi aumentada,

o que denota possível dano hepático. Trabalhados como os de Salze *et al.* (2010), para *Rachycentron canadum*, e Freitas *et al.* (2011), para *Lutjanus analis*, mostram a eficiência do CPS como alternativa à farinha de peixe para espécies marinhas, com substituições de 75 e 52,2 %, respectivamente.

Embora o CPS apresente bom perfil de aminoácidos, ele é deficiente principalmente em metionina e taurina. A suplementação com metionina e taurina nas dietas contendo CPS tem mostrado resultados positivos (Tibaldi *et al.* 2006; Kin *et al.* 2008; Takagi *et al.* 2011; Jirsa *et al.* 2014). Em mamíferos a taurina é produzida na via metabólica da metionina + cisteína (Takagi *et al.* 2011), no entanto sua síntese é limitada em peixes, principalmente nos carnívoros (Goto *et al.* 2001; Yokoyama *et al.* 2001). A taurina é essencial para conjugação dos pigmentos pancreáticos e sua carência provoca uma diminuição da secreção destes pigmentos o que pode levar ao desenvolvimento de desordens hepáticas importantes como a chamada síndrome do fígado verde, na qual a órgão apresenta uma coloração esverdeada provocada pelo acúmulo dos pigmentos não conjugados com a taurina (Takagi *et al.* 2011).

O gênero *Trachinotus* (Carangidae) é alvo de vários trabalhos em nível mundial, o que demonstra que suas espécies estão sendo fortemente cogitadas para empreendimentos aquícolas (Jory *et al.* 1985; Lazo, *et al.* 1998; Sampaio *et al.* 2003). Este interesse se dá devido à rápida adaptação ao cativeiro, boa tolerância à condições ambientais extremas e crescimento rápido. O interesse na produção comercial desta espécie fica evidenciado por estes e outros estudos sobre sua biologia e tecnologia de produção (Sampaio *et al.* 2003; Costa *et al.* 2008; Okamoto *et al.*, 2009; Kütter *et al.* 2012).

Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência de diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja em rações para juvenis de pampo prateado, *Trachinotus marginatus*, sobre o desempenho zootécnico e a composição bromatológica dos peixes.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa Animal da Universidade Federal do Rio Grande – FURG (23116.001423/2014-59).

Juvenis de *T. marginatus* foram coletados durante o verão na zona de rebentação na praia do Cassino (32° 04'54.00"S; 52° 09'48.00" W), Rio Grande – RS - Brasil, por meio de rede de arrasto (malha 8mm) e transportados imediatamente à Estação Marinha

de Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande – FURG em caixas de transporte dotadas de aeradores (Autorização para atividades com finalidade científica, nº 31890-2; Ministério do Meio Ambiente, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO).

No laboratório os peixes foram submetidos à 10 dias de aclimação as condições experimentais. Durante este período, os peixes foram alimentados com ração comercial quatro vezes ao dia até a saciedade aparente. Grupos de 16 juvenis de pampo, com peso médio de $2,4 \pm 0,01$ g, foram estocados aleatoriamente em 15 tanques distribuídos em cinco sistemas de recirculação de água marinha. Cada sistema de recirculação era formado por três tanques de 300 L e um sistema de filtração composto por uma caixa de sedimentação, biofiltro, filtro de areia e “skimmer”.

As dietas foram formuladas para conter 43 % de proteína bruta, como determinado no segundo capítulo desta tese, para o máximo crescimento e melhor utilização da proteína consumida. Os ingredientes secos foram homogeneizados previamente à mistura da água e do óleo de peixe. A água foi aquecida à 40°C e adicionada (300 ml Kg^{-1}) à mistura seca para gelatinizar o amido e melhorar a consistência da massa a ser peletizada. Posteriormente a peletização, as dietas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C e armazenadas à -20°C.

A análise bromatológica das rações (Tabela 1) e das carcaças (Tabela 4) foi realizada segundo métodos padrões da AOAC (2000), após a moagem e secagem das amostras em estufa de recirculação forçada de ar (18 h - 105 °C). O conteúdo de proteína bruta foi calculado pelo método de Kjeldahl ($N \times 6,25$), o de extrato etéreo por extração em Soxhlet com éter de petróleo, o de cinzas por incineração em mufla a 550 °C. O teor de fibra bruta das rações foi determinado pelo método de Weende (Henneberg, 1864). O conteúdo de aminoácidos das rações demonstrado na Tabela 2, foi determinado segundo protocolo descrito por White *et al.* (1986).

Tabela 1. Ingredientes e composição proximal das dietas contendo os diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja.

