

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE TRIPTOFANO PARA
O JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dirleise Pianesso

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE TRIPTOFANO PARA O
JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

Dirleise Pianesso

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em
Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. João Radünz Neto

Santa Maria, RS, Brasil

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Pianesso, Dirleise
Exigência nutricional de triptofano para o jundiá
(Rhamdia quelen) / Dirleise Pianesso.-2015.
59 p.; 30cm

Orientador: João Radünz Neto
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2015

1. Metabolismo hepático 2. Parâmetros digestivos 3.
Crescimento 4. Aminoácidos livres I. Radünz Neto, João
II. Título.

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Dirleise Pianesso. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: pianessodirleise@gmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado**

**EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE TRIPTOFANO PARA O JUNDIÁ
(*Rhamdia quelen*)**

elaborada por
Dirleise Pianesso

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA


João Radünz Neto, Dr.
(Presidente/Orientador)


João Batista Kochenborger Fernandes, Dr. (UNESP)


Rafael Lazzari, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 25 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me abençoado com a Vida e pela força concedida nessa caminhada.

A minha família: meus pais, Dirceu José e Judith Pianesso, pelo apoio e amor incondicional.

As minhas irmãs, Cláudia Raquel e Denise pelo apoio, compreensão e amizade. Aos meus sobrinhos Natieli e Lucas por entender minha ausência, e aos meus cunhados.

Ao Paulo, meu noivo...meu sincero agradecimento pelo apoio nessa etapa, pelo exemplo de dedicação e por fazer parte da minha vida.

Meu agradecimento a família do Paulo pela compreensão, apoio e amizade: Celso, Inês, Joviane e Elizeu.

Ao Professor João Radünz Neto pela oportunidade, orientação e pelo exemplo de competência e amor pelo trabalho.

À professora Leila Picolli da Silva, pelos ensinamentos, incentivo, paciência e contribuições.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), aos Professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia pelo ensino de qualidade e oportunidade.

Aos professores do curso de Zootecnia do Centro de Educação Superior do Norte do RS/UFSM pela contribuição em minha formação científica, em especial ao Professor Rafael Lazzari, por quem tenho tanta admiração, agradeço pela oportunidade, incentivo e exemplo que sempre foi.

À Olirta secretária do Programa de Pós-graduação em Zootecnia pela colaboração.

À Maria servidora do Departamento de Zootecnia, pela ajuda.

Ao Emir, servidor do Departamento de Zootecnia por nos conduzir a Passo Fundo para a compra dos peixes.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Piscicultura, pelos bons momentos, amizade, ensinamentos e auxílio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro (Processo 11/1175-1).

A empresa Mig-PLUS[®] Agroindustrial Ltda., pela doação da mistura vitamínica e mineral e aminoácidos sintéticos.

Muito obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE TRIPTOFANO PARA O JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

AUTOR: DIRLEISE PIANESSO

ORIENTADOR: JOÃO RADÜNZ NETO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 25 de fevereiro de 2015.

O conhecimento das exigências nutricionais dos peixes é fundamental para melhorar o aproveitamento dos nutrientes da dieta. Neste estudo foi estimada a exigência aminoacídica em triptofano para o jundiá por meio de um ensaio biológico em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Grupos de 30 peixes ($4,65 \pm 0,68$ g) foram estocados em tanques (125 L) e alimentados com dietas mistas, até a saciedade aparente, contendo diferentes concentrações de triptofano (0,10; 0,18; 0,26, 0,34; 0,42 g triptofano 100 g^{-1} da dieta). Após 60 dias, foram calculados o ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, coeficiente de retenção proteica, composição corporal, índices somáticos, e determinadas as concentrações de metabólitos plasmáticos, hepáticos e enzimas digestivas. Os dados foram submetidos a avaliação por meio de regressão não linear, *broken line* e polinomial. Ocorreu efeito altamente significativo ($P < 0,0001$) da inclusão de triptofano sobre o crescimento, o coeficiente de retenção proteica e atividade de protease ácida. Os peixes alimentados com estas concentrações de triptofano não apresentaram alterações no metabolismo e atividade de enzimas digestivas. A menor concentração testada (0,10 g triptofano 100 g^{-1}) proporcionou menor crescimento e deposição de nutrientes no organismo. Os peixes alimentados com níveis inadequados de triptofano apresentaram crescimento reduzido, índice hepatossomático superior e alterações enzimáticas e metabólicas, indicando processos gliconeogênicos. A exigência aminoacídica estimada de triptofano para o máximo ganho em peso e coeficiente de retenção proteica está entre 0,25 e 0,34 g triptofano 100 g^{-1} , dependendo do modelo estatístico utilizado para a estimativa.

Palavras-chave: Metabolismo hepático. Parâmetros digestivos. Crescimento. Aminoácidos livres.

ABSTRACT

Master of Dissertation
Post-Graduate Program in Animal Science
Federal University of Santa Maria

NUTRITIONAL REQUIREMENT OF TRYPTOPHAN FOR THE SILVER CATFISH (*Rhamdia quelen*)

AUTHOR: DIRLEISE PIANESSO

ADVISER: JOÃO RADÜNZ NETO

Date and Defense's Place: Santa Maria, February 25th, 2015.

Knowledge about the nutritional requirements of fish is essential to improve the utilization of nutrients the diet. This study estimated the amino acid tryptophan requirement for silver catfish using a biological assay in a completely randomized design with five treatments and four replications. Groups of 30 fish (4.65 ± 0.68 g) were stocked in tanks (125 L) and fed diets mixed, to apparent satiation, containing different concentrations of tryptophan (0.10, 0.18, 0.26, 0.34, 0.42 g⁻¹ tryptophan 100 g diet). After 60 days, were calculated the weight gain, specific growth rate, feed conversion, protein retention coefficient, body composition, somatic indices, and determined the concentrations of plasma metabolites, liver and digestive enzymes. The data were subjected to evaluation by means of nonlinear regression, broken line and polynomial. There was a highly significant effect ($P < 0.0001$) the addition of tryptophan on growth, protein retention coefficient and acid protease activity. Fish fed these concentrations of tryptophan presented no alterations in metabolism and activity of digestive enzymes. The lowest concentration tested (0.10 g tryptophan 100 g⁻¹) showed lower growth and deposition of nutrients in the body. Fish fed inadequate levels of tryptophan have submitted reduced growth, higher hepatosomatic index, alterations metabolics and enzymatic indicating gluconeogenic processes. The estimated amino acid requirement of tryptophan for maximum weight gain and protein retention coefficient is 0.25 to 0.34 g tryptophan 100 g⁻¹ depending on the statistical model used for the estimation.

Keywords: Hepatic metabolism. Digestive parameters. Growth. Free aminoacids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Fórmula estequiométrica do aminoácido triptofano.....	18
Figura 2 -	Estimativa da exigência dietética em triptofano de jundiás considerando o ganho em peso, analisado pelo método matemático de regressão polinomial (a) ($P<0,0001$) e <i>broken line</i> (b) ($P<0,0001$).....	35
Figura 3 -	Estimativa da exigência dietética em triptofano de jundiás considerando o coeficiente de retenção proteica (CRP), analisado pelo método matemático de regressão polinomial (a) ($P<0,0001$) e <i>broken line</i> (b) ($P<0,0001$).....	39
Figura 4 -	Atividade de protease ácida no estômago de jundiás alimentados com diferentes concentrações de triptofano nas dietas analisado pelo método matemático de regressão polinomial (a) ($P<0,0001$) e <i>broken line</i> (b) ($P<0,0001$).....	44
Figura 5 -	Exigência dietética em triptofano de jundiás considerando o ganho em peso (GP), analisado pela combinação do modelo de regressão polinomial e <i>broken line</i>	48
Figura 6 -	Exigência em triptofano de jundiás considerando o coeficiente de retenção proteica (CRP), analisado pela combinação do modelo de regressão polinomial e <i>broken line</i>	48
Figura 7 -	Nível ótimo de triptofano para a máxima atividade de protease ácida de jundiás, analisado pela combinação do modelo de regressão polinomial e <i>broken line</i>	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Exigência nutricional em triptofano (Trp) para diferentes espécies de peixes.....	21
Tabela 2 -	Formulação das dietas experimentais (g 100 g ⁻¹).....	26
Tabela 3 -	Composição das dietas experimentais (% na matéria natural).....	27
Tabela 4 -	Desempenho de jundiás (peso corporal inicial, 4,65 ± 0,68 g) alimentados com dietas contendo níveis de triptofano durante sessenta dias.....	34
Tabela 5 -	Composição centesimal e deposição corporal de proteína e gordura de jundiás alimentados com dietas contendo níveis de triptofano.....	38
Tabela 6 -	Índices somáticos e sobrevivência de jundiás alimentados com dietas contendo níveis de triptofano.....	40
Tabela 7 -	Bioquímica plasmática de jundiás alimentados com dietas contendo níveis de triptofano.....	41
Tabela 8 -	Metabolismo hepático e atividade das enzimas digestivas de jundiás submetidos aos níveis de triptofano na dieta.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Aminoácido
AAE	Aminoácidos essenciais
AANCL	Aminoácidos neutros de cadeia longa
AANE	Aminoácidos não-essenciais
AAs	Aminoácidos
ALT	Alanina aminotransferase
BTEE	N-Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester
CA	Conversão alimentar
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
CCK	Colecistocinina
CRP	Coeficiente de retenção proteica
DGC	Deposição de gordura corporal
DPC	Deposição de proteína corporal
EA	Eficiência alimentar
ED	Energia digestível
epm	Erro padrão da média
Gord	Gordura corporal
GP	Ganho em peso
GPR	Ganho em peso relativo
IDS	Índice digestivo-somático
IGV	Índice de gordura visceral
IHS	Índice hepatossomático
KCl	Cloreto de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
Min	Minutos
Na/K	Bomba sódio/potássio
NaOH	Hidróxido de sódio
PB	Proteína bruta
PBC	Proteína bruta corporal
PCF	Peso corporal final
PCI	Peso corporal inicial
TAME	N _α -p-Tosyl-L-arginine methyl ester hydrochloride
TCA	Ácido tricloroacético
TCE	Taxa de crescimento específico
Tris	(Hidroximetil) Aminometano
Trp	Triptofano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	13
2.1	Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	13
2.2	Proteína na alimentação de peixes	14
2.3	Exigência em aminoácidos	16
2.4	Triptofano.....	17
2.5	Metabolismo de compostos nitrogenados em peixes.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1	Procedimentos experimentais	25
3.2	Dietas experimentais.....	25
3.3	Análises e mensurações	28
3.3.1	Qualidade da água.....	28
3.3.2	Coleta de amostras	28
3.3.3	Análises químicas	28
3.3.4	Desempenho produtivo	29
3.3.5	Análises plasmáticas	30
3.3.6	Índices somáticos.....	30
3.3.7	Metabolismo hepático e enzimas digestivas.....	30
3.3.8	Análises estatísticas	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5	CONCLUSÃO	46
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Aliado ao aumento na produção de organismos aquáticos, está a crescente demanda por rações aquícolas de qualidade que atendam às exigências nutricionais dos peixes e permitam o aumento na produtividade de espécies de valor econômico, com menor impacto ambiental (SILVA et al., 2007).

Embora a produção brasileira de pescado baseie-se em espécies exóticas como as carpas e a tilápia (*Oreochromis niloticus*) (MPA, 2012), a grande diversidade de espécies nativas aponta novas possibilidades para a piscicultura brasileira. No Sul do Brasil destaca-se o jundiá (*Rhamdia quelen*), que é um peixe tolerante às baixas temperaturas quando comparado às espécies exóticas, que podem ter o crescimento reduzido ou estacionado, devido ao frio intenso de algumas regiões (FRACALOSSI; ZANIBONI FILHO; MEURER, 2002). A carência de informações limita a expansão do cultivo das espécies nativas brasileiras, portanto, conhecer as exigências nutricionais do jundiá é fundamental para o desenvolvimento da produção e exploração viável desta espécie.

São escassos os estudos sobre as exigências nutricionais para o jundiá, destacando-se a determinação em proteína e energia (MEYER; FRACALOSSI, 2004; SALHI et al., 2004) em lisina (MONTES-GIRAO; FRACALOSSI, 2006), arginina (MASCHIO, 2013) e em metionina (ROTILI, 2014). Recentemente, Corrêa (2013) propôs a inclusão de farinha de peixe em dietas semipurificadas para determinar as exigências nutricionais desta espécie visando melhorar o desenvolvimento dos peixes.

Os ingredientes vegetais como o milho, utilizados na formulação de dietas para peixes são geralmente limitantes em lisina, arginina, metionina e triptofano (COLOSO et al., 2004). O triptofano, aminoácido essencial para síntese proteica também é precursor da serotonina, niacina e melatonina (COLOSO et al., 2004), além de estar envolvido na síntese de insulina (DYER et al., 2004). Dietas deficientes em triptofano reduziram o crescimento (ABIDI; KHAN, 2010; AHMED, 2012), levaram ao surgimento de escoliose e lordose além de níveis elevados de minerais (Ca, Mg, Na) no fígado e rim (WALTON et al., 1984) de algumas espécies de peixes. A suplementação desse aminoácido na dieta de acordo com a exigência é uma prioridade, o que não só melhora os índices de crescimento e de rentabilidade, mas também contribui para a redução da carga orgânica no sistema de criação (AHMED, 2012).

O desempenho dos animais é utilizado como base nos estudos sobre exigências nutricionais, e pouco se sabe sobre a influência de determinadas dietas em variáveis

metabólicas, principalmente com relação às espécies nativas. Alterações metabólicas podem auxiliar na compreensão da dinâmica digestiva dos nutrientes das dietas e na capacidade dos peixes frente às diferentes condições alimentares (LUNDSTEDT; MELO; MORAES, 2004; MELO et al., 2006).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi estimar a exigência aminoacídica em triptofano, considerando o crescimento, composição corporal, retenção de nutrientes, metabólitos plasmáticos hepáticos e atividade de enzimas digestivas de jundiás.

Inicialmente é apresentado neste documento uma breve revisão bibliográfica sobre aspectos relacionados à estimativa das exigências nutricionais e, posteriormente, os resultados do estudo desenvolvido a partir da condução de um ensaio biológico, referente aos efeitos dos níveis de triptofano na dieta sobre o crescimento, atividade de enzimas digestivas e respostas metabólicas dos jundiás.

2. ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

2.1 Jundiá (*Rhamdia quelen*)

O jundiá, bagre nativo da Região Sul do Brasil pertence à ordem dos siluriformes, sua distribuição se dá desde a região sudeste do México até a região central da Argentina (BALDISSEROTTO, 2004). Essa espécie habita lagos e poços fundos dos rios, preferindo ambientes de águas lânticas. A alimentação em ambiente natural ocorre preferencialmente à noite. As larvas alimentam-se de zooplâncton e os adultos são onívoros, com preferência por peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (BALDISSEROTTO; SILVA, 2004).

