

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA A TILÁPIA
DO NILO DE 550 A 700 g, EM TANQUES-REDE,
COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL

Autora: Mariana Michelato

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA A TILÁPIA
DO NILO DE 550 A 700 g, EM TANQUES-REDE, COM BASE
NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL

Autora: Mariana Michelato

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

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

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

Michelato, Mariana

M623e Exigência de metionina + cistina para a tilápia do Nilo de 550 a 700 g, em tanques-rede, com base no conceito de proteína ideal. / Mariana Michelato. -- Maringá, 2010.

 x, 32 f. : il. figs., tabs.

 Orientador : Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2010.

 1. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Nutrição. 2. Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) - Tanques-rede. 3. Tanques-rede. 4. Metionina + cistina. 5. Proteína ideal - Conceito. 6. Perfil lipídico plasmático - Peixes. I. Furuya, Wilson Massamitu, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 21.ed. 639.3774

A **Deus** por todas as bênçãos em minha vida; por tudo.

Aos meus pais,

Nivaldo Aparecido Michelato e Juliane Jung Michelato,

que são meu alicerce e meus exemplos de vida,

meus incentivadores nessa caminhada,

os maiores presentes que recebi em minha vida.

A minha família, em especial

Jeanete Jung, Simone Simões, James e Claire Jung,

por estarem presentes em todos os momentos de minha vida,

por todo amor e carinho.

Ao meu namorado,

Guilherme Vanin Rodrigues,

pelas inúmeras horas de compreensão e motivação,

pelo amor demonstrado a cada dia,

por estar presente em minha vida.

Todo meu amor e essa conquista

Dedico a vocês

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e por sempre iluminar e guiar minha vida;

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, por todas as oportunidades a mim proporcionadas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida;

Ao Professor Dr. Wilson Massamitu Furuya, por todos esses anos de orientação e ensinamentos, pela amizade, confiança, motivação e dedicação. Exemplo de profissionalismo é ética, colaborou com meu crescimento profissional e também pessoal.

Ao Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo, da UNIOESTE – Toledo – PR, e seus orientados pela amizade e auxílio nos experimentos.

A toda Família Furuya, em especial Valéria, Vitório, Sebastião e Paulo, minha gratidão por toda ajuda, dedicação, e pela amizade construída através dessa caminhada.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa: Luiz Vítor Vidal, Tadeu Orlandi