Ingredientes (g Kg ⁻¹)	Dieta				
	CPS0	CPS25	CPS50	CPS75	CPS100
Farinha peixe	660	495	330	165	0
CPS	0	160	320	480	640
Óleo de peixe	10	35	60	85	110
Amido de milho	250	240	230	220	210
Mist. Mineral e Vit.	10	10	10	10	10
Celulose	20	20	20	20	20
Carboximetilcelulose	50	40	30	20	10
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Análise proximal (g Kg ⁻¹ matéria seca)					
Proteína bruta	405,3	410,9	406,7	402,4	403,2
Extrato etéreo	102,2	101,7	103,1	103,5	107,3
Fibra bruta	6,27	6,31	6,34	6,41	6,58
Cinzas	14,65	12,60	9,85	9,61	4,57
Umidade	6,48	6,52	6,37	6,19	5,88
Energia bruta (KJ g ⁻¹)	19,78	20,08	20,38	20,68	20,95
PB/EB (g KJ ⁻¹)	20,49	20,46	19,96	19,46	19,24

Os animais foram alimentados quatro vezes por dia (09:00, 12:00, 15:00 e 18:00h) até a saciedade aparente por 45 dias com suas respectivas dietas. Cada um dos cinco sistemas de recirculação representaram uma dieta, contendo as três réplicas de um mesmo tratamento. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos diariamente por meio de oxímetro digital (YSI 550, Yellow Springs, OH, USA). A salinidade foi mensurada por meio de refratômetro (Atago, modelo 103, Tóquio, Japão). A alcalinidade, a concentração de amônia e a concentração de nitrito foram mensuradas a cada dois dias de acordo com a metodologia de APHA (2005), Solorzano (1969) e Bendschneider & Robinson (1952) respectivamente. As leituras de transmitância foram feitas em espectrofotômetro digital (Micronal B342 II) em 630 nm para amônia e 543 nm para nitrito.

Para a realização das biometrias os peixes foram mantidos em jejum de 48 horas para o completo esvaziamento do trato digestório. Ao início e ao final do experimento (45 dias), os peixes foram anestesiados com benzocaína (50 ppm), pesados em balança

analítica e medidos com ictiômetro. Ao final do experimento todos animais foram eutanasiados por meio da exposição à concentração letal de benzocaína (500 ppm). O fígado e as vísceras foram retirados e pesados individualmente para o cálculo do IHS e IVS em balança analítica, enquanto as carcaças foram usadas para a determinação da composição bromatológica.

Tabela 2. Aminograma das rações com diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja (CPS). Expressos em g /100g proteína.

Aminoácidos essenciais	Dietas				
	CPS0	CPS25	CPS50	CPS75	CPS100
Arginina	8,09	8,40	8,46	8,70	8,77
Histidina	2,29	2,51	2,60	2,74	2,77
Isoleucina	3,28	3,34	3,64	3,68	3,99
Leucina	5,1	5,35	5,43	5,46	5,89
Lisina	6,22	5,94	5,81	5,53	5,35
Metionina	2,68	2,14	1,79	1,39	1,09
Fenilalanina	3,38	3,83	4,12	4,36	4,71
Treonina	4,71	4,60	4,55	4,49	4,38
Valina	3,98	3,93	4,12	4,06	4,16
Aminoácidos Não essenciais					
Alanina	7,15	6,21	5,43	4,67	4,21
Ácido Aspártico	8,38	9,95	11,34	12,53	13,08
Cisteína	0,91	0,85	0,91	0,94	1,06
Ácido Glutâmico	15,74	17,42	18,75	20,12	21,05
Glicina	12,93	10,27	8,34	6,54	4,85
Prolina	7,08	6,66	6,06	5,78	5,55
Serina	4,97	5,43	5,48	5,78	5,92
Taurina	0,65	0,40	0,25	0,13	<0,01
Tirosina	2,45	2,70	2,90	3,07	3,17

De posse dos dados biométricos e morfométricos, foram calculados os seguintes parâmetros:

Ganho em peso (GP)

= peso final – peso inicial

Taxa de crescimento específico (TCE)

= \ln peso final - \ln peso inicial/tempo (dias)

Índice hepatossomático (IHS)

= peso do fígado x 100/peso corporal

Índice viscerossomático (IVS)

= peso das vísceras x 100/peso corporal

Ganho de biomassa (GB)

= biomassa final – biomassa inicial

Conversão alimentar aparente (CA)

= consumo de alimento/ganho de biomassa

Retenção proteica (RP)

= $[(\text{biomassa final} \times \text{teor de proteína final da carcaça}) - (\text{biomassa inicial} \times \text{teor de proteína inicial da carcaça})] \times 100 / \text{consumo de proteína}$

Retenção lipídica (RL)

= $[(\text{biomassa final} \times \text{teor de lipídios final da carcaça}) - (\text{biomassa inicial} \times \text{teor de lipídios inicial da carcaça})] \times 100 / \text{consumo de lipídios}$

Os dados foram analisados quanto à homogeneidade e normalidade pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente. A análise de variância de uma via foi aplicada à todos os dados e quando foi encontrado diferença significativa, o teste de Duncan foi utilizado, considerando para todos os testes 5% de nível de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de qualidade de água mensurados não mostraram diferença significativa e estão apresentados na forma de médias \pm desvio padrão de todas as aferições. Os valores para temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, alcalinidade, amônia total, nitrito e pH encontrados foram respectivamente: $25,6 \pm 0,2$ °C, $6,57 \pm 0,04$ mg L⁻¹, $24,53 \pm 0,03$ ‰, $199,25 \pm 4,38$ mg L⁻¹ CaCO₃, $0,04 \pm 0,01$ mg N-NH₃ L⁻¹; $0,11 \pm 0,04$ mg N-NO₂ L⁻¹ e $7,87 \pm 0,03$.