Por ser um peixe nativo, é mais tolerante às baixas temperaturas, além disso, apresenta rápida adaptação e bom crescimento em sistemas intensivos de criação mesmo nos meses de inverno (FRACALOSSO; ZANIBONI FILHO; MEURER, 2002). Entre os consumidores o jundiá é uma espécie que possui boa aceitação, devido à qualidade da carne e por não conter espinhos intramusculares (GOMES et al., 2000).

O jundiá exige adequado manejo alimentar desde os primeiros dias de vida (RADÜNZ NETO, 2004). As características anatômicas como trato gastrintestinal simples, sem cecos pilóricos o tornam semelhante aos peixes carnívoros indicando tratar-se de um onívoro exigente (BALDISSEROTTO, 2009; FRACALOSSO et al., 2007). Alguns estudos foram realizados sobre a nutrição de larvas (2 mg) (CARDOSO et al., 2004; LAZZARI et al., 2004), indicando que o fígado cru de aves em substituição ao fígado bovino, em rações granuladas proporciona melhores resultados para pós-larvas de jundiá, sendo que o uso de hidrolisados de peixes ou de fígado de aves não melhora a sobrevivência e o crescimento. Alevinos de jundiá (4 g) podem ser alimentados com dietas contendo farelo de soja e levedura de cana em substituição a farinha de carne e ossos, entretanto, a qualidade e digestibilidade da farinha de origem animal deve ser conhecida (COLDEBELLA; RADÜNZ NETO, 2002).

Para recria de jundiás (15 g), melhores índices de crescimento são obtidos quando fornecidas dietas contendo fontes de origem animal (farinha de peixe ou de carne e ossos) combinadas com farelo de soja (LAZZARI et al., 2008). PEDRON e colaboradores (2008) estudando fontes de fibra para jundiás (129 g), indicam que a casca de soja ou de algodão são boas fontes de fibra quando incluídas em até 10% na dieta. É necessária a inclusão de pelo

menos uma fonte de origem animal associada a fontes proteicas vegetais na dieta do jundiá, devido à exigência desta espécie quanto à qualidade da proteína dietária (LAZZARI et al., 2006).

A criação do jundiá em cativeiro exige alimentação adequada para o seu bom desenvolvimento. Para isso é necessária a determinação da exigência nutricional em aminoácidos em cada fase de crescimento, melhorando o aproveitamento dos nutrientes e reduzindo a excreção de compostos nitrogenados no ambiente de cultivo.

2.2 Proteína na alimentação de peixes

A proteína é o principal constituinte orgânico do tecido dos peixes, correspondendo de 65 a 70% do total de matéria seca corporal. As proteínas são responsáveis pela estrutura (músculo, colágeno e queratina), regulação do metabolismo (enzimas e hormônios), transporte (hemoglobina) e defesa (anticorpos) (PORTZ; FURUYA, 2012). A constituição básica das proteínas são os aminoácidos (AAs), que possuem um átomo central (carbono alfa - α) ligado a um grupo amina, um átomo de hidrogênio e um grupo carboxílico. Além disso, o átomo de carbono α encontra-se ligado a um grupo químico específico (radical), o qual definirá cada um dos 20 AAs comuns.

As dietas formuladas para peixes durante muito tempo foram baseadas na exigência em proteína bruta, mas o avanço no conhecimento e utilização de aminoácidos industriais nas rações tornou necessária à suplementação dos aminoácidos essenciais (AAE) em cada fase de crescimento (PORTZ; FURUYA, 2012). As fases iniciais caracterizam-se por um maior aporte nutricional devido as aceleradas taxas de crescimento (PEZZATO et al., 2004), e os peixes jovens depositam menos gordura e mais proteína corporal do que os peixes de maior porte (PORTZ; FURUYA, 2012).

Os aminoácidos oriundos da digestão podem seguir duas vias: a anabólica, para a síntese de novas proteínas funcionais ou a via catabólica, na qual as proteínas desaminadas do músculo produzirão esqueletos carbônicos usados como fonte de energia, sendo uma via indesejável nutricionalmente (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002). O fornecimento de proteína aquém da necessidade mínima resulta em diminuição ou interrupção do crescimento e na mobilização de proteína de tecidos (músculo, por exemplo) para manutenção

das funções vitais. Quando é fornecida em excesso na dieta, o excedente será transformado em energia ou eliminado na forma de nitrogênio amoniacal no ambiente (BICUDO, 2008).

Testando dietas semipurificadas à base de gelatina e caseína com cinco níveis de proteína bruta e dois de energia metabolizável calculada, para alevinos de jundiá ($1,52 \pm 0,34$ g), Meyer e Fracalossi (2004) determinaram uma exigência proteica de 37,3 ou 32,6% para 3200 e 3650 kcal de energia metabolizável/kg, respectivamente. Salhi et al. (2004) encontraram resultados semelhantes para exigência nutricional em proteína e energia de alevinos de jundiá (0,3 g), observando um melhor resultado ao nível de 37% de PB e 3400 kcal de energia digestível/kg.

A proteína das dietas (purificadas e semi purificadas) utilizadas para determinação da exigência em aminoácidos são geralmente compostas por gelatina, caseína e AAs sintéticos (MONTES-GIRAO; FRACALOSSO, 2006; MORO et al., 2010). A absorção é mais rápida quando são utilizados AAs livres ou proteínas hidrolisadas (caseína e gelatina) do que as proteínas intactas (farinha de peixe), que serão hidrolisadas para posteriormente ocorrer a absorção dos nutrientes (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009). A rápida disponibilidade de AAs pode levar a uma saturação no transporte intestinal, acarretando em desequilíbrio na absorção dos mesmos afetando a retenção proteica (ARAGÃO et al., 2004). Em experimentos para determinação da exigência nutricional, com utilização de fontes purificadas e semi purificadas, têm-se observado um desempenho insatisfatório dos peixes (CORRÊIA, 2013) fato que pode estar relacionado com a rápida absorção dos nutrientes destes ingredientes.

A farinha de peixe é considerada como uma fonte padrão em dietas experimentais devido ao seu elevado valor biológico e equilíbrio em aminoácidos (PORTZ; FURUYA, 2012). Trabalhando com farinha de jundiá (resíduos e peixes inteiros de descarte), Rossato e colaboradores (2013) concluíram que a farinha de jundiá pode ser utilizada em dietas para peixes sem causar distúrbios no metabolismo dos animais. A combinação de caseína e farinha de peixe promoveu o melhor desempenho zootécnico podendo ser utilizada para determinação das exigências nutricionais de jundiás (9,83 g) (CORRÊIA, 2013). Segundo Ambardekar; Reigh e Williams (2009), as combinações de proteína semipurificada e intacta na dieta proporcionam sincronismo e ritmo mais constante na disponibilidade dos AAs melhorando a palatabilidade das dietas e o desempenho dos animais.

2.3 Exigência em aminoácidos

Os peixes apresentam exigências na mistura balanceada de aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) na dieta, para síntese proteica e crescimento. Os AAE são aqueles que os animais não podem sintetizar, ou não sintetizam em quantidade suficiente para a manutenção de boas taxas de crescimento. Os AAs que podem ser sintetizados a partir de outros compostos são chamados AANE ou dispensáveis. Os AAE são a arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina e os AANE são a alanina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutâmico, glicina, prolina, tirosina, cistina, e serina (NRC, 2011).

No final da década de 1950, John Halver e colaboradores fizeram as primeiras tentativas para a determinação das exigências nutricionais em proteína e aminoácidos para salmão, *Oncorhynchus tshawytscha* (HALVER, 1957). Essas avaliações foram realizadas em experimentos dose-resposta com dietas semipurificadas formuladas com base no perfil de aminoácidos do ovo de galinha, de ovas ou o saco vitelínico das larvas do salmão. O melhor desempenho (taxa de crescimento e eficiência alimentar) foi verificado nos peixes alimentados com dietas que continham o perfil de AAs do ovo de galinha, por isso que as estimativas das exigências nutricionais para diferentes espécies de peixes tem utilizado este modelo como base.

Estudos sobre as exigências nutricionais podem ser conduzidos pelo incremento, redução ou remoção do nutriente avaliado (NRC, 2011). As exigências nutricionais em peixes são usualmente determinadas em ensaios de dose-resposta (WILSON, 2002), ocorrendo frequentemente sinais de toxicidade, diminuição da ingestão alimentar ou, ainda, gasto metabólico para excreção que compromete o crescimento quando utilizam-se níveis mais elevados de inclusão do nutriente testado. Sendo assim, a concentração dos nutrientes deve ser feita de modo que ultrapasse a porção ascendente da curva de dose-resposta garantindo o alcance da máxima resposta (FRACALOSSI et al., 2012).

Estudos referentes às exigências nutricionais em AAs para o jundiá ainda são incipientes, entretanto, a importância econômica, produtiva e ambiental fazem destes trabalhos importantes ferramentas para maximização do cultivo dessa espécie. Meyer e Fracalossi (2005) realizaram a estimativa das exigências em AAs para o jundiá, relacionando as exigências de outros peixes onívoros com o perfil de AAs corporal de jundiás selvagens e

cultivados. Entretanto, o uso do perfil de AAE corporal só deve ser utilizado para estimar a exigência em peixes na ausência de dados experimentais (BICUDO; SADO; CYRINO, 2009).

Montes-Girao e Fracalossi (2006) determinaram a exigência em lisina para o jundiá ($1,5 \pm 0,1$ g) em experimento dose resposta, utilizando dois modelos estatísticos para analisar os dados, concluindo por *broken line* uma exigência de 4,5% da proteína, e por regressão polinomial a exigência de 5,1%. A exigência em arginina foi estimada para jundiás ($3,00 \pm 0,3$ g). Em experimento dose resposta, utilizando caseína e gelatina como fontes proteicas, o nível ótimo de inclusão de arginina foi de 5,8% quando as dietas continham 6,65% de lisina nas frações proteicas (MASCHIO, 2013). Com dietas mistas (contendo 0,07% de cistina) foi estimada a exigência de metionina para jundiás ($3,26 \pm 0,3$ g), sendo o máximo ganho em peso relativo e taxa de crescimento específico superior observados nos peixes alimentados com dietas contendo 3,59 e 3,46% deste aminoácido na fração proteica ou 1,33 e 1,28% da dieta (ROTILI, 2014).

A capacidade do organismo em absorver os AAs é nivelada pelo AAE presente em menor quantidade na dieta, sendo que, o não atendimento das exigências nutricionais de um AA comprometerá a absorção dos demais (PORTZ; FURUYA, 2012). Estes mesmos autores relatam que o excesso ou deficiência dos AAE pode levar a um desequilíbrio na relação e interações entre os mesmos, causando sintomas metabólicos que afetam a taxa de ingestão, o transporte de nutrientes o catabolismo e a taxa de síntese e degradação de tecido muscular.

2.4 Triptofano

O triptofano (Trp) $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (Figura 1) assim como a tirosina e fenilalanina pertencem ao grupo dos aminoácidos R-aromáticos, com cadeias laterais aromáticas, apolar e hidrofóbico (LEHNINGER, 2007).

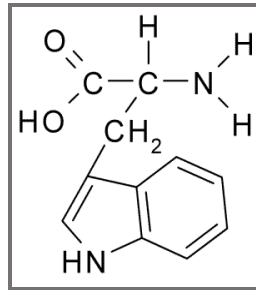


Figura 1 - Fórmula estequiométrica do aminoácido triptofano

A essencialidade do Trp não se deve apenas à sua contribuição para o crescimento e síntese proteica, também está envolvido em outras vias metabólicas importantes para o metabolismo dos animais (ROSSI; TIRAPEGUI, 2004). Uma dessas vias é a produção de serotonina, realizada pelos nervos serotoninérgicos, por meio da oxidação do Trp. Pela ação da enzima triptofano-5-monooxigenase ocorre a hidroxilação do Trp em 5-hidroxitriptofano que posteriormente, é descarboxilado pela ação da enzima aminoácido descarboxilase em 5-hidroxitriptamina (serotonina). A serotonina é convertida em N-acetilserotonina (fase de escuro) pela enzima serotonina-N-acetiltransferase, que é limitante da síntese de melatonina na glândula pineal. A N-acetilserotonina é então convertida em melatonina (5-metoxi-N-acetilriptamina) pela enzima hidroxindol-O-metiltransferase (FÁLCON et al., 2010).

A melatonina ($C_{13}H_{16}N_2O_2$) é o hormônio responsável pela percepção e o processamento da informação fótica, esses eventos são importantes na regulação de diferentes funções do organismo. É produzida principalmente pela glândula pineal e retina a partir da conversão de serotonina, sendo regulada diretamente pelo ciclo diário de luz/escuro. É sintetizada de maneira rítmica, sendo liberada durante o período escuro e inibida em presença de luz (NIKAIDO; UEDA; TAKEMURA, 2009). O hormônio melatonina é importante para uma série de eventos fisiológicos relacionados a nutrição, reprodução, crescimento e parece ter ação antioxidante em peixes (DIAS et al., 2013).

Aminoácidos neutros de cadeia longa (AANCL: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina e tirosina) competem com o Trp pelos mesmos sítios de absorção nas membranas celulares, tanto no intestino como no cérebro. O desequilíbrio na relação entre AANCL/Trp no plasma influencia a síntese de serotonina, tendo como consequência menor produção desse neurotransmissor, diminuindo o consumo voluntário em suínos (HENRY et al., 1992).

A administração de serotonina promoveu redução do peso em *Carassius auratus* (DE PEDRO et al., 1998) e no *Dicentrarchus labrax* (RUBIO; SANCHEZ-VAZQUEZ;

MADRID, 2006) podendo estar associada a inibição da ingestão de alimento. Entretanto, larvas de *Brycon amazonicus* recebendo dietas com níveis de Trp, apresentaram aumento no ganho em peso em níveis mais elevados (0,74; 1,48 e 2,96%) quando comparadas as alimentadas com a dieta controle (0,37%) (HOSHIBA, 2011). Este resultado pode estar associado à ingestão de alimentos estimulada pelo Trp (WINBERG; OVERLI; LEPAGE, 2001) e ao atendimento mais eficiente da exigência protéica em relação a composição de aminoácidos.

A suplementação de triptofano na dieta de *Oncorhynchus mykiss* promoveu inibição do comportamento agressivo (WINBERG; OVERLI; LEPAGE, 2001) e diminuiu o número de ataques entre os peixes (LEPAGE et al., 2005) sugerindo que este aminoácido tem participação na redução da agressividade. O Trp pode estar atuando no eixo hipotálamo-hipófise-interrenal, aumentando o nível de serotonina e dessa forma reduzindo a agressividade, minimizando o estresse causado pela perseguição entre os animais (HÖGLUND et al., 2005).

O Trp é precursor metabólico da niacina ($C_6H_5NO_2$), sendo esta a única vitamina que tem um aminoácido como precursor (AHMED, 2010). Associado a essa vitamina, interfere no metabolismo de proteínas e lipídios, além disso, está envolvido na secreção de insulina e hormônio do crescimento (ROSSI; TIRAPEGUI, 2004; DYER et al., 2004). Uma parte do Trp pode ser convertida biologicamente à niacina, sendo as enzimas envolvidas nesse processo dependentes de riboflavina, piridoxina e ferro. Essa vitamina participa da formação das coenzimas NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e NADP (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato), responsáveis pela transferência de elétrons e hidrogênio de enzimas participantes do metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas (DE MARIA; MOREIRA, 2011). A conversão do Trp em niacina é uma via ineficiente em salmonídeos e bagre do canal, sugerindo que a niacina deve ser prevista na dieta (NG et al., 1997).

Trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) apresentaram escoliose e lordose quando alimentadas com dietas deficientes em triptofano (WALTON et al., 1984). Estas deformidades podem estar relacionadas com a diminuição de serotonina no organismo ou no cérebro, entretanto esta é uma condição transitória podendo desaparecer quando são fornecidas dietas contendo o nível habitual de Trp (AKIYAMA; MURAI; MORI, 1986). Walton e colaboradores (1984) também relataram aumento dos níveis hepáticos e renais de cálcio, magnésio, sódio e potássio para esta mesma espécie, os autores relatam que essa condição possa ser resultante de uma alteração no metabolismo de Trp.

Dietas deficientes em Trp limitam a síntese proteica, resultando em pobre crescimento e retenção de nutrientes em diferentes espécies de peixes como: *Oncorhynchus mykiss* (POSTON; RUMSEY, 1983), *Oreochromis niloticus* (SANTIAGO; LOVELL, 1988), *Catla catla* (RAVI; DEVARAJ, 1991; ZEHRA; KHAN, 2014), *Heteropneustes fossilis* (AHMED, 2012). Alterações em parâmetros hepáticos e sanguíneos, já foram observados em peixes alimentados com dietas deficientes em Trp, indicando instabilidade na função hepática (AHMED, 2012). Quando os peixes são alimentados com dietas deficientes em um AAE, os outros AAs presentes em excesso ou em níveis adequados são desaminados e oxidados (para energia), comprometendo a síntese de proteínas (KIM; KAYES; AMUNDSON, 1987).

A estimativa da exigência em Trp foi definida para um número limitado de espécies de peixes cultivados (Tabela 1). Segundo o NRC (2011), a exigência deste AA para as diferentes espécies estudadas está entre 0,1 a 0,5% da dieta ou 0,5 a 1% da proteína contida nas dietas.

A variação observada no nível de exigência de Trp entre espécies e mesmo na mesma espécie pode ser devido às diferenças nas metodologias utilizadas, tais como: as fontes proteicas e o perfil de aminoácidos da dieta, bem como a digestibilidade destes ingredientes, os níveis adequados de outros nutrientes, as condições do cultivo adotadas nos laboratórios como a frequência alimentar, densidade de estocagem, temperatura e vazão da água. Essa variabilidade também pode estar relacionada a diferenças entre as espécies como o hábito alimentar, tamanho e idade dos peixes (PEZZATO et al., 2004; COLOSO et al., 2004).

Tabela 1 – Exigência nutricional em triptofano (Trp) para diferentes espécies de peixes

Espécie	Triptofano		PB (%) dieta	Referência
	% dieta	% PB dieta		
<i>Ictalurus punctatus</i>	0,1	0,5	24	WILSON et al. (1978)
<i>Clarias gariepinus</i>	0,44	1,10	40	FAGBENRO; NWANNA (1999)
<i>Cirrhinus mrigala</i>	0,38	0,95	40	AHMED; KHAN (2005)
<i>Heteropneustes fossilis</i>	0,32	0,80	40	AHMED (2012)
<i>Cyprinus carpio</i>	0,30	0,80	48	NOSE (1979)
<i>Oreochromis niloticus</i>	0,48	1,00	28	SANTIAGO; LOVELL (1988)
<i>Catla catla</i>	0,38	0,95	40	RAVI; DEVARAJ (1991)
	0,21-0,25	0,64-0,76	33	ZEHRA; KHAN (2014)
<i>Labeo rohita</i>	0,36-0,38	0,90-0,95	40	ABIDI; KHAN (2010)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0,60	1,40	42	POSTON; RUMSEY (1983)
	0,30	0,40	55	WALTON et al. (1986)

Não existe consenso entre pesquisadores sobre qual o melhor método de análise estatística para a determinação das exigências nutricionais, entretanto, sabe-se que o modelo matemático assim como o delineamento experimental e a escolha das variáveis resposta influenciam os níveis estimados do nutriente testado. Este fato gera trabalhos que discutem as metodologias e suas aplicações.

Frequentemente, a análise de variância é utilizada em experimentos para estimar a exigência de um nutriente (WILSON et al., 1978; POSTON; RUMSEY, 1983; WALTON et al., 1984). O uso desta análise é inadequado, pois os níveis do nutriente são tratados como discretos quando na realidade são contínuos, sendo que o nível ideal pode estar entre o intervalo de dois níveis (SHEARER, 2000). Alguns pesquisadores têm questionado a utilização do modelo *broken line*, afirmando que essa análise descreve adequadamente a resposta de um indivíduo, mas não a resposta de uma população (ROBBINS; NORTON; BAKER, 1979; SHEARER, 2000; HERNANDES-LLAMAS, 2009). Entretanto, Portz; Dias e Cyrino (2000) ressaltam que os resultados obtidos com esta análise são confiáveis e coerentes. A regressão polinomial é bastante utilizada pois tem a vantagem de ser contínua e apropriada para análise de experimentos sobre exigência nutricional (FRACALOSSO et al., 2012).

Segundo Shearer (2000), as variáveis resposta podem ser analisadas usando um ou mais métodos estatísticos e a necessidade do nutriente, calculada a partir do nível que produz a máxima resposta. Em muitos trabalhos não é possível obter uma conclusão definitiva e os autores preferem estabelecer valores de confiança, já que nas condições laboratoriais em que são realizados os estudos de nutrição é fácil controlar as variáveis ambientais. A sequência experimental ideal para validação dos resultados obtidos em laboratório, seria a avaliação da interação entre as variáveis resposta e os fatores bióticos e abióticos do ambiente prático (viveiros, tanques-rede) (FRACALOSSI et al., 2012).

Montes-Girao e Fracalossi (2006), estimaram a exigência dos AAE dos peixes utilizando na fórmula de proteína ideal a exigência em lisina, e o perfil de aminoácidos encontrado no tecido muscular do jundiá. Concluíram, que o requerimento do aminoácido triptofano pelo jundiá é de 0,9% (*broken line*) e 1,0% (regressão polinomial) da dieta. Atualmente devido à falta de informações, o nível de trp nas dietas do jundiá tem sido baseada na exigência do *Ictalurus punctatus*, podendo estes valores estarem sub ou superestimados.

2.5 Metabolismo de compostos nitrogenados em peixes

Para que os nutrientes ingeridos pelo peixe sejam utilizados para o crescimento e manutenção do metabolismo, precisam ser transformados em seus constituintes elementares e só então serem absorvidos pelo trato gastrointestinal do animal (RIEGEL, 2012).

O desdobramento dos polipeptídios alimentares tem início no estômago, onde a proteína ingerida é hidrolisada pela pepsina (protease ácida secretada pelo órgão que é ativada pelo ácido clorídrico), esta age preferencialmente em ligações peptídicas em que participa algum AA aromático (fenilalanina, tirosina ou triptofano) (RIEGEL, 2012). A secreção de pepsina e ácido clorídrico é estimulada pela gastrina (hormônio produzido na mucosa estomacal ou intestinal) e pela serotonina (neurotransmissor cerebral que também é produzido nas células cromafins do estômago e intestino) (BALDISSEROTTO, 2009).

Os fragmentos proteicos continuarão sendo hidrolisados ao alcançarem o intestino por enzimas pancreáticas (zimogênios) e outras da própria mucosa intestinal (enteropeptidase, aminodipeptidases e dipeptidases). Essas enzimas se completam, pois a enteropeptidase intestinal ativa os zimogênios pancreáticos. A colecistocinina (CCK) é o principal hormônio (produzida nas células I do intestino) envolvido nessa etapa estimulando a secreção de

enzimas pelo pâncreas e a contração da vesícula biliar (BALDISSEROTTO, 2009). No intestino, o trabalho da pepsina é finalizado pela ação da quimotripsina que hidrolisa as ligações peptídicas que estejam presentes AAs aromáticos (tirosina, fenilalanina e triptofano). Já a tripsina, possui maior habilidade em desdobrar as ligações contendo AAs básicos (lisina, arginina e histidina) (RIEGEL, 2012).

O intestino é formado por vilosidades intestinais que apresentam, capilares arteriais (levam o sangue para seu interior) e venosos (retiram o sangue e os nutrientes absorvidos). Essas vilosidades são revestidas pelos enterócitos (microvilosidades) onde ocorre a absorção dos nutrientes. A absorção dos AAs pode acontecer conjuntamente com a absorção de sódio (bomba Na/K), transportadores não-dependentes de sódio e por difusão. Do enterócito o aminoácido passa por difusão para os capilares sanguíneos (RIEGEL, 2012).

Quando dois AAs são absorvidos pelo mesmo transportador, a presença de grandes quantidades de um dos AAs ocupa todos os transportadores específicos disponíveis dificultando ou inibindo a absorção do outro AA. Alguns AAs podem ser absorvidos por mais de um tipo de transportador, sendo que nem todas as interações entre os AAs resultam em competição (BALDISSEROTTO, 2009).

Após a digestão os produtos resultantes são utilizados por uma variedade de tecidos e órgãos, onde ocorrem diferentes reações químicas. Essas reações constituem o metabolismo intermediário, que pode fornecer informações sobre o estado fisiológico e nutricional do peixe. Segundo Vieira e colaboradores (2005), mudanças na concentração dos metabólitos plasmáticos refletem ajustes bioquímicos do metabolismo às mudanças nas dietas. As concentrações plasmáticas dos diferentes constituintes, pode refletir o papel do sangue em transportar os diversos intermediários metabólicos (glicose, albumina, aminoácidos, colesterol, triglicerídeos, entre outros) entre os tecidos.

O fígado desempenha papel fundamental no metabolismo intermediário, por ser um centro de distribuição de nutrientes provenientes do alimento (LUNDSTEDT; MELO; MORAES, 2004) e o principal local de ocorrência de várias reações químicas importantes. Exerce função na manutenção dos AAs corpóreo, no metabolismo e na regulação do transporte destes para os tecidos (LOVELL, 1988). Também é responsável pela manutenção da glicemia, mantendo o aporte de energia para os tecidos por meio da glicólise, glicogenólise e gliconeogênese. Em peixes avaliar a via de aporte de glicose é essencial, já que as dietas naturais dos peixes possuem poucas fontes de carboidratos estes animais apresentam facilidade em utilizar fontes não glicídicas (gliconeogênese) para obtenção de energia e além disso, sabe-se que a mobilização de glicogênio em peixes é lenta (HALVER; HARDY, 2002).

A atividade de enzimas relacionadas ao catabolismo de AAs como a alanina aminotransferase pode ser indício de alterações no estado metabólico. O aumento dessa está relacionado com a gliconeogênese, podendo indicar excesso de AAs na dieta (MOYANO; CARDENTE; DE LA HIGUERA, 1991).

Além de ser componente das proteínas, os AAs desempenham numerosas funções nos peixes, sendo necessários para a síntese de outros compostos como hormônios, neurotransmissores e purinas. Quando em excesso, eles podem ser desaminados e os resíduos de carbono serem oxidados para suprir a demanda energética, utilizados para a síntese de lipídios ou de carboidratos (STONE; ALLAN; ANDERSON, 2003).

O fígado é o maior responsável pela produção de amônia do organismo (ALEXIS; PAPARASKEVA-PAPATSOGLIO, 1986). A amônia produzida é transportada pelo sangue até as brânquias, de onde é excretada para a água na forma de íon amônio (NH_4^+). Esse metabólito é resultante principalmente do catabolismo de aminoácidos (BOYCE, 1999). A quantificação das concentrações de amônia nos tecidos, pode ser indicadora dos efeitos nutricionais do metabolismo proteico (LUNDSTEDT; MELO; MORAES, 2004; MELO et al., 2006).

Mesmo fornecendo dietas elaboradas segundo as exigências nutricionais dos peixes, são necessários estudos sobre os aspectos relacionados a digestão e implicações metabólicas, que reflitam o aproveitamento do alimento frente às mudanças nas dietas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedimentos experimentais

Jundiás originários da Estação de Piscicultura da Universidade de Passo Fundo (Passo Fundo, RS), foram aclimatados as condições experimentais no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria. Foram selecionados 600 peixes ($4,65 \pm 0,68$ g e $8,25 \pm 0,48$ cm de peso e comprimento médio inicial, respectivamente), os quais foram estocados em 20 tanques (125 L) ligados a um sistema de recirculação de água fechado, equipado com filtragem mecânica e biológica e esterilizador UV Clarifier TetraPond® (GreenFree™ UV-2 18W). O fluxo de água foi de aproximadamente $2,7 \text{ L min}^{-1}$ tanque. Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente, três vezes por dia (08:30, 13:30 e 17:30 h) durante 60 dias. O consumo de ração foi mensurado diariamente para cada tanque e duas vezes ao dia (07:30 e 15:30 h) foi realizada a limpeza dos tanques por sifonagem.

3.2 Dietas experimentais

Foram elaboradas cinco dietas mistas, isoprotéicas e isocalóricas (SALHI et al., 2004), contendo farinha de peixe (CORRÊIA, 2013), caseína, gelatina e uma pré-mistura de aminoácidos sintéticos (Tabelas 2 e 3). O perfil de aminoácidos das dietas foi baseado no perfil de aminoácidos da albumina do ovo de galinha (SANTIAGO; LOVELL, 1988; WILSON, 2002) das exigências nutricionais conhecidas para o jundiá (MONTES-GIRAO; FRACALOSSO, 2006) e bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (NRC, 2011), com exceção do aminoácido teste (triptofano). Os níveis de L-triptofano foram incluídos em intervalos de $0,08 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (0,10, 0,18, 0,26, 0,34 e $0,42 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) das dietas. A quantidade de triptofano foi incluída em substituição a glutamina (WILSON et al., 1978) fixada em $3 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ da dieta basal ($0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de Trp). Foi mantida uma relação entre farinha de peixe-caseína-gelatina (7,05 x 6,75 x 8,69) para manter a quantidade mínima do aminoácido teste e as quantidades máximas dos demais aminoácidos (Tabela 3). Para preparação das dietas experimentais os

ingredientes secos foram homogeneizados manualmente, e em seguida adicionou-se o óleo e a água (10%). O pH das dietas foi ajustado para 7 com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 6 N (NOSE et al., 1974), evitando possíveis diferenças no consumo alimentar pela variação da palatabilidade. A mistura foi peletizada (4 mm) e seca em estufa (50 °C) durante 24 h, e posteriormente foram armazenadas (-18 °C) até o início da alimentação.

No decorrer do período experimental foram observadas sobras de ração no tratamento contendo o menor nível de triptofano (0,10 g 100 g⁻¹) o que contribuiu para os resultados de conversão alimentar (Tabela 4) observados neste tratamento.