O ganho de peso dos juvenis de pampo alimentados com dietas contendo até 75 % de CPS aumentou cerca de 500 %, enquanto que a sobrevivência foi superior a 95 % em todos os tratamentos (Tabela 3). Estes dados demonstram a alta capacidade de metabolização do pampo para este ingrediente, assim como foi encontrado para *Rachycentron canadum*, que não sofreu alterações de crescimento com 75 % de CPS na

dieta, sem suplementação de AAE (Salze *et al.*, 2010). Por outro lado, juvenis de *Seriola lalandi* tiveram diminuídos o ganho de peso e a sobrevivência, além de pior conversão alimentar com a inclusão de 29 % de CPS, resultados estes devidos a diminuição da palatabilidade das rações (Jirsa *et al.*, 2011).

Tabela 3. Índices zootécnicos de juvenis do pampo prateado *T. marginatus* alimentados com rações de diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja (CPS) por 45 dias.

Índice	Dietas				
	CPS0	CPS25	CPS50	CPS75	CPS100
SO	97,92±3,61	100±0,00	95,83±7,22	95,83±3,61	100±0,00
PI	2,43±0,00	2,43±0,01	2,44±0,01	2,44±0,00	2,44±0,01
PF	12,24±0,93a	12,81±0,97a	12,25±1,27 ^a	12,39±0,49a	7,56±0,41b
GP	9,80±0,93a	10,38±0,98a	9,82±1,27 ^a	9,96±0,49a	5,12±0,4b
TCE	3,58±0,17a	3,69±0,17a	3,58±0,23 ^a	3,61±0,09a	2,51±0,12b
IHS	1,60±0,08b	1,71±0,25b	1,29±0,04c	1,32±0,02c	2,12±0,12a
IVS	7,65±0,33b	7,98±0,49a	7,56±0,28b	7,54±0,08b	8,92±0,34a
CTA	429,61±15,43a	412,40±20,10a	392,93± 40,21ab	383,22±8,29b	256,74±13,00c
CA	2,82±0,18	2,64±0,36	2,81±0,29	2,69±0,09	3,14±0,15
CTP	174,12±6,26a	169,46±8,26a	159,80±16,35ab	154,21±3,33b	103,52±5,24c
RP	36,37±2,43ab	38,28±4,06a	37,14±4,16 ^a	40,33±1,79a	31,02±1,90b
CTL	43,48±1,56a	41,94±2,04a	40,51±4,15 ^a	39,66±0,86a	27,55±1,39b
RL	176,77±9,86	188,14±26,51	174,12±12,60	176,93±7,08	163,06±5,33

Onde SO, é sobrevivência (%); PI, é peso inicial (g); PF, é peso final (g); GP, é ganho de peso (g); TCE, é taxa de crescimento específico (% dia⁻¹); IHS, é índice hepatossomático; IVS, é índice viscerossomático; CTA, é consumo total de alimento (g); CA, é conversão alimentar; CTP, é consumo total de proteína (g); RP; é retenção proteica (%); CTL, é consumo total de lipídios (g) e RL, é retenção lipídica (%).

O ganho de peso e a taxa de crescimento específico não sofreram influência dos diferentes níveis de inclusão de CPS entre os tratamentos CPS0, CPS25, CPS50 e CPS75. Já para os animais alimentados com a dieta CPS100, a redução do GP foi de 55 % e da TCE foi de 69 % em relação aos demais tratamentos. O menor consumo de alimento e as alterações de desempenho mencionadas nos permite inferir que a completa retirada da FP prejudicou a palatabilidade da ração CPS100. Outro fator a ser

mencionado é que o CPS apresenta deficiência principalmente de metionina e taurina. A deficiência por estes aminoácidos fica evidente na dieta sem inclusão de FP, visto que a concentração de metionina foi cerca de 40 % (1,09 g/ 100 g de proteína) menor em relação à ração CPS0 (2,68 g/ 100 g de proteína), e concentração de taurina que foi de 0,65 g / 100 g proteína na dieta CPS0 e foi diminuindo conforme maior a inclusão de CPS até alcançar uma concentração abaixo da capacidade de detecção do método (<0,01 g/ 100 g de proteína) (Tabela 2). Estas concentrações estão muito abaixo das exigências calculadas no primeiro capítulo desta tese, que foi de 2,3 g/ 100 g proteína para metionina+cisteína.

Martínez-Llorens *et al.*, (2009) suplementaram com metionina dietas com substituição de até 75 % farinha de peixe por farelo de soja para alimentar juvenis de *Sparus aurata*. Houve redução do crescimento dos peixes mesmo com a suplementação de metionina. A mesma resposta foi reportada por Silva-Carrillo *et al.*, (2012) quando juvenis de *Lutjanus guttatus* foram alimentados com dietas contendo até 60 % de farelo de soja e suplementadas com 2,5 % de metionina, indicando que a concentração de metionina não foi a responsável pelo menor crescimento dos peixes. O mesmo parece ocorrer no presente estudo uma vez que a concentração de metionina da dieta CPS100 foi apenas 20 % inferior à concentração da dieta CPS75, a qual não sofreu diminuição do crescimento.

O NRC (2011) recomenda a suplementação de taurina em rações com alta inclusão de proteínas de origem vegetal para muitas espécies de peixes, neste sentido, Jirsa *et al.*, (2014) sugerem que a suplementação de taurina é essencial para promover o máximo crescimento para diversas espécies marinhas. Além disso, a deficiência de taurina impede a conjugação de sais biliares e sua liberação para o intestino, o que prejudica o processo de digestão alcalina (Takagi *et al.*, 2011).

Kim *et al.*, (2008) demonstraram que a suplementação de taurina em dietas para juvenis de *Paralichthys olivaceus* teve efeito benéfico para o desempenho dos peixes. Para juvenis de *Atractoscion nobilis*, o crescimento e a eficiência alimentar dos peixes alimentados com dietas contendo 12 % de FP, 25 % de farelo de soja e 17% de CPS mostrou relação positiva ($R^2 = 0,94$ e $p < 0,0001$) com suplementação de taurina em concentrações de 0,1 a 1,6 %, o que indica que a taurina é um nutriente essencial para espécie (Jirsa *et al.*, 2014).

No presente estudo a concentração de taurina diminuiu conforme a inclusão de CPS, com destaque para a ração CPS100 onde foi menor do que 0,01 %. Para esta dieta

houve menor crescimento e retenção proteica, o que permite inferir que estes resultados são provocados pela deficiência de taurina e que este seja um aminoácido limitante para a espécie. Isso é corroborado pelo estudo de Rossi & Davis (2012) que mostra que juvenis de pampo da Flórida (*Trachinotus carolinus*) tem exigência por taurina e sua suplementação é necessária para otimizar o crescimento dos peixes e essencial para viabilizar a eliminação da farinha de peixe em dietas para a espécie. Neste trabalho a suplementação em 0,25, 0,50 ou 0,75 % de taurina em dietas livre de farinha de peixe, aumentou o crescimento, a eficiência alimentar e a retenção proteica em relação à dieta sem suplementação.

Tabela 4: Composição bromatológica da carcaça de juvenis do pampo prateado *T. marginatus* alimentados com rações de diferentes níveis de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja (CPS).

	Dietas					
	Inicial	CPS0	CPS25	CPS50	CPS75	CPS100
PB	15,82±0,16	17,43±0,12	17,15±0,75	18,15±0,34	17,24±0,57	17,31±0,13
EE	6,14±0,17	17,29±0,12b	17,07±0,72b	17,49±0,49b	15,99±0,56a	16,87±0,07b
Cinzas	4,5±0,03	4,10±0,12b	4,13±0,33b	4,52±0,12a	4,08±0,08b	3,02±0,19c
MS	73,49±0,45	61,40±0,27	61,27±1,79	60,50±0,71	63,29±1,01	62,15±0,39

Onde PB, é proteína bruta; EE, é extrato etéreo e MS, é matéria umidade.

Comparados aos peixes alimentados com a dieta CPS0, os peixes alimentados com a dieta CPS75 apresentaram retenção proteica semelhante e menor consumo de proteína (Tabela 3). Isso indica que a proteína está sendo melhor utilizada pelos peixes deste grupo. E demonstra que juvenis de pampo tem capacidade metabólica para utilizar e reter a proteína oriunda do CPS (Bowyer *et al.*, 2013). Este padrão se repete entre a conversão alimentar e o consumo total de alimento, onde mesmo comendo menos em relação ao tratamento CPS0, os peixes do tratamento CPS75 obtiveram a mesma conversão alimentar (Tabela 3). Enquanto para *Lutjanus analis* a substituição de 77 % da FP por CPS não modificou a conversão alimentar e a taxa de eficiência proteica, apesar do menor crescimento para este tratamento, entre os animais alimentados com as demais dietas (0, 33 e 57 % de substituição por CPS), não houve alteração desse parâmetro (Freitas *et al.*, 2011).