Tabela 2 – Formulação das dietas experimentais (g 100 g⁻¹)

Ingredientes	Níveis de triptofano (g 100 g ⁻¹)				
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42
Farinha de peixe ¹	7,05	7,05	7,05	7,05	7,05
Caseína ²	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75
Gelatina ²	8,69	8,69	8,69	8,69	8,69
Premix de aminoácidos ³	21,47	21,47	21,47	21,47	21,47
Maltodextrina ⁴	29,00	29,00	29,00	29,00	29,00
Celulose ²	7,43	7,43	7,43	7,43	7,43
Óleo de canola	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Melbond ^{®5}	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Calcário dolomítico	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Fosfato bicálcico	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50
Mist. Vitamínica e mineral ⁶	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
BHT ^{®7}	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Sal	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>L-Triptofano</i>	0,00	0,08	0,16	0,24	0,32
<i>L-Glutamina</i>	3,00	2,92	2,84	2,76	2,68
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

¹ Laboratório de Piscicultura/UFSM. Utilizaram-se jundiás inteiros que não atingiram peso comercial. A farinha foi confeccionada seguindo metodologia de ROSSATO et al. (2013).

² Synth[®], Diadema/SP.

³ Premix de aminoácidos (%): L-lisina 3,86; L-metionina 4,42; L-alanina 6,72; L-arginina 2,25; L-fenilalanina; 6,45; L-glicina 6,35; L-histidina 3,27; L-isoleucina; 6,60; L-leucina 9,93; L-prolina; 5,83; L-serina 7,92; L-tirosina 5,12; L-treonina 6,47; L-valina 7,29; celulose 17,52.

⁴ D.N.A. Design Nutrição Avançada, Poços de Caldas/MG.

⁵ Lignosulfonato de cálcio e magnésio (Aglutinante e palatabilizante) – Ligno Tech Brasil[®], São Paulo/SP.

⁶ Composição da mistura vitamínica e mineral (kg/Mig Fish): ácido fólico 250 mg; ácido pantotênico 5.000 mg; antioxidante 0,60 g; biotina 125 mg; cobalto 25 mg; cobre 2.000 mg; ferro 820 mg; iodo 100 mg; manganês 3.750 mg; niacina 5.000 mg; selênio 75 mg; vitamina A 1.000.000 UI; vitamina B1 1.250 mg; vitamina B2 2.500 mg; vitamina B6 2.485 mg; vitamina B12 3.750 µg; vitamina C 28.000 mg; vitamina D3 500.000 UI; vitamina E 20.000 UI; vitamina K 5000 mg; zinco 17.500 mg. Mig Plus[®], Casca/RS.

⁷ Butil-hidroxil-tolueno (antioxidante).

Tabela 3 – Composição das dietas experimentais (% na matéria natural)

Composição proximal	Níveis de triptofano (g 100 g ⁻¹)				
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42
Proteína bruta ¹	36,85	36,83	36,97	36,92	36,64
ED (kcal/kg) ²	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00
Matéria seca ³	89,92	89,83	89,31	89,68	89,27
Matéria mineral ³	9,05	9,08	9,01	9,13	9,10
Gordura ³	5,39	4,78	5,38	4,95	4,99
FDN ^{3,4}	13,59	15,59	16,12	14,05	14,95
Cálcio ²	2,12	2,12	2,12	2,12	2,12
Fósforo ²	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03
Perfil de aminoácidos das dietas (g 100 g ⁻¹) ¹					
Aminoácidos essenciais					
Lisina	1,48	1,53	1,57	1,52	1,46
Metionina	1,17	1,12	1,14	1,15	1,11
Arginina	1,37	1,37	1,47	1,38	1,33
Fenilalanina	1,85	1,80	1,78	1,81	1,78
Histidina	0,69	0,71	0,71	0,69	0,69
Isoleucina	1,86	1,92	1,90	1,89	1,86
Leucina	3,09	3,08	3,09	3,03	2,98
Treonina	1,69	1,71	1,65	1,67	1,75
Valina	2,27	2,24	2,17	2,19	2,21
<i>Triptofano</i>	<i>0,13</i>	<i>0,15</i>	<i>0,24</i>	<i>0,32</i>	<i>0,38</i>
Aminoácidos não essenciais					
Ácido aspártico	1,26	1,24	1,31	1,27	1,32
Ácido glutâmico	5,72	5,64	5,66	5,56	5,59
Hidroxi-prolina	1,12	1,08	1,09	1,13	1,11
Serina	2,28	2,27	2,32	2,31	2,27
Glicina	3,82	3,84	3,70	3,86	3,78
Alanina	2,43	2,48	2,52	2,46	2,43
Prolina	3,06	3,10	3,12	3,13	3,08
Tirosina	1,49	1,51	1,47	1,47	1,46
Cistina	0,06	0,05	0,05	0,07	0,05

¹ Analisados - Laboratório de Fontes Proteicas – LaFoP/FEA/DEPAN/UNICAMP/SP.² Energia digestível, cálcio e fósforo= Calculados com base na análise dos ingredientes.³ Analisados – Laboratório de Piscicultura – DZ/UFMS/RS.⁴ FDN: fibra em detergente neutro (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS,1991).

3.3 Análises e mensurações

3.3.1 Qualidade da água

As variáveis de qualidade da água foram mensuradas semanalmente, por kits colorimétricos comerciais (Alfakit[®]), com exceção da temperatura e oxigênio dissolvido que foram aferidos com oxímetro digital (550A-YSI-YellowSprings-EUA[®]), diariamente. As médias foram: $7,40 \pm 0,23$ mg L⁻¹ de oxigênio dissolvido; $25,16 \pm 0,46$ °C de temperatura; $0,18 \pm 0,07$ mg L⁻¹ de amônia total; $0,08 \pm 0,06$ mg L⁻¹ para nitrito; $40,25 \pm 13,88$ mg CaCO₃ L⁻¹ para alcalinidade total; $7,44 \pm 0,10$ de pH e $42,89 \pm 18,77$ mg CaCO₃ L⁻¹ para dureza total, esses valores estão adequados para a criação do jundiá (BALDISSEROTTO; SILVA, 2004).

3.3.2 Coleta de amostras

Para a coleta dos dados de peso (g), comprimento (cm) e amostras de sangue (n=12) os peixes foram submetidos ao final do experimento a jejum de 12 h e anestesiados com solução de benzocaína (10%, 30 mg L⁻¹). Os peixes utilizados para compor amostras para análises de composição centesimal (n=8) e coleta de tecidos {fígado e trato digestório, após coleta de sangue (n=12)} foram eutanasiados com sobredose de benzocaína (10%, ≥ 250 mg L⁻¹), segundo a AVMA (2013). Os procedimentos realizados com os peixes neste estudo estão aprovados em seus aspectos éticos e metodológicos, pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UFSM (parecer n° 097/2013).

3.3.3 Análises químicas

A composição bromatológica das dietas (Tabela 3) e centesimal dos peixes seguiram as metodologias descritas pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). As amostras de peixes coletadas ao final do ensaio biológico foram homogeneizadas para determinação da composição centesimal final. O mesmo procedimento foi adotado para uma

amostra de 10 peixes ($4,65 \pm 0,68$ g) para determinar a composição inicial. A umidade foi obtida por secagem das amostras a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o peso constante; o teor de cinzas, por incineração em $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 h; a gordura pelo método de Bligh e Dyer (1959) e a proteína bruta do peixe inteiro pelo método de Kjeldahl ($\text{N} \times 6,25$). Nas amostras das rações a determinação do nitrogênio foi realizada por combustão/oxirredução (Dumas Nitrogen Analyzer – NDA, VELP® SCIENTIFICA, Usmate, MB, Italia).

A determinação do perfil de aminoácidos das dietas experimentais (Tabela 3) foi realizada após digestão ácida e básica por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O teor de triptofano foi determinado por método colorimétrico proposto por Spies (1967).

3.3.4 Desempenho produtivo

Ao final do período experimental os peixes foram pesados (em balança digital com sensibilidade de 0,01 g) e medidos (ictiometro graduado em cm). Os parâmetros produtivos foram calculados de acordo com Fracalossi et al. (2012), utilizando os dados de PCI e PCF= peso corporal inicial e final dos peixes (g), alimento consumido (g/peixe), análises de composição corporal e das dietas e analisa-se como segue:

- Ganho em peso (GP g) = (PCF – PCI);
- Ganho em peso relativo (GPR %) = (GP/PCI) x 100;
- Eficiência alimentar (EA) = GP/alimento consumido (matéria seca);
- Taxa de crescimento específico (TCE (% dia⁻¹)) = ((ln (PCF) - ln (PCI))/dias de alimentação) x 100;
- Conversão alimentar (CA) = alimento consumido (g)/GP (g);
- Sobrevivência (%) = (n° de peixes final * 100 / n° de peixes inicial);
- Deposição de proteína corporal: DPC (g) = (PCF x (%proteína bruta corporal final/100)) – (PCI x (%proteína bruta corporal inicial/100));
- Coeficiente de retenção proteica: CRP (%) = 100 x ((PCF x proteína bruta corporal final) – (PCI x proteína bruta corporal inicial)) / alimento consumido x proteína bruta da dieta (%);
- Deposição de gordura corporal: DGC (g) = (PCF x (% gordura corporal final/100)) – (PCI x (% gordura corporal inicial/100)).

3.3.5 Análises plasmáticas

Ao final do período experimental coletaram-se amostras de sangue por meio de punção na veia caudal usando seringas heparinizadas. As amostras foram acondicionadas em microtubos para serem centrifugadas (1200xg, 10 min a temperatura ambiente) e o plasma obtido foi armazenado e refrigerado (8 °C) para determinação das concentrações de: proteínas totais circulantes (g dL⁻¹), albumina (g dL⁻¹), globulinas (g dL⁻¹) (globulinas (g dL⁻¹) = Proteínas totais – albumina) e glicose (mg gL⁻¹) com kits colorimétricos comerciais (Doles[®]). Além destas, foi determinada a concentração de aminoácidos livres (SPIES, 1957).

3.3.6 Índices somáticos

Após a coleta de sangue os peixes foram abatidos e eviscerados para obtenção dos dados de: peso (g) e comprimento do peixe inteiro (cm), peso (g) e comprimento do trato digestório (cm), peso do fígado (g) e da gordura visceral (g) para calcular o: índice digestivo-somático: IDS (%)= (peso do trato digestório/peso do peixe inteiro) x 100; índice hepatossomático: IHS (%)= (peso fígado/peso do peixe inteiro) x 100 e índice de gordura visceral: IGV (%)= (peso da gordura visceral/peso inteiro) x 100. Após a pesagem, o trato digestivo foi separado em estômago e intestino total e congelado a -20 °C.

3.3.7 Metabolismo hepático e enzimas digestivas

Foram determinados os metabólitos hepáticos em amostras de fígado (50 mg), as quais foram aquecidas a 100 °C com hidróxido de potássio (KOH) para estimar a quantidade de proteína de acordo com Bradford (1976). Em uma alíquota desse extrato foi adicionado etanol para hidrolisar e precipitar o glicogênio, após centrifugação a 1000xg durante 10 min, foi determinada a glicose (PARK; JOHNSON, 1949). Amostras de fígado (50 mg) foram homogeneizadas em TCA 10%, centrifugadas (1000xg, 10 min), e o extrato celular foi utilizado para a quantificação de glicose (PARK; JOHNSON, 1949) e amônia (VERDOUW;

VAN ECHELD; DEKKERS, 1978). Outras amostras (50 mg) foram homogeneizadas com tampão fosfato de potássio 20 mM (pH 7,5), e em seguida foram centrifugadas a 1000xg durante 10 min, para determinar a quantidade de aminoácidos livres (SPIES, 1957) e mensurar a atividade enzimática da alanina aminotransferase (ALT) conforme metodologia descrita por Melo et al. (2006), utilizando-se kits colorimétricos (Doles[®] Reagentes e Equipamentos de Laboratório Ltda. Goiânia, Goiás).

Para análise de enzimas digestivas os tecidos (estômago e intestino) foram triturados (1:20 proporção tecido:tampão) em homogeneizador (Turrax - modelo MA 102, Marconi, Brasil). A solução tampão de homogeneização foi de 0,02 M Tris/0,01 M fosfato, pH 7,5 em 50% (v/v) de glicerol. Os homogeneizados foram centrifugados a 1200xg durante 10 minutos.

A atividade de protease ácida foi medida no estômago utilizando como substrato a caseína, de acordo com Hidalgo; Urea e Sanz (1999). O ensaio foi realizado utilizando um tampão de Cloreto de Potássio (KCl) 0,2 M, pH 1,8 e as amostras foram incubadas a 30 °C durante 40 min. A reação foi encerrada com ácido tricloroacético (TCA, 15%) e a absorbância registrada a 280 nm.

A atividade das proteases alcalinas (tripsina e quimotripsina) foram determinadas no intestino. A tripsina foi determinada com N_α-p-Tosyl-L-arginine methyl ester hydrochloride (TAME). Os extratos foram incubados (25 °C), em 2 ml de tampão (0,2 M Tris/0,01 CaCl₂), pH 8,1. Atividade de quimotripsina foi determinada com N-Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester (BTEE). Os extratos foram incubados em 1 ml de tampão (0,1 M Tris/0,1 CaCl₂), pH 7,8. Estas enzimas foram dosadas em duplicata e as atividades enzimáticas foram registradas a 247 e 256 nm, respectivamente, de acordo com Hummel (1959).

3.3.8 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk ($P > 0,05$) (SAS[®]). As variáveis albumina plasmática e ALT hepática, índices digestivo somático e de gordura visceral e a atividade da tripsina e quimotripsina foram transformadas para o logaritmo (LOG_{10}). As concentrações de aminoácidos livres do plasma e fígado e sobrevivência foram transformadas para raiz quadrada.

A exigência de triptofano baseada nos parâmetros de crescimento, coeficiente de retenção proteica e atividade da protease ácida foi estimada pelos métodos de regressão não

linear, *broken line* e polinomial quadrática (até segunda ordem) sendo estas realizadas com auxílio do programa estatístico CRAN R[®]. As médias das variáveis que não se ajustaram aos modelos de regressão foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05) (SAS[®]). O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

onde: Y_{ij} = observação, β_0 : constante da equação, $\beta_1 X_i$: coeficiente de regressão linear, $\beta_2 X_i^2$: coeficiente de regressão quadrática, ε_{ij} : erro residual.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta observada no crescimento de *R. quelen* pela suplementação de triptofano na dieta, confirma a essencialidade deste nutriente para a espécie. Os resultados deste estudo indicam que a inclusão entre 0,28 g 100 g⁻¹ (*broken line*) e 0,34 g 100 g⁻¹ (regressão polinomial) de Trp dietético (correspondente a 0,76 g e 0,92 g 100 g⁻¹ da proteína da dieta), é ideal para o máximo crescimento (Tabela 4). Esta tendência é confirmada pelos resultados de peso final, ganho em peso relativo e ganho em peso.