O incremento do IHS e IVS (Tabela 3) encontrado para os peixes alimentados com a dieta CPS100 pode indicar maior deposição de gordura nestes órgãos, assim com reportado por Bañuelos-vargas *et al.*, (2014) para juvenis de *Totoaba macdonaldi* onde peixes alimentados com rações contendo 60% de CPS depositam maior quantidade de lipídios no fígado. A menor retenção proteica encontrada para estes peixes (Tabela 2) reforça esta suspeita, pois denota maior nível de desaminação proteica e utilização dos esqueletos carbônicos dos aminoácidos para formação e deposição de reservas energéticas. Já os peixes tratados com CPS75 apresentaram IHS e conteúdo de lipídios da carcaça menor em relação à ração controle (CPS0). A diminuição do teor de lipídios na carcaça foi mencionada por Bowyer *et al.*, (2013) para *Seriola lalandi* alimentados com dietas contendo 30 e 40 % de CPS em substituição à farinha de peixe.

Em conclusão, o CPS pode ser usado para substituir a farinha de peixe em dietas para juvenis de pampo prateado, *Trachinotus marginatus*, em até 75 % sem provocar alterações no ganho de peso, no crescimento específico, no consumo de alimento ou na conversão alimentar e ainda melhora a retenção de proteína. A substituição total da farinha de peixe promoveu queda importante na performance dos peixes, porém não deve ser descartada sem que se investigue a total retirada da farinha de peixe com a suplementação de aminoácidos, como a metionina e principalmente a taurina.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado para Eduardo Martins da Silva e ao CNPq pela Bolsa de Produtividade para Luís André Sampaio.

REFERÊNCIAS

- Albert, G. J., & Metian, T. M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture*, 28, 5146-5158.
- American public health association - APHA. (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st ed. APHA, Washington.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (2000). In: *Official Methods of Analysis*. AOAC, Arlington, VA, USA, 1298pp

- Bañuelos-vargas, I., López, L. M., Pérez-Jiménez, A., & Peres, H. (2014). Comparative Biochemistry and Physiology, Part B Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 170, 18-25.
- Bendschneider, K., & Robinson, R. J., (1952). A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. *Journal of Marine Research*, 11, 87-96.
- Bowyer, J. N., Qin, J. G., Smullen, R. P., Adams, L. R., Thomson, M. J. S., & Stone, D. A. J. (2013). The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: 2. Soy protein concentrate. *Aquaculture*, 410-411, 1–10.
- Brown, P. B., Kaushik, S., & Peres, H., (2008). Protein feedstuffs originating from soybeans. In: Lim, C.E., Webster, C.D., Lee, C.S. (Eds.), *Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets*. Haworth Press, New York, pp. 205-224.
- Costa, L. D. F., Miranda-filho, K. C., Severo, M. P., & Sampaio, L. A. (2008). Tolerance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* to acute ammonia and nitrite exposure at different salinity levels. *Aquaculture*, 285, 270-272.
- FAO, The State of World Fisheries and Aquaculture 2012 (Rome. 209 pp.)
- Fischer, L. G., Pereira, L. E. D., & Vieira, J. P. (2004). Peixes estuarinos e costeiros. Rio Grande. *Ecocientia*, 127p.
- Freitas, L., Jorge, A., Nunes, P., Vin, M., & Sa, C. (2011). Growth and feeding responses of the mutton snapper, *Lutjanus analis* (Cuvier 1828), fed on diets with soy protein concentrate in replacement of Anchovy fish meal. *Aquaculture research*, 42, 866-877.
- Goto, T., Tiba, K., Sakurada, Y., & Takagi, S. (2001). Determination of hepatic cysteinesulfinate decarboxylase activities in fish by means of OPA-prelabeling and reverse-phase high-performance liquid chromatographic separation. *Fish Science*, 67, 553-555.

- Hedrerera, M.I., Galdames, J.A., Jimenez-Reyes, M.F., Reyes, A.E., Avendaño-Herrera, R., Romero, J., & Feijóo, C.G. (2013). Soybean meal induces intestinal inflammation in zebrafish larvae. *PLoS One*, 8(7), e69983.
- Jirsa, D., Davis, D. A., Salze, G. P., Rhodes, M., & Drawbridge, M. (2014). Taurine requirement for juvenile white seabass (*Atractoscion nobilis*) fed soy-based diets. *Aquaculture*, 422-423, 36-41.
- Jory, D. E., Iversen, E. S., & Lewis, R. H. (1985). Culture of the fishes of the genus *Trachinotus* (Carangidae) in the Western Atlantic. *Journal of World Mariculture Society*, 16, 87-94.
- Kim, S.-K., Matsunari, H., Nomura, K., Tanaka, H., Yokoyama, M., Murata, Y., Ishihara, K., & Takeuchi, T. (2008). Effect of dietary taurine and lipid contents on conjugated bile acid composition and growth performance of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fishery Science*, 74, 875-881.
- Kütter, M. T., Monserrat, J. M., Primel, E. G., Caldas, S. S., & Tesser, M. B. (2012). Effects of dietary α -lipoic acid on growth, body composition and antioxidant status in the Plata pompano *Trachinotus marginatus* (Pisces, Carangidae). *Aquaculture*, 368-369, 29-35.
- Lazo, J. P., Davis, D. A., & Arnold, C. R. (1998). The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *Aquaculture*, 169, 225-232.
- Lemos, V. M., Varela Junior, A. S., Velasco, G., & Vieira, J. P. (2011). The reproductive biology of the Plata pompano, *Trachinotus marginatus* (Teleostei: Carangidae), in southern Brazil. *Zoologia*, 28(5), 603–609.
- Lima, M. S. P., & Vieira, J. P. (2009). Variação espaço-temporal da ictiofauna da zona de arrebentação da Praia do Cassino, Rio Grande do Sul, Brasil. *Zoologia*, 26, 499–510.
- Martínez-Llorens, S., Vidal, A. T., Garcia, I. J., Torres, M. P., & Cerdá, M. J. (2009). Optimum dietary soybean meal level for maximizing growth and nutrient

- utilization of on-growing gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition*, 15(3), 320-328.
- Okamoto, M. H., Tesser, M. B., Louzada, L. R., Santos, R. A. Dos, & Sampaio, L. A. (2009). Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. *Ciência Rural*, 39(3), 866-870.
- Rossi, W., & Davis, D. A. (2012). Replacement of fishmeal with poultry by-product meal in the diet of Florida pompano *Trachinotus carolinus* L. *Aquaculture*, 338-341, 160-166.
- Salze, G., McLean, E., Battle, P. R., Schwarz, M. H., & Craig, S. R. (2010). Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 298, 294-299.
- Sampaio, L. A., Tesser, M. B., & Burkert, D. (2003). Tolerância de juvenis do pampo *Trachinotus marginatus* (Teleostei, Carangidae) ao choque agudo de salinidade em laboratório. *Ciência Rural*, 33, 757-761.
- Silva-Carrillo, Y., Hernández, C., Hardy, R. W., González-Rodríguez, B., & Castillo-Vargasmachuca, S. (2012). The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture*, 364-365, 180-185.
- Solorzano, L. (1969) Determination of ammonia in natural waters by the phenol hypochlorite method. *Limnology Oceanographic*, 14, 700-801.
- Song, Z., Li, H., Wang, J., Li, P., Sun, Y., & Zhang, L. (2014). Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance , blood biochemistry , gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 426-427, 96-104.
- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Hatate, H., Endo, M., Yamashita, H., Miyatake, H., & Ukawa, M., (2011). Role of taurine deficiency in inducing green liver symptom

- and effect of dietary taurine supplementation in improving growth in juvenile red sea bream *Pagrus major* fed non-fishmeal diets based on soy protein concentrate. *Fishery Science*, 77, 235-244.
- Tibaldi, E., Hakim, Y., Uni, Z., Tulli, F., de Francesco, M., Luzzana, U., & Harpaz, S. (2006). Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 261, 182-193.
- Yokoyama, M., Takeuchi, T., Park, G.S., & Nakazoe, J. (2001). Hepatic cysteinesulphinatase decarboxylase activity in fish. *Aquaculture Research*, 32, 216-220.
- White, J. A., Hart, R. J., & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-tag system for the amino-acid-analysis of food materials. *Journal of Automatic Chemistry*, 8, 170-177.
- Xu, Q. Y., Wang, C. A., Zhao, Z. G., & Luo, L. (2012). Effects of replacement of fish meal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 25, 1588-1594.

DISCUSSÃO GERAL

Esta tese teve como objetivo principal prover informações sobre a nutrição proteica para juvenis de pampo prateado *Trachinotus marginatus*. Para isto foram estimadas suas necessidades aminoacídicas, o efeito de diferentes níveis de proteína bruta na dieta sobre crescimento dos juvenis e também a resposta apresentada pelos peixes quando alimentados com dietas contendo diferentes quantidades de concentrado proteico de soja.

Como passo inicial desta tese foram estimadas as necessidades aminoacídicas para juvenis do pampo assumindo que estas são um reflexo da composição da carcaça dos peixes, como postula o conceito de proteína ideal, determinado inicialmente para suínos por Mitchell (1964). A partir deste conceito Arai, (1981) propôs o cálculo de um índice que relaciona a quantidade de um aminoácido em particular com a concentração total de aminoácidos do tecido, essa representação em forma de proporções permite que se compare a composição de aminoácidos entre diferentes espécies. As necessidades aminoacídicas são calculadas com base no índice A/E proposto por Arai (1981), tendo a exigência por lisina como padrão em relação ao qual se expressa a necessidade dos outros aminoácidos essenciais. A lisina é usada como aminoácido de referencia por ser o primeiro aminoácido limitante, isso ocorre devido à função da lisina, esse aminoácido desempenha papel fundamentalmente proteogênico e sua deficiência pode prejudicar a síntese proteica de forma sistêmica.

Muitas espécies têm suas necessidades aminoacídicas determinadas em experimentos dose-resposta ou estimadas em estudos semelhantes ao que foi realizado no primeiro capítulo desta tese. Se observa, na maioria dos casos, uma grande semelhança entre os valores mencionados para estes peixes e para o pampo não foi diferente, visto que, as necessidades estimadas aqui seguem o padrão encontrado para teleósteos.