O peso final (PF), comprimento total (CT) e ganho em peso relativo (GPR) dos peixes melhoraram (P<0,0001) em função dos níveis crescentes de Trp dietético até 0,34 g 100 g⁻¹ (regressão polinomial) ou 0,28 g 100 g⁻¹ (*broken line*). O máximo PF (18,69 g) foi observado no grupo de peixes que recebeu dietas contendo 0,34 g 100 g⁻¹ (regressão polinomial) ou 0,28 g 100 g⁻¹ de Trp (*broken line*). O comprimento dos jundiás foi superior nos grupos alimentados com 0,34 g (regressão polinomial) ou 0,23 g Trp 100 g⁻¹ (*broken line*) na dieta. Por meio de análise de regressão polinomial e *broken line*, para o máximo GPR foi estimado um nível de Trp de 0,34 e 0,28 g 100 g⁻¹ nas dietas, respectivamente.

A conversão alimentar (CA), eficiência alimentar (EA) e taxa de crescimento específico (TCE) ajustaram-se (P<0,0001) aos modelos de regressão polinomial e *broken line* (Tabela 4). Para CA o nível de Trp nas dietas foi estimado em 0,32 g (regressão polinomial) e 0,20 g 100 g⁻¹ (*broken line*). A máxima EA foi estimada em 0,33 g 100 g⁻¹ de Trp na dieta (regressão polinomial) ou 0,27 g 100 g⁻¹ (*broken line*). A TCE máxima estimada por meio dos modelos matemáticos foi de 0,34 g e 0,22 g Trp 100 g⁻¹ por regressão polinomial e *broken line*, respectivamente.

Tabela 4 - Desempenho de jundiás (peso corporal inicial, $4,65 \pm 0,68$ g) alimentados com dietas contendo níveis de triptofano durante sessenta dias

Variáveis ^x	Níveis de triptofano ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$)					epm ^y	Regressão (P)	
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42		Polinomial [*] / <i>Broken line</i> [#]	
PF (g)	7,66	13,47	17,78	18,69	17,78	0,99	* $y = -3,51 + 129,64x - 188x^2$, $r^2 = 0,90$	# $y = 1,57 + 63,33x$, $r^2 = 0,90$
CT (cm)	10,39	12,16	13,17	13,30	13,14	0,26	* $y = 7,35 + 36,01x - 53,26x^2$, $r^2 = 0,92$	# $y = 8,16 + 22,21x$, $r^2 = 0,91$
GPR (%)	64,64	189,74	282,45	302,04	282,55	21,28	* $y = -175,87 + 2790,72x - 4048,19x^2$, $r^2 = 0,91$	# $y = -66,37 + 1362,47x$, $r^2 = 0,90$
EA	0,11	0,34	0,54	0,54	0,49	0,03	* $y = -0,36 + 5,51x - 8,29x^2$, $r^2 = 0,90$	# $y = -0,14 + 2,65x$, $r^2 = 0,90$
CA	8,91	3,01	1,87	1,87	2,01	0,64	* $y = 16,48 - 95,41x + 147,54x^2$, $r^2 = 0,89$	# $y = 16,3 - 73,81x$, $r^2 = 0,95$
TCE (% dia ⁻¹)	1,91	4,05	5,14	5,34	5,15	0,30	* $y = -1,61 + 42,05x - 62,17x^2$, $r^2 = 0,94$	# $y = -0,76 + 26,71x$, $r^2 = 0,93$

^z Média (n=4), P=significativo (P<0,0001), ^x PF: peso final, CT: comprimento total, GPR: ganho em peso relativo, EA: eficiência alimentar, CA: conversão alimentar, TCE: taxa de crescimento específico. ^y epm: Erro padrão da média.

O nível ótimo de Trp, estimado a partir do GP foi de $0,34 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ por meio de regressão polinomial e $0,28 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ por *broken-line* (Figura 2).

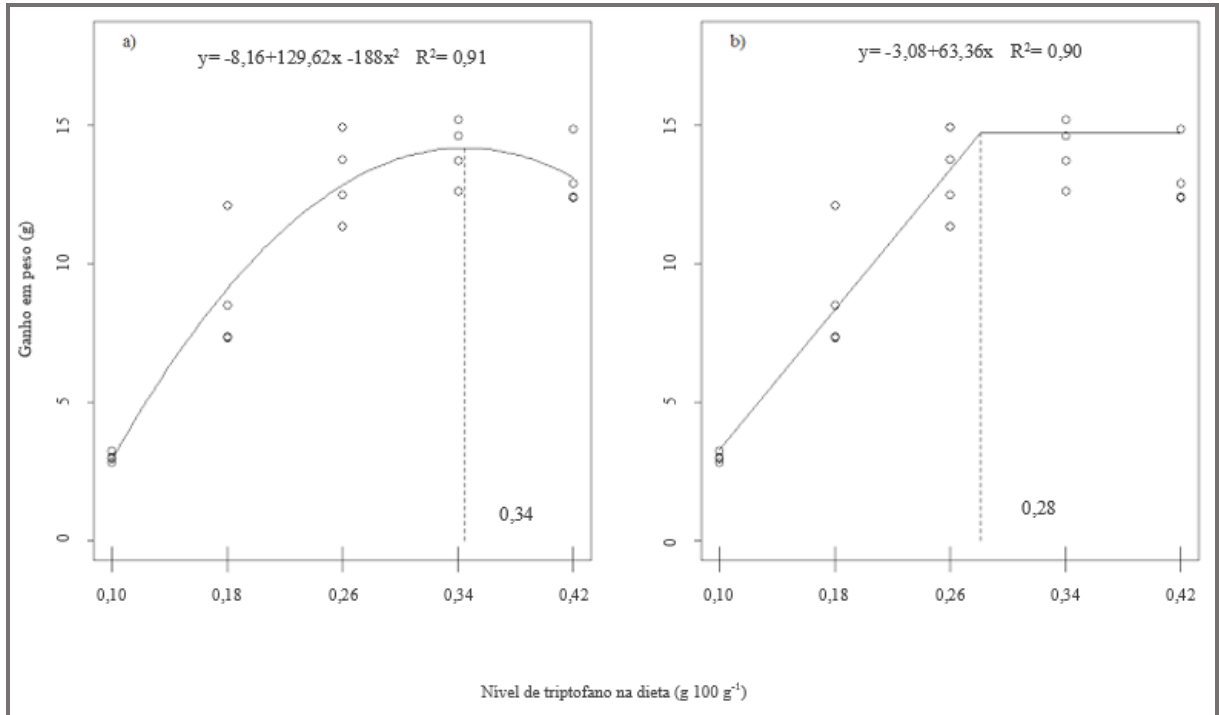


Figura 2 – Estimativa da exigência dietética em triptofano de jundiás considerando o ganho em peso, analisado pelo método matemático de regressão polinomial (a) ($P < 0,0001$) e *broken line* (b) ($P < 0,0001$).

Por ser um aminoácido essencial em dietas para peixes e ter concentração limitada na maioria dos vegetais (ABIDI; KHAN, 2010) o triptofano determina a eficiência de utilização da proteína, influenciando o desempenho zootécnico e qualidade da carcaça dos peixes (ZEHRÁ; KHAN, 2014).

O reduzido crescimento dos peixes alimentados com as menores concentrações de Trp ($0,10-0,18 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) pode ter sido influenciado pelo comprometimento da síntese proteica. Segundo Abidi e Khan (2010) a utilização da proteína para o crescimento fica comprometida quando são fornecidas dietas com desequilíbrio no perfil de AA. A perda de peso e de apetite são evidências desta deficiência, que pode contribuir para o surgimento de patologias (NRC, 2011).

A redução do crescimento dos peixes no nível mais elevado de triptofano na dieta pode ser atribuído a toxicidade do AA e ao catabolismo do triptofano em excesso (ABIDI; KHAN, 2010). Borlongan e Coloso (1993) e Alam et al. (2002) relatam que níveis excessivos de AAs podem tornar-se tóxicos e ter efeito adverso no crescimento devido à ingestão desproporcional que pode afetar a absorção e utilização de outros AAs. Neste estudo, o AA limitante provavelmente foi utilizado para a síntese de proteínas, enquanto os AAs em

excesso ficaram disponíveis para a oxidação, ocasionando a redução do crescimento dos jundiás, devido a limitação do AAE. Segundo Stone, Allan e Anderson (2003) o excedente de AA não pode ser armazenado em peixes, eles precisam ser desaminados e convertidos em compostos energéticos.

A piora da conversão alimentar nas concentrações marginais (0,10-0,18 g 100 g⁻¹) de Trp dietético, pode estar relacionada com a deficiência deste AA para a síntese protéica e das funções deste como precursor de outras moléculas bioativas (AHMED, 2012). Segundo Henry et al. (1992), a deficiência de Trp associada ao excesso de AANCL (leucina, isoleucina, valina, fenilalanina e tirosina) resultou em redução no ganho de peso e baixa concentração de serotonina no hipotálamo de suínos, podendo ser considerado como envolvido no efeito negativo sobre o consumo voluntário de alimento. No entanto, na concentração mais elevada de Trp também constatou-se piora na CA, o que pode estar relacionado a presença de uma quantidade em excesso de Trp que poderia acarretar desequilíbrio no funcionamento normal de outros AAE, especialmente os AA neutros. A captação de Trp no cérebro atinge o nível de saturação e em seguida é inibida por outros aminoácidos aromáticos, como a tirosina (ALDEGUNDE et al., 1998).

A serotonina é produzida pelos nervos serotoninérgicos, por meio da oxidação do Trp no cérebro. Na barreira hematoencefálica o Trp livre compete pelo mesmo sítio de absorção com outros AANCL para seu transporte e síntese da serotonina cerebral (ROSSI; TIRAPÉGUI, 2004). A relação entre AANCL/Trp no plasma, influencia a síntese de serotonina no hipotálamo, neurotransmissor com função de regular o consumo de alimento (PEGANOVA; ÉDER, 2002).

O nível de triptofano ideal (0,76-0,92 g 100 g⁻¹ da proteína) estimado para *R. quelen* está acima do relatado para o bagre americano, *I. punctatus*, 0,5 g 100 g⁻¹ (WILSON et al., 1978) e *Catla catla*, 0,64-0,76 g 100 g⁻¹ (ZEHRA; KHAN, 2014) e menor do que a relatada para *L. rohita*, 1,13 g 100 g⁻¹ (MURTHY; VARGHESE, 1996) e *Catla catla*, 1,0 g 100 g⁻¹ (RAVI; DEVARAJ, 1991). A exigência em triptofano para o jundiá parece estar próxima da encontrada *C. carpio*, 0,8 g 100 g⁻¹ (NOSE, 1979); para *L. rohita*, 0,9-0,95 g 100 g⁻¹ (ABIDI; KHAN, 2010) e *H. fossilis*, 0,8 g 100 g⁻¹ (AHMED, 2012), da proteína da dieta. A exigência de triptofano de diferentes espécies de peixes varia de 0,1-0,5 g 100 g⁻¹ da dieta ou 0,5 a 1,0 g 100 g⁻¹ da proteína da dieta (NRC, 2011).

O nível de Trp das dietas para o jundiá foi baseada durante algum tempo na exigência do também onívoro bagre do canal *I. punctatus* (0,1 g 100 g⁻¹ da dieta ou 0,5 g 100 g⁻¹ da proteína dietária) (NRC, 2011). Por meio do conceito de proteína ideal e utilizando a lisina

como aminoácido referência, o nível de Trp estimado para o jundiá foi de 1,0 (regressão polinomial) ou 0,9 g 100 g⁻¹ (*broken line*) da proteína da dieta (MONTES-GIRAO; FRACALOSSI, 2006), corroborando com a exigência de Trp encontrada no presente estudo (0,92 g 100 g⁻¹ da proteína dietética).

O atendimento da exigência de AAs está intimamente relacionado com o hábito alimentar, qualidade das fontes proteicas utilizadas (composição e digestibilidade), balanço energético-proteico, fatores ambientais (especialmente a temperatura) e idade do peixe (NRC, 2011). Isto pode explicar as diferenças na exigência do mesmo aminoácido para diferentes espécies e dentro da mesma espécie.

Outro fator que influencia estas estimativas é a metodologia estatística utilizada para estimar o nível ideal do aminoácido. Alguns autores utilizam modelos não lineares (*broken line*) que tenderia a subestimar a dose-ótima, desconsiderando o modelo biológico podendo fornecer estimativas inadequadas sobre o nível ótimo dos nutrientes (HERNANDES-LLAMAS, 2009). Para Portz; Dias e Cyrino (2000), os resultados obtidos com esta análise são mais coerentes, e permitem determinar o nível ótimo exigido com acurácia e precisão. Em outros estudos a estimativa do nível ideal do aminoácido estudado utiliza um modelo não-linear, polinomial que pode proporcionar estimativas mais precisas para um estudo de exigência em nutrientes (SHEARER, 2000).

Em relação à composição corporal dos jundiás, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os níveis de Trp sobre a proteína (PBC) e umidade corporal (Tabela 6). Os peixes submetidos à dieta com menor nível de Trp apresentaram menor ($P < 0,01$) teor de gordura corporal (Gord) e ($P < 0,0001$) deposição de gordura corporal (DGC) e maior ($P < 0,0001$) conteúdo de cinzas no peixe inteiro. A deposição de proteína corporal (DPC) foi superior ($P < 0,0001$) nos jundiás submetidos aos níveis de 0,18–0,42 g 100 g⁻¹ de Trp. Os peixes submetidos ao menor nível de Trp na dieta apresentaram DPC inferior.

Tabela 5 – Composição centesimal e deposição corporal de proteína e gordura de jundiás alimentados com dietas contendo níveis de triptofano.^z

Variáveis ^x	Níveis de triptofano (g 100 g ⁻¹)					epm ^y	ANOVA P (valor)
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42		
PBC (%)	12,92	13,03	13,38	13,36	13,50	0,07	0,054
Gord (%)	3,65 ^b	5,06 ^a	5,14 ^a	4,94 ^a	5,14 ^a	0,16	0,0104
Umidade (%)	79,00	78,00	77,81	77,73	77,27	0,22	0,137
Cinzas (%)	3,57 ^a	2,86 ^b	2,68 ^b	2,76 ^b	2,75 ^b	0,06	<0,0001
DPC (g)	0,42 ^c	1,06 ^b	1,76 ^a	1,33 ^{ab}	1,57 ^a	0,09	<0,0001
DGC (g)	0,08 ^b	0,41 ^a	0,48 ^a	0,59 ^a	0,66 ^a	0,04	<0,0001

^z Médias (n=8) seguidas por letras subscritas (a,b,c) na linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). ^x PBC= proteína bruta corporal; Gord= gordura corporal; DPC= deposição de proteína corporal; DGC= deposição de gordura corporal. ^y epm= erro padrão da média.

O coeficiente de retenção proteica (CRP) se ajustou aos modelos de regressão polinomial e *broken line*. O ponto de interrupção foi de 0,33 g (regressão polinomial) ou 0,25 g 100 g⁻¹ (*broken line*) de Trp na dieta (Figura 3).

É evidente que dietas com baixos níveis de Trp proporcionaram má utilização da proteína como indicado pelos menores valores de DPC e CRP. Além disso, crescimento reduzido e menor eficiência na utilização dos nutrientes foram observados nos peixes alimentados com níveis de Trp abaixo e além dos níveis de exigência. Segundo Gaylord et al. (2005), a utilização da proteína e síntese muscular fica comprometida quando o Trp não é adequadamente disponibilizado, em conjunto com outros AAE na dieta para manter as funções fisiológicas normais.