Em um segundo passo no caminho para alcançar um uso mais sustentável da farinha de peixe como fonte de proteína, testamos diferentes níveis de proteína na dieta fornecida a juvenis de pampo. Neste experimento observamos que o aumento do nível proteico não promoveu qualquer efeito sobre o ganho de peso, a taxa de crescimento específico, a conversão alimentar ou sobre a composição na carcaça. Por outro lado, a taxa de eficiência proteica dos peixes alimentados com 43 % de PB foi melhor o que

juntamente com a menor concentração de TGO hepática deste tratamento, explica os menores; índice hepatossomático e taxa de excreção de amônia, uma vez que estes denotam menor processo de desaminação.

A dieta contendo 43 % de PB apresentava maior concentração de carboidratos o que pode estimular a atividade de enzimas lipogênicas (Kumar et al. 2009) e assim provocar efeito economizador das proteínas consumidas (Fernández et al. 2007). Este fenômeno pode explicar o evidente melhor uso da proteína pelos peixes alimentados com esta dieta.

Em última instância observamos que a substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja é viável em até 75 %, uma vez que os peixes alimentados com esta dieta apresentaram crescimento semelhante aos peixes alimentados com a dieta contendo somente farinha de peixe como fonte proteica. Já a substituição total da FP por CPS diminuiu o crescimento em 39 e 49 % para PMF e o GP, respectivamente, além disso, ficou clara a inibição do consumo de alimento o qual foi reduzido em 40 % para esta dieta.

Neste experimento, somente o conteúdo de lipídios da carcaça dos peixes alimentados com a dieta CPS75 apresentou diminuição em relação aos outros peixes, quanto aos demais parâmetros examinados da composição bromatológica não houve diferenças. Em média, os conteúdos de proteína bruta (17-18 %), extrato etéreo (16-17 %), cinzas (4,5 %) e umidade (60-63 %) encontrados para os peixes alimentados com diferentes níveis de inclusão de CPS são muito similares - (17-18 %), extrato etéreo (14,5-15,4 %), cinzas (4,4 %) e umidade (63 %) - aos reportados para os peixes alimentados com diferentes níveis de proteína no segundo capítulo desta tese. Isto sugere que esta espécie consegue manter seu metabolismo geral inalterado frente à alterações de teor proteico ou quando consomem proteína derivada da soja.

Vale ressaltar que o experimento do segundo capítulo foi realizado com dietas purificadas enquanto as dietas do terceiro capítulo foram feitas com ingredientes práticos. Esta característica das rações pode explicar a divergência entre a TCE encontrada para os peixes alimentados com 43 % de PB (PB43 - 1,22 %) e a TCE mencionada no terceiro (3,58-3,61 %) entre os peixes que não sofreram redução de crescimento (CPS0 → CPS75). Neste sentido, podemos destacar o aumento da CA de 1,3 em PB43 para 2,69 em CPS75 o que indica menor aproveitamento do alimento consumido neste último, no entanto a retenção proteica foi semelhante entre os dois trabalhos - 39,79 % para PB43 e 40,33 % para CPS75 - mostrando que a proteína está

sendo metabolizada de forma similar. Ao contrário, a retenção lipídica foi menor no tratamento CPS75 (176,93 %) se comparada à apresentada pelos peixes alimentados com a dieta PB43 (230 %). Isso demonstra que a dieta prática promoveu menor síntese e deposição de gordura na carcaça dos peixes. Este padrão parece se repetir para o fígado, pois o IHS diminuiu de mesma forma entre os peixes alimentados com estas dietas, de 3,25 para PB43 para 1,32 em CPS75.

Quanto ao perfil de aminoácidos encontrado nas dietas do terceiro capítulo, podemos afirmar que, no geral, está de acordo com as necessidades estimadas no primeiro capítulo desta tese, porém existe uma deficiência pronunciada de metionina e taurina. Embora essas deficiências sejam mais evidentes nas dietas com maior teor de CPS, até mesmo a dieta formulada somente com farinha de peixe como fonte proteica às apresenta. Apesar disto os peixes cresceram com uma TCE entre 3,58 e 3,69 %. Essa TCE é ligeiramente maior do que a encontrada por Cunha et al. (2013) para juvenis de pampo com peso semelhante e alimentados com dietas comerciais contendo 59 % de proteína bruta e 13 % de gordura. O fato do crescimento dos peixes não ter sido prejudicado por essas deficiências nos leva a crer que as exigências aminoacídicas calculadas com base no perfil de aminoácidos da carcaça de pampas, possam ter sido superestimadas.

A deficiência aminoacídica mais marcante das dietas é, com certeza, de taurina. Este aminoácido em mamíferos pode ser sintetizado na via da metionina / cisteína pela ornitina descarboxilase, no entanto a síntese de taurina é baixa em peixes carnívoros (Goto et al. 2001). Sua característica alcalina lhe confere um papel orexígeno para peixes carnívoros, e juntamente com a glicina, a prolina e a valina são os grandes promotores de apetite nestes animais (NRC 2011). Além da ínfima concentração de taurina, a dieta CPS100 apresenta uma redução de 63 % de glicina e de 21 % de prolina, isso pode ser um fator determinante para a redução do consumo de ração verificado neste tratamento.

A suplementação com taurina em dietas contendo fontes proteicas vegetais vem sendo investigada para muitos teleósteos (Watson et al. 2014) e se tem encontrado melhora no crescimento e na conversão alimentar (Kim et al. 2005; Takagi et al 2008). Para *Oncorhynchus mykiss* a suplementação de 1,5 % de taurina melhorou o crescimento dos peixes em relação à dieta não suplementada (Gaylord et al. 2006). O mesmo foi constatado para juvenis de *Rachycentron canadum* com suplementações entre 0,5 e 1,5 % (Watson et al. 2012). Para *Paralichthys olivaceus* a suplementação

de 1,5 % de taurina dobrou a concentração de sais biliares, sendo que 95 % destes são sais dependentes da taurina para sua conjugação (Kim et al. 2008). Estes resultados demonstram a importância da taurina no processo de digestão alcalina e pode ajudar a explicar o menor crescimento de juvenis de pampo alimentados com CPS100, uma vez que a concentração de taurina nesta dieta é ínfima. Estes resultados nos permitem dizer que o concentrado proteico de soja é um bom substituto para farinha de peixe por seu alto teor proteico e bom perfil de aminoácidos, porém para viabilizar a substituição total da farinha de peixe por este ingrediente devem ser realizados trabalhos com a suplementação de metionina e principalmente taurina.

REFERÊNCIAS

- Arai, S. (1981). A purified test diet for Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fry. *Bulletin Japanese Society Scientifics Fisheries*, 47, 547-550.
- Cunha, V. L., Shei, M. R. P., Okamoto, M. H., Rodrigues, R. V., Sampaio, L. A. (2013). Feeding rate and frequency on juvenile pompano growth. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48, 950-954.
- Fernández, F., Miquel, A. G., Córdoba, M., Varas, M., Metón, I., Caseras, A., & Baanate, I. V. (2007). Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 343, 1-10.
- Gaylord, T. G., Teague, A. M., & Barrows, F. T. (2006). Taurine supplementation of all-plant protein diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 37, 509-517 .
- Goto, T., Takagi, S., Ichiki, T., Sakai, T., Endo, M., Yoshida, T., Ukawa, M., & Murata, H. (2001). Studies on the green liver in cultured red sea bream fed low level and non-fish meal diets: relationship between hepatic taurine and biliverdin levels. *Fishery Science*, 67, 58-63.
- Kim, S-K., Matsunari, H., Nomura, K., Tanaka, H., Yokoyama, M., Murata, Y., Ishihara, K., & Takeuchi, T. (2008). Effect of dietary taurine and lipid contents on conjugated bile acid composition and growth performance of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fishery Science*, 74, 875-881.
- Kim, S-K., Takeuchi, T., Yokoyama, M., Murata, Y., Kaneniwa, M., & Sakakura, Y. (2005). Effect of dietary taurine levels on growth and feeding behavior of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 250, 765-774.
- Kumar, S., Sahu, N. P., Pal, A. K., Sagar, V., Sinha, A. K., & Baruah, K. (2009). Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous alpha-amylase in the diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 301-315.
- Mitchell, H. H. (1964). Comparative nutrition of man and domestic animals. *Academic Press*, New York, NY.
- NRC (National Research Council). (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington (USA): *The National Academies Press*.

- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Endo, M., Yamashita, H., & Ukawa, M. (2008). Taurine is an essential nutrient for Yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed non-fish meal diets based on soy protein concentrate. *Aquaculture*, 280, 198-205.
- Watson, A. M., Barrows, F. T., & Place, A. R. (2014). Effects of graded taurine levels on juvenile cobia. *North American Journal of Aquaculture*, 76, 190-200.
- Watson, A. M., Kissil, G. W., Barrows, F. T., & Place, A. R. (2012). Developing a plant-based diet for Cobia *Rachycentron canadum*. *International Aquafeed*, 15:34-38.

CONCLUSÃO

- As exigências aminoacídicas de juvenis de *T. marginatus* são comuns à maioria dos teleósteos
- Até que sejam determinadas experimentalmente as exigências aminoacídicas estimadas nesta tese podem ser usadas como referência para formulação de dietas balanceadas para juvenis de *T. marginatus*
- Dietas contendo 43 % de proteína bruta são capazes de sustentar o crescimento somático de juvenis de *T. marginatus* e promovem melhor aproveitamento da proteína consumida.
- O consumo excessivo de proteína aumenta a concentração da transaminase oxalacética e, por conseguinte a taxa de excreção de amônia.
- É possível substituir a farinha de peixe por concentrado proteico de soja em até 75 % sem que haja prejuízo para o desenvolvimento de juvenis de *T. marginatus*.