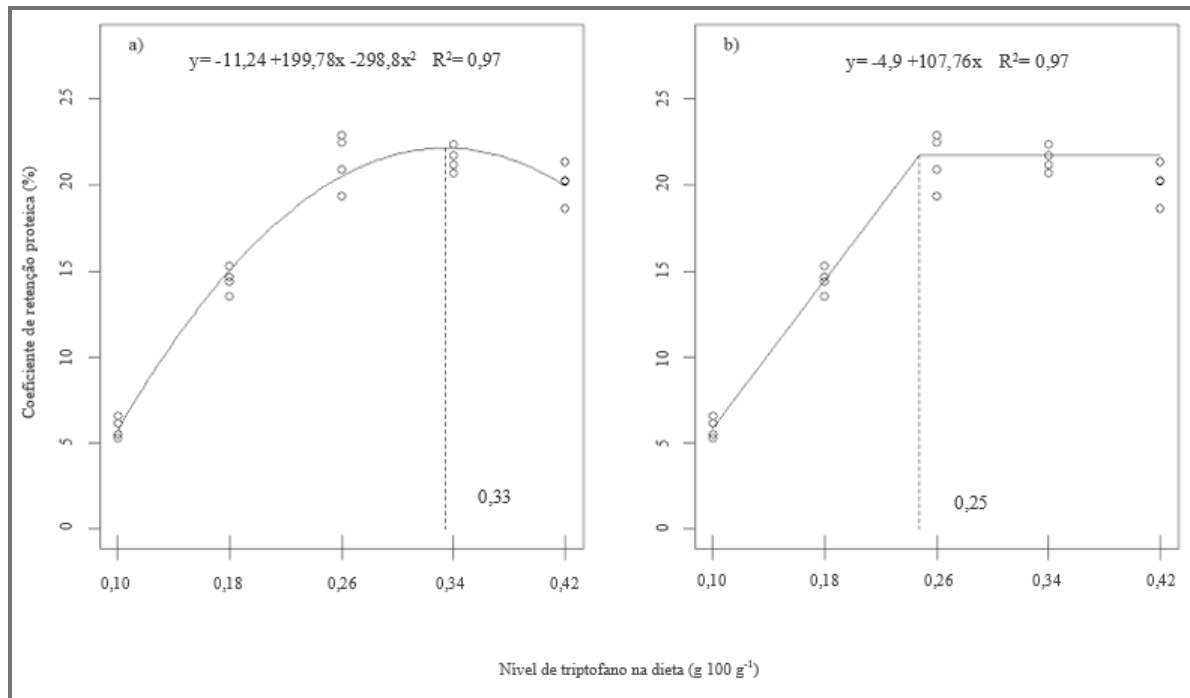


Figura 3 – Estimativa da exigência dietética em triptofano de jundiás considerando o coeficiente de retenção proteica (CRP), analisado pelo método matemático de regressão polinomial (a) ($P < 0,0001$) e *broken line* (b) ($P < 0,0001$).

O baixo teor de gordura corporal e DGC apresentada pelos peixes submetidos ao menor nível de triptofano na dieta, deve-se a utilização destas reservas para suprir a deficiência nutricional, o que já foi documentado por Ahmed (2012) e Zehra e Khan (2014) em *H. fossilis* e *C. catla*, respectivamente. O maior teor de cinzas corporal observado nos peixes alimentados com dietas contendo baixa concentração de Trp está relacionado com a menor deposição muscular que aumenta proporcionalmente o conteúdo de matéria mineral.

Não houve diferença ($P > 0,05$) para os índices somáticos, IGV, IDS e sobrevivência dos peixes quando alimentados com os diferentes níveis de Trp nas dietas (Tabela 5). A similaridade nutricional das dietas experimentais quanto ao teor de fibra, energia e ausência de fatores antinutricionais contribuiu para ausência de diferenças para os índices digestivo-somático e de gordura visceral. As diferentes concentrações de alguns AAs na dieta como a arginina, pode interferir no IDS, pois participa da construção de vilosidades intestinais (YAN, L.; QIU-ZHOU, X, 2006), contudo, atribuímos que os níveis similares dos demais AAs nas dietas, corroboraram com o resultado observado para este índice. Os menores níveis de Trp testados não foram críticos ao ponto de influenciar a sobrevivência dos peixes, pois, observamos que apesar de índices insatisfatórios, houve crescimento. Os jundiás conseguiram

manter suas funções fisiológicas vitais com o menor nível de Trp na dieta, entretanto, esse foi insuficiente para garantir a melhor performance aos animais.

Os jundiás alimentados com dietas com 0,10 g Trp 100 g⁻¹ apresentaram IHS superior (P<0,05) não diferindo do apresentado pelos que receberam 0,18 g 100 g⁻¹ deste AA na dieta. O IHS é um parâmetro importante e muito aplicado em estudos sobre exigências nutricionais (COLOSO et al., 2004; AHMED, 2012; FARHAT; KHAN, 2013; ZEHRA; KHAN, 2014), pois pode indicar o estado nutricional e fisiológico e informar sobre a reserva de energia no órgão (BALAWI et al., 2011). Neste estudo, os menores níveis de Trp nas dietas resultaram em valores de IHS superiores nos peixes. Provavelmente, esta condição se deve a uma maior atividade hepática devido a deficiência em Trp, resultando na desaminação de AAs não utilizados, ou transaminação destes em intermediários metabólicos como piruvato para utilização como compostos energéticos (ZEHRA; KHAN, 2014). Aumento nos valores de IHS com dietas deficientes em Trp já foram documentados em *L. calcarifer* (COLOSO et al., 2004), *H. fossilis* (AHMED, 2012), e *C. catla* (ZEHRA; KHAN, 2014).

Tabela 6 - Índices somáticos e sobrevivência de jundiás alimentados com dietas contendo níveis de triptofano^z

Variáveis ^x (%)	Níveis de triptofano (g 100 g ⁻¹)					epm ^y	ANOVA P (valor)
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42		
IGV	0,65	0,84	0,97	0,67	0,80	0,07	0,542
IHS	2,05 ^a	1,59 ^{ab}	1,42 ^b	1,38 ^b	1,51 ^b	0,06	0,005
IDS	3,32	3,65	3,67	3,54	3,72	0,08	0,539
Sobrevivência	97,00	93,00	98,00	96,00	96,00	0,74	0,332

^z Médias (n=12) seguidas por letras subscritas (a, b) na linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). ^x IGV: Índice de gordura visceral, IHS: Índice hepatossomático, IDS: Índice digestivo-somático. ^y epm= Erro padrão da média.

Um dos tecidos mais dinâmicos do organismo é o sangue, capaz de refletir mudanças no estado de saúde fisiológica e nutricional (KADER et al., 2012). Os peixes que receberam 0,10 g 100 g⁻¹ de Trp nas dietas apresentaram menores (P<0,05) teores de proteínas totais no plasma comparado aos que receberam 0,34 g 100 g⁻¹ de Trp (Tabela 7). A menor (P<0,05) concentração de glicose plasmática foi observada nos peixes alimentados com as dietas

contendo 0,10 g 100 g⁻¹ de Trp em relação aos alimentados com 0,18 e 0,42 g. A concentração de aminoácidos livres foi inferior ($P < 0,05$) nos peixes submetidos a dieta contendo 0,10 g não diferindo dos que receberam 0,18 g 100 g⁻¹ de Trp. Para albumina e globulinas não houve diferenças ($P > 0,05$) entre os níveis de Trp testados.

Tabela 7 - Bioquímica plasmática de jundiás alimentados com dietas contendo níveis de triptofano^z

Variáveis ^x	Níveis de triptofano (g 100 g ⁻¹)					epm ^y	ANOVA <i>P</i> (valor)
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42		
Proteínas totais	2,35 ^b	2,60 ^{ab}	2,61 ^{ab}	2,72 ^a	2,57 ^{ab}	0,037	0,027
Albumina	0,45	0,37	0,46	0,52	0,43	0,03	0,678
Glicose	24,99 ^b	35,32 ^a	31,76 ^{ab}	34,38 ^{ab}	37,91 ^a	1,19	0,005
Aminoácidos livres	6,70 ^b	11,65 ^{ab}	13,93 ^a	13,82 ^a	13,14 ^a	0,71	0,004
Globulinas	2,01	2,26	2,14	2,20	2,18	0,04	0,644

^z Médias (n=12) seguidas por letras subscritas (a,b) na linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). ^x Proteínas totais, albumina, globulinas=g dL⁻¹; aminoácidos livres=mmol dL⁻¹; Glicose=mg dL⁻¹. ^y Erro padrão da média.

Os níveis de proteína totais circulantes são indicativos de catabolismo proteico, quando os níveis de proteínas sérica estão reduzidos, há comprometimento da síntese proteica no fígado (MARKS et al, 2007), indicando uma deficiência nutricional e que a proteína ofertada na dieta está sendo utilizada e metabolizada para manutenção de metabólitos sanguíneos essenciais para outros órgãos e tecidos. Isso também se reflete sobre as concentrações de aminoácidos livres no plasma, indicando que os peixes submetidos aos menores níveis de Trip nas dietas não utilizaram a proteína de forma eficiente, e que o desequilíbrio de AAs comprometeu a utilização de outros nutrientes, como a energia, pois também se observa baixo índice glicêmico nos peixes alimentados com a menor concentração de Trp na dieta.

Como o organismo não sintetiza Trp, este deve ser obtido da circulação plasmática (*pool* aminoacídico) após digestão e absorção das proteínas no trato digestivo. Em mamíferos, 90% do Trp plasmático é transportado ligado a albumina (ROSSI; TIRAPÉGUI, 2004), ao contrário dos animais mamíferos, nos peixes aproximadamente 92% do Trp circula na forma

livre (ROZAS et al., 1990). Esta condição pode explicar a ausência de diferenças nos valores de albumina plasmática dos jundiás submetidos às diferentes concentrações de Trp nas dietas. A albumina sérica serve de indicador da qualidade proteica da dieta (LEHNINGER, 2007), a ausência de alterações na concentração de albumina e globulinas plasmáticas também está relacionada com as fontes proteicas utilizadas e nos tipos de proteínas presentes (simples ou conjugadas), entende-se que a proporção idêntica dos ingredientes em todas as dietas influenciou esses resultados.

Quanto ao metabolismo hepático dos jundiás, a proteína no fígado foi inferior ($P < 0,05$) nos peixes alimentados com dietas contendo $0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de Trp (Tabela 8). A atividade da alanina aminotransferase (ALT) no tecido hepático foi maior ($P < 0,05$) nos jundiás alimentados com o nível de $0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ Trp na dieta quando comparado aos alimentados com $0,18$, $0,26$, e $0,42 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. A concentração de aminoácidos livres, glicogênio, glicose e amônia no fígado não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) entre os níveis de Trp.

Os peixes alimentados com níveis de Trp de $0,18$ - $0,42 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ na dieta apresentaram uma condição metabólica adequada, com níveis de proteínas totais, glicose e aminoácidos livres mais elevados na corrente sanguínea, assim como a concentração de proteína hepática quando comparados aos peixes submetidos ao menor nível de Trp na dieta.

Os jundiás alimentados com as dietas contendo os menores níveis de Trp ($0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) apresentaram baixas concentrações de proteínas totais, glicose e aminoácidos livres no plasma, além de menor retenção proteica e deposição corporal de proteína e gordura. Este quadro metabólico associado ao elevado IHS e crescimento inferior, pode indicar utilização das reservas endógenas, em consequência da deficiência e/ou desequilíbrio dos AAE da dieta. Isto pode ser comprovado pela alteração na atividade da alanina aminotransferase (ALT), enzima envolvida no catabolismo de AAs (RIEGEL, 2012) que aliada as menores concentrações de proteína hepática e glicose plasmática, indica que os peixes submetidos aos menores níveis de Trp na dieta utilizaram a via gliconeogênica. Um aumento na atividade de ALT foi observado no fígado de *S. aurata*, quando os peixes foram alimentados com dietas ricas em proteínas, segundo os autores esta condição pode indicar utilização dos AAs dietéticos quer para o crescimento ou como substrato para a gliconeogênese (METÓN et al., 1999).

O aumento na atividade da ALT, também pode indicar que havia deficiência de AAs, levando os animais a utilizar proteína (oxidação de AAs em excesso) para obter energia comprometendo a síntese de proteínas (MELO et al., 2006). Entretanto, não foram observadas diferenças na mobilização das reservas energéticas de glicogênio hepático.

Sendo o glicogênio a unidade básica de armazenamento de glicose em peixes (HALVER; HARDY, 2002), esperava-se redução na sua concentração para a manutenção dos níveis de glicose plasmática dos peixes submetidos ao menor nível de Trp na dieta. Em várias espécies de peixes a mobilização de glicogênio é lenta e a glicose necessária para o metabolismo é obtida a partir de AAs (DABROWSKI; GUDERLEY, 2002). Segundo Halver e Hardy (2002), os peixes parecem ter preferência em utilizar a via gliconeogênica sintetizando glicose por meio de esqueletos de carbono. A manutenção dos estoques de glicogênio hepático dos jundiás alimentados com dietas deficientes em Trp, deve-se, provavelmente, aos processos de gliconeogênese a partir de AA.

A ação enzimática é essencial para a eficiência da digestão e absorção dos nutrientes (HIDALGO; UREA; SANZ, 1999), entretanto a constituição nutricional do alimento e as particularidades anatômicas e atividades enzimáticas da espécie influenciam o aproveitamento dos alimentos (BALDISSEROTTO, 2009). Não houve diferença ($P > 0,05$) dos níveis de Trp das dietas na atividade das enzimas tripsina e quimotripsina (Tabela 8) dos peixes durante o período experimental.

Tabela 8 – Metabolismo hepático e atividade das enzimas digestivas de jundiás submetidos aos níveis de triptofano na dieta^z

Variáveis ^x	Níveis de triptofano (g 100 g ⁻¹)					epm ^y	ANOVA P (valor)
	0,10	0,18	0,26	0,34	0,42		
Proteína	44,07 ^b	63,44 ^a	65,84 ^a	65,12 ^a	67,03 ^a	2,30	0,005
Aminoácidos	92,58	98,22	93,60	92,46	87,15	1,96	0,535
Glicogênio	24,83	23,87	23,99	25,28	26,39	0,38	0,214
Glicose	343,70	326,58	332,50	336,48	350,16	6,48	0,815
Amônia	14,35	12,70	13,61	13,53	12,91	0,32	0,590
ALT	58,86 ^a	27,79 ^b	27,73 ^b	40,06 ^{ab}	35,46 ^b	2,67	0,0002
Enzimas digestivas							
Tripsina	5,83	6,12	6,01	7,41	6,90	0,27	0,298
Quimotripsina	4537,9	4537,9	4782,0	5563,6	5387,6	175,93	0,218

^z Médias (n=12) seguidas por letras subscritas (a,b) na linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). ^x Proteína=mg g⁻¹ de tecido; aminoácidos= μmol g⁻¹ de tecido; glicogênio, glicose=μmol glicose g⁻¹ tecido; amônia= μmol g⁻¹ tecido; ALT (Alanina aminotransferase)= UI mg⁻¹ tecido; tripsina= μmol de TAME min mg⁻¹ de proteína; quimotripsina= μmol de BTEE min mg⁻¹ de proteína. ^y epm= erro padrão da média.

A atividade da protease ácida aumentou (Figura 4) em resposta às concentrações de Trp dietético até 0,31 g 100 g⁻¹, quando analisada pela regressão polinomial (P<0,0001) ou *broken line* (P<0,0001). Nesse nível também foi observado concentração adequada de aminoácidos no plasma, crescimento superior e maior CRP nos animais.

A digestão das proteínas inicia no estômago pela ação da protease ácida, que hidrolisa essencialmente ligações que envolvam AA aromáticos como, triptofano, fenilalanina e tirosina. O nível mais elevado de Trp (0,42 g 100 g⁻¹) na dieta não estimulou aumento proporcional na atividade desta enzima, indicando a saturação dos mecanismos de ação enzimática, onde a enzima livre encontrava-se totalmente ligada ao substrato (Trp). Ainda pode ter ocorrido saturação dos mecanismos de transporte (competição por sítios absorptivos entre AANCL e Trp), causando desequilíbrio na absorção dos AA (ARAGÃO et al., 2004) e interferindo na atividade enzimática.

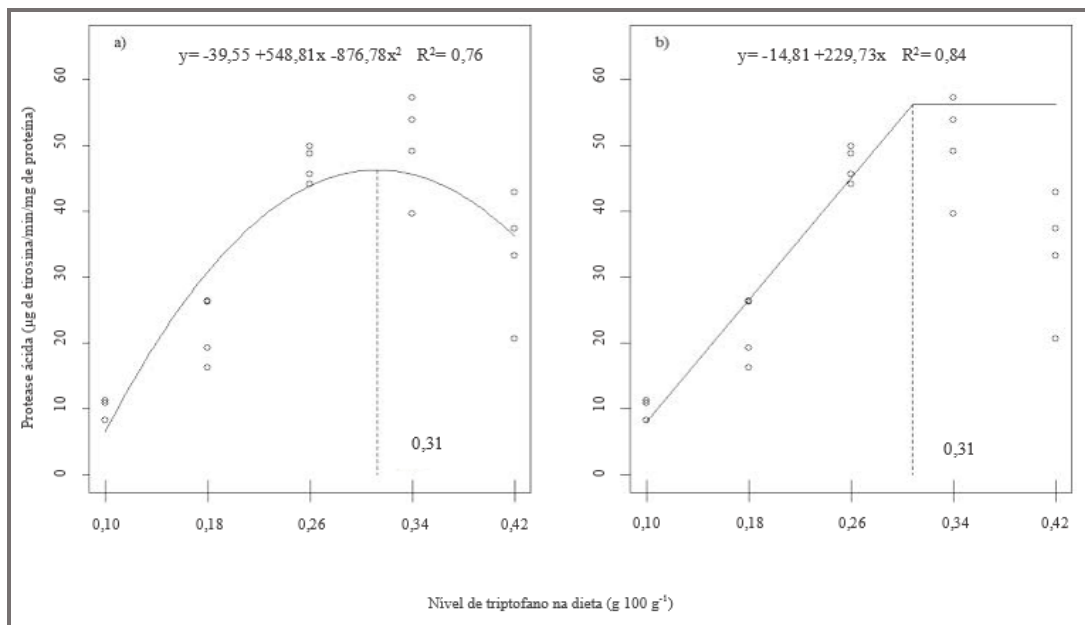


Figura 4 – Atividade de protease ácida no estômago de jundiás alimentados com diferentes concentrações de triptofano nas dietas analisado pelo método matemático de regressão polinomial (a) (P<0,0001) e *broken line* (b) (P<0,0001).

No intestino as enzimas pancreáticas (tripsina, quimotripsina, carboxipeptidases e elastase) e enzimas produzidas pela própria mucosa intestinal continuam o processo de digestão. A quimotripsina, assim como a protease ácida hidrolisa preferencialmente as

ligações em que participam AA aromáticos (RIEGEL, 2012). A rápida absorção do Trp devido ao uso do AA na forma sintética está relacionada com a ausência de diferenças na atividade da quimotripsina. As dietas experimentais foram formuladas para serem isoproteicas e conterem as mesmas quantidades de AAE com exceção do aminoácido teste, este fato pode estar relacionado com a ausência de diferenças quanto a atividade da tripsina, que atua nas ligações formadas por AA básicos (lisina e arginina) (RIEGEL, 2012).

O desempenho e retenção de proteína corporal dos jundiás frente aos níveis de Trp na dieta foi acompanhado por variações na atividade enzimática digestiva e consequentemente nas concentrações de metabólitos no plasma e fígado. Estes resultados evidenciam a essencialidade do Trp para o jundiá, uma vez que, dietas deficientes neste AA não proporcionaram adequada digestão e absorção, comprometendo o metabolismo e o aproveitamento dos demais nutrientes da dieta para o crescimento. Em compensação, as dietas que atenderam a exigência de Trp promoveram adequada utilização dos nutrientes, refletindo no maior desempenho dos peixes.

5 CONCLUSÃO

Com base nas estimativas resultantes dos modelos de regressão testados para as variáveis GP e CRP, recomenda-se a inclusão entre 0,25 e 0,34 g 100 g⁻¹ de triptofano na dieta ou entre 0,67 e 0,92 g 100⁻¹ de triptofano na proteína da dieta para jundiá.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na nutrição de peixes há amplo uso de ensaios dose-resposta para determinar níveis ótimos de nutrientes, entretanto, observa-se que são utilizados diferentes modelos estatísticos para a estimativa do nível ótimo (NRC, 2011) e que não existe consenso entre pesquisadores sobre qual melhor modelo a ser utilizado para estes estudos.

Em estudos dose-resposta geralmente o nível ótimo é estimado utilizando o modelo de regressão polinomial ou *broken line*. Quando se estima o nível-ótimo utilizando-se regressões polinomiais, pode-se superestimar os valores encontrados, principalmente quando as dietas experimentais não estão distribuídas igualmente acima e abaixo do verdadeiro requerimento (LAMBERSON; FIRMAN, 2002).

Já com o modelo *broken line* de acordo com Robbins et al. (1979), considera-se que o desenvolvimento do animal é linear frente à adição de um nutriente indispensável, até atingir o nível exigido (SOUZA, 2010), entretanto sabemos que a resposta do crescimento dos animais se ajusta biologicamente a uma curva, e esse modelo tenderia a subestimar a dose-ótima (ROBBINS et al., 1979). MONTES-GIRÃO e FRACALOSSO (2006), estimaram a exigência em lisina para jundiás, utilizando os dois modelos citados acima, e deixaram a critério do leitor ou pesquisador a escolha do modelo que julgue mais adequado ao estudo que esta conduzindo.

Outra proposta que está sendo difundida para estimar as exigências em experimentos dose-resposta é a combinação ou sobreposição do modelo polinomial com o *broken line*, que fornece valores intermediários (SOUZA, 2010). O nível ótimo é calculado igualando-se a equação polinomial com o valor do platô da *broken line* (BAKER et al., 2002). Este modelo é relevante para estudos dose-resposta para determinação da exigência de um nutriente e vem sendo utilizado em estudos na área agropecuária pois, o nível-ótimo encontrado não é alto como o estimado pela regressão polinomial, nem muito baixo como o estimado na *broken line* (SOUZA, 2010).

As médias dos resultados obtidos neste estudo para as variáveis ganho em peso (GP), coeficiente de retenção proteica (CRP) e atividade de protease ácida (Figuras 5, 6 e 7, respectivamente) foram submetidos a combinação ou sobreposição dos modelos de regressão polinomial e *broken line* para se chegar ao nível intermediário entre os dois modelos. O CRP (Figura 6) foi a única destas variáveis que obteve sobreposição das curvas de regressão

(polinomial e *broken line*), sendo estimado um nível ótimo de $0,30 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de triptofano na dieta para a máxima retenção proteica.

Com base no modelo de sobreposição recomenda-se a inclusão de $0,30 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de triptofano na dieta do jundiá para o máximo coeficiente de retenção proteica.

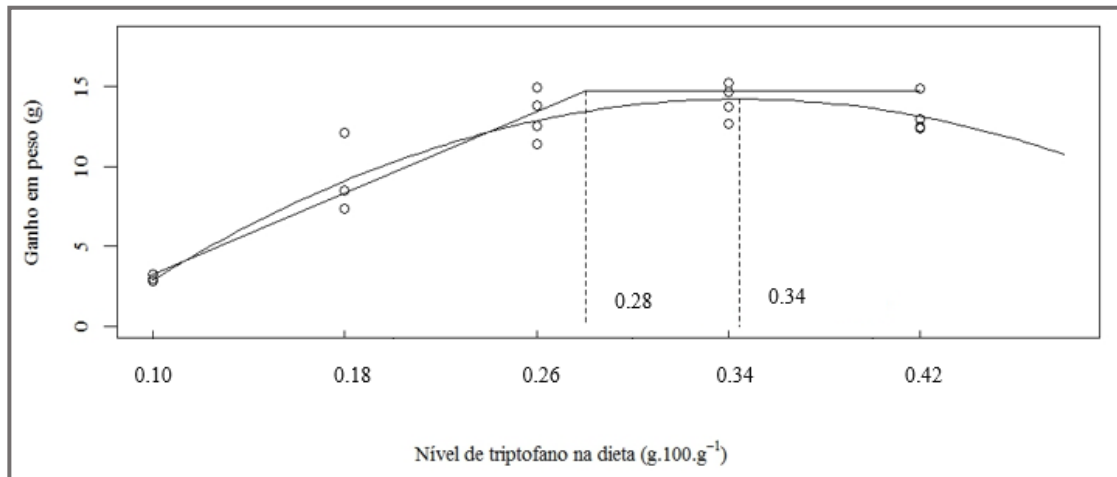


Figura 5 – Exigência dietética em triptofano de jundiás considerando o ganho em peso (GP), analisado pela combinação do modelo de regressão polinomial e *broken line*.

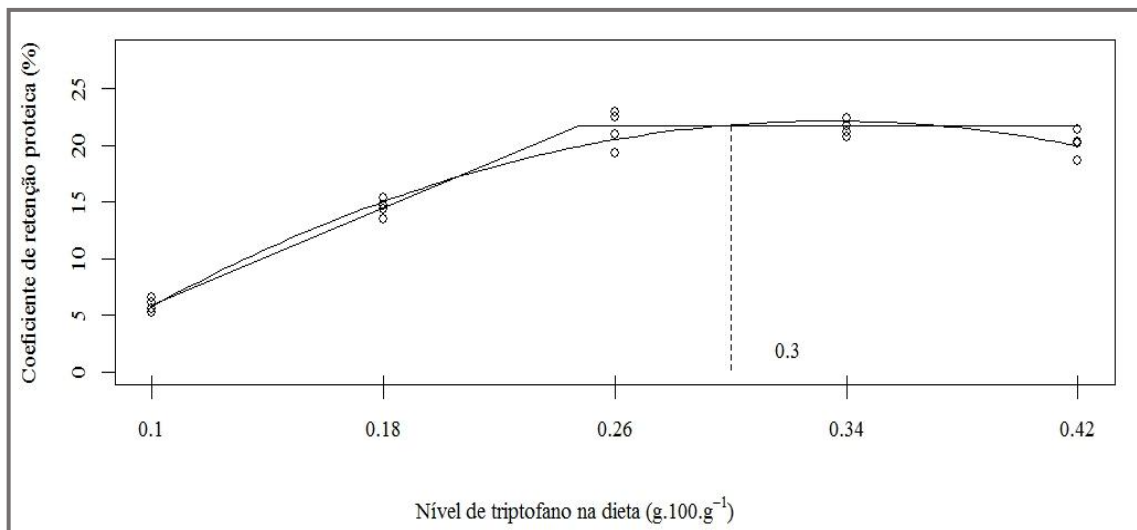


Figura 6 – Exigência em triptofano de jundiás considerando o coeficiente de retenção proteica (CRP), analisado pela combinação do modelo de regressão polinomial e *broken line*.

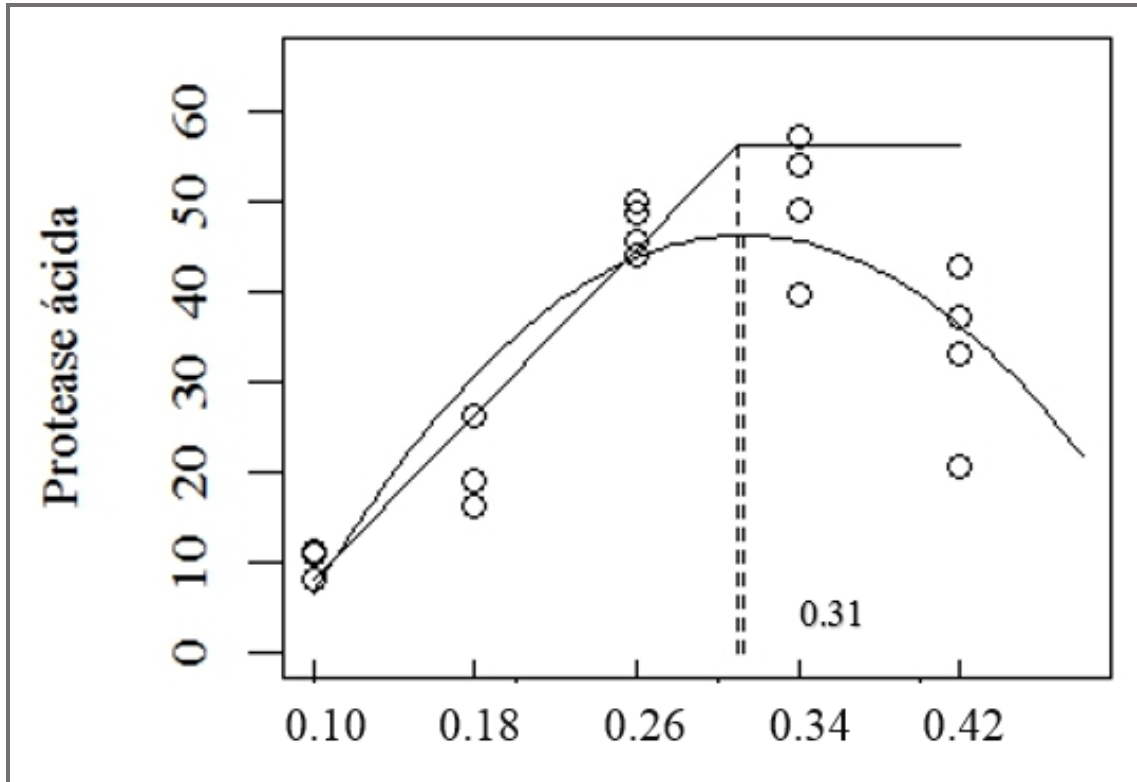


Figura 7 – Nível ótimo de triptofano para a máxima atividade de protease ácida de jundiás, analisado pela combinação do modelo de regressão polinomial e *broken line*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIDI, S. F.; KHAN, M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), based on growth and body composition. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 41, n. 5, p. 700-709, 2010.

AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 7, p. 687-695, 2005.

_____. Response to the ration levels on growth, body composition, energy, and protein maintenance requirement of the Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*-Bloch 1974). **Fish Physiology Biochemistry**, New York, v. 36, n. 4, p. 1133-1143, 2010.

_____. Dietary amino acid L-tryptophan requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), estimated by growth and haemato-biochemical parameters. **Fish Physiology Biochemistry**, New York, v. 38, n. 4, p. 1195-1209, 2012.

AKIYAMA, T.; MURAI, T.; MORI, K. Role of tryptophan metabolism in inhibition of spinal deformity of chum salmon fry caused by tryptophan deficiency. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 52, n. 7, p. 1255-1259, 1986.

ALAM, M. S. et al. Arginine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 205, n. 1-2, p. 27-140, 2002.

ALDEGUNDE, M. et al. Uptake of tryptophan into brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Experimental Zoology A**, Hoboken, v. 282, n. 3, p. 285-289, 1998.

ALEXIS, M. N.; PAPARASKEVA-PAPATSOGLU, E. Aminotransferase activity in the liver and white muscle of *Mugil capito* fed diets containing different levels of protein and carbohydrate. **Comparative Biochemistry Physiology B**, v. 83, n. 1, p. 245-249, 1986.

AMBARDEKAR, A. A.; REIGH, R. C.; WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 291, n. 3-4, p. 179-187, 2009.

ARAGÃO, C. et al. A balanced dietary amino acid profile improves amino acid retention in post-larval Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, n. 1-4, p. 429-455, 2004.

ASSOCIATION AMERICAN VETERINARY MEDICAL (AVMA). **Guidelines on Euthanasia**. Association American Veterinary Medical, 2013. 102 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 16th ed. Supplement 1998. Washington: AOAC, 1995. 1018 p.

BAKER, D. H. et al. Ideal ratio (relative to lysine) of tryptophan, threonine, isoleucine, and valine for chicks during the second and third weeks posthatch. **Poultry Science**, v. 81, n. 4, p. 485-494, 2002.

BALAWI, H. F. A. et al. Toxicity bioassay of lead acetate and effects of its sublethal exposure on growth, haematological parameters and reproduction in *Clarias gariepinus*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 53, p. 11039-11047, 2011.

BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. (Org.). **Criação do jundiá**. Santa Maria, RS: UFSM, 2004. cap. 3, p. 67-72.

_____. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 352p.

_____.; SILVA, L. V. F. Qualidade da água. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. (Org.). **Criação do jundiá**. Santa Maria, RS: UFSM, 2004. cap. 4, p. 73-94.

BICUDO, A. J. A. **Exigências nutricionais para juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887): Proteína, energia e aminoácidos**. 2008. 122 f. Tese (Doutorado em agronomia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura, Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

_____.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, n. 4, p. 486-495, 2009.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BORLONGAN, I. G.; COLOSO R. M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos Forsskal*) for essential amino acids. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 123, n. 1, p. 125-132, 1993.

BOYCE, S. J. Nitrogenous excretion in the Antarctic plunderfish. **Journal Fish Biology**, London, v. 54, n. 1, p. 72-81, 1999.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CARDOSO, A. P. et al. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 457-462, 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 528 p.

COLDEBELLA, I.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 499-503, 2002.

COLOSO, R. M. et al. Tryptophan requirement of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*. **Journal Applied Ichthyology**, Berlin, v. 20, n. 1, p. 43-47, 2004.

CORRÊIA, V. **Otimização de dieta referência para jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2013. 128 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary Metabolism. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W (Org.). **Fish Nutrition**. 3. ed., New York: Academic Press, 2002, cap. 6, p. 309-365.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. A intrigante bioquímica da niacina – uma revisão crítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 10, p. 1739-1752, 2011.

DE PEDRO, N. et al. Inhibitory effect of serotonin on feeding behavior in goldfish: involvement of CRF. **Peptides**, New York, v. 19, n. 3, p. 505-511, 1998.

DIAS, C. A. G. M. et al. Luz, melatonina e estresse oxidativo na piscicultura. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 3, n. 3, p. 169-176, 2013.

DYER, A. R. et al. Correlation of plasma IGF-I concentration and growth rate in aquacultured finfish: a tool for assessing the potential of new diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 236, n. 1-4, p. 583-592, 2004.

FAGBENRO, O. A.; NWANNA, L. C. Dietary tryptophan requirement of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal of Applied Aquaculture**, Binghamton, v. 9, n. 1, p. 65-72, 1999.

FÁLCON, J. et al. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. **General Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 165, n. 3, p. 469-482, 2010.

FARHAT; KHAN, M. A. Effects of varying levels of dietary L-histidine on growth, feed conversion, protein gain, histidine retention, hematological and body composition in fingerling stinging catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 404-405, p. 130-138, 2013.

FRACALOSSO, D. M. et al. O mito da onivoria do jundiá. **Panorama da Aquicultura**, v. 17, n. 100, p. 36-40, 2007.

_____. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Florianópolis, 2012. cap. 3, p. 37-63.

_____; ZANIBONI FILHO, E.; MEURER, S. No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 74, p. 43-49, 2002.

GAYLORD, T. G.; RAWLES S. D.; DAVIS K. B. Dietary tryptophan requirement of hybrid striped bass (*Morone chrysops x M. saxatilis*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 5, p. 367-371, 2005.

GOMES, L. C. et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.

HALVER, J. E. Nutrition of salmonid fishes. IV. An amino acid test diet for chinook salmon. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 62, n. 2, p. 245-254, 1957.

_____; HARDY, R. W. Nutrient Flow and Retention. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W (Org.). **Fish Nutrition**. 3. ed., New York: Academic Press, 2002, cap. 14, p. 755-770.

HEMRE, G-I.; MOMMSEN, T. P.; KROGDAHL, A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 175-194, 2002.

HENRY, Y. et al. Interactive effects of dietary levels of tryptophan and protein on voluntary feed intake and growth performance in pigs, in relation to plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 6, p. 1873-1887, 1992.

HERNANDEZ-LLAMAS, A. Conventional and alternative dose-response models to estimate nutrient requirements of aquaculture species. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 292, n. 3-4, p. 207-213, 2009.

HIDALGO, M. C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 170, p. 267-283, 1999.

HÖGLUND, E. et al. Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, n. 1-4, p. 525-531, 2005.

HOSHIBA, M. A. **Influência do triptofano, da fluoxetina e da paraclorofenilalanina no desenvolvimento inicial e na sobrevivência de larvas de matrinxã**. 2011. 125 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

HUMMEL, B. C. W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 12, p. 1393-1399, 1959.

KADER, M. D. A. et al. Effect of complete replacement of fishmeal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 350-353, p. 109-116, 2012.

KIM, K. I.; KAYES, T. B.; AMUNDSON, C. L. Effect of dietary tryptophan levels on growth, feed/gain, carcass composition and liver glutamate dehydrogenase activity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comparative Biochemistry Physiology B**, v. 88, n. 3, p. 737-741, 1987.

LAMBERSON, W. R.; FIRMAN, J. D. A comparison of quadratic versus segmented regression procedures for estimating nutrient requirements. **Poultry Science**, v. 81, n. 4, p. 481-484, 2002.

LAZZARI, R. et al. Efeito da frequência de arraçoamento e da troca do tamanho de partícula alimentar no desenvolvimento de pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 2, p. 231-234, 2004.

_____. et al. Diferentes fontes proteicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 240-246, 2006.

_____. et al. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 477-484, 2008.

LEHNINGER, A. Aminoácidos, peptídios e proteínas. In: NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Salvier, 2007. cap. 2, p. 74-111.

LEPAGE, O. et al. Tryptophan affects both gastrointestinal melatonin production and interrenal activity in stressed and nonstressed rainbow trout. **Journal of Pineal Research**, Copenhagen, v. 38, n. 4, p. 264-271, 2005.

LOVELL, T. **Nutrition and Feeding of Fish**. 2. ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267 p.

LUNDSTEDT, L. M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. **Comparative Biochemistry Physiology B**, v. 137, n. 3, p. 331-339, 2004.

MARKS, A.D.; SMITH, C.; LIEBERMAN, M. **Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach**. 2nd Edition Colleen, 2007, 920p.

MASCHIO, D. **Avaliação nutricional de jundiás frente a dietas contendo diferentes níveis de arginina e seu antagonismo lisina/arginina**. 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

MELO, J. F. B. et al. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Comparative Biochemistry Physiology A**, v. 145, n. 2, p. 181-187, 2006.

METÓN, I. et al. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 82, n. 3, p. 223-232, 1999.

MEYER, G.; FRACALOSSI, D. M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 240, n. 1-4, p. 331-343, 2004.

_____.;_____. Estimation of jundiá (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirements based on muscle amino acid composition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 4, p. 401-405, 2005.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil 2010**. Brasil, Brasília, 2012. 129 p.

MONTES-GIRAO, P. J.; FRACALOSSI, D. M. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundiá, *Rhamdia quelen*. **Journal of World Aquaculture Society**, Oxford, v. 37, n. 4, p. 388-396, 2006.

MORO, G. V. et al. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutrient utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 394-400, 2010.

MOYANO, F. J.; CARDENTE, G.; DE LA HIGUERA, M. Nutritive and metabolic utilization of proteins with glutamic acid content by the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Comparative Biochemistry Physiology A**, v. 100, n. 3, p. 759-762, 1991.

MURTHY, H. S.; VARGHESE, T. J. Quantitative dietary requirement of threonine for the growth of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Journal of aquaculture in the tropics**, Calcutta, v. 11, p. 1-7, 1996.

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

NG, W. K. et al. Niacin requirement and inability of tryptophan to act as a precursor of NAD⁺ in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 152, n. 1-4, p. 273-285, 1997.

NIKAIDO, Y.; UEDA, S.; TAKEMURA, A. Photic and circadian regulation of melatonin production in the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Comparative Biochemistry Physiology A**, v. 152, n. 1, p. 77-82, 2009.

NOSE, T. et al. A note on amino acids essential for growth of young carp. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 40, p. 903-908, 1974.

_____. Summary report on the requirements of essential amino acids for carp. In: HALVER J. E.; TIEWS K. (eds). **Finfish Nutrition and Fishfeed Technology**. Heinemann, GmbH, Berlin, 1979. p. 145-156.

PARK, J. T.; JOHNSON, M. J. Submicro determination of glucose. **Journal Biology Chemistry**, Rockville, v. 181, n. 1, p. 149-151, 1949.

PEDRON, F. A. et al. Cultivo de jundiás alimentados com dietas com casca de soja ou de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 93-98, 2008.

PEGANOVA, S.; ÉDER, K. Studies on requirement and excess of isoleucine in laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 11, p. 1714-1721, 2002.

PEZZATO, L. E. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P. et al. (Org.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Ed. Tecart, 2004. cap. 5, p. 75-169.

PORTZ, L.; DIAS, C. T. S.; CYRINO, J. E. P. A broken-line model to fit fish nutrition requirements. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 601-607, 2000.

_____; FURUYA W. M. Energia, proteína e aminoácidos. In: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Florianópolis, 2012. cap. 4, p. 65-77.

POSTON, H. A.; RUMSEY, G. L. Factors affecting dietary requirement and deficiency signs of L-tryptophan in rainbow trout. **Journal of nutrition**, Philadelphia, v. 113, n. 12, p. 2568-2577, 1983.

RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar – Nutrição. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**, Santa Maria: ed. da UFSM, 2004. cap. 8, p. 143-160.

RAVI, J.; DEVARAJ, K. V. Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 96, n. 3-4, p. 281-291, 1991.

RIEGEL, R. E. **Bioquímica**. 5. ed. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 2012. 638 p.

ROBBINS, K. R.; NORTON, H. W.; BAKER, D. H. Estimation of nutrient requirements from growth data. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 109, n. 10, p. 1710-1714, 1979.

ROSSATO, S. et al. Incorporação de farinhas de resíduos de jundiá na dieta: bioquímica plasmática, parâmetros hepáticos e digestivos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 6, p. 1063-1069, 2013.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 227-233, 2004.

ROTILI, D. A. **Exigência em metionina para juvenis de jundiá**. 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

ROZAS, G. et al. Distribution of 5- hydroxytryptamine and related compounds in various brain regions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 8, n. 6, p. 501-506, 1990.

RUBIO, V. C.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F. J.; MADRID, J. A. Oral serotonin administration affects the quantity and the quality of macronutrients selection in European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. **Physiology and Behavior**, Elmsford, 87, n. 1, p.7-15, 2006.

SALHI, M. et al. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, n. 1-4, p. 435-444, 2004.

SANTIAGO, C. B.; LOVELL, R. T. Amino acids requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, n. 12, p. 1540-1546, 1988.

SHEARER, K. D. Design, analysis and modeling of nutrient requirement studies in fish: a critical review. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, n. 2, p. 91-102, 2000.

SILVA, J. A. M. et al. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 1, p. 157-164, 2007.

SOUZA, F. A. **Escolha dos níveis nutricionais na determinação do nível-ótimo e no ajuste de modelos estatísticos utilizados em ensaios dose-resposta**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

SPIES, J. R. Colorimetric procedures for amino acids. **Methods in Enzymology**, New York, v. 3, p. 467-477, 1957.

_____. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 39, p. 1412-415, 1967.

STONE, D. A. J.; ALLAN, G. L.; ANDERSON, A. J. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). II. Digestibility and utilization of starch and its breakdown products. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, n. 2, p. 109-121, 2003.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VERDOUW, H.; VAN ECHELD, C. J. A.; DEKKERS, E. M. J. Ammonia determination based on indophenols formation with sodium salicylate. **Water Research**, New York, v. 12, n. 6, p. 399-402, 1978.

VIEIRA, V. P. et al. Metabolic responses of matrinxa (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. **Comparative Biochemistry Physiology A**, v. 140, n. 3, p. 337-342, 2005.

WALTON, M. J. et al. Dietary requirements of rainbow trout for tryptophan, lysine and arginine determined by growth and biochemical measurements. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 2, n. 1-4, p. 161-169, 1986.

WILSON, R. P. Aminoacids and Protein. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W (Org.). **Fish Nutrition**. 3. ed., New York: Academic Press, 2002, cap. 3, p. 144-175.

_____. et al. Tryptophan and threonine requirements of fingerling channel catfish. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 108, n. 10, p. 1595-1599, 1978.

WINBERG, S.; OVERLI, O.; LEPAGE, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. **Journal Experimental Biology**, Cambridge, v. 204, n. 22, p. 3867-3886, 2001.

YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 256, n. 1-4, p. 389-394, 2006.

ZEHRA, S.; KHAN M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling *Catla catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, RNA/DNA ratio, haematological parameters and carcass composition. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 20, 7/oct., versão on-line, Doi: 10.1111/anu.12198, 2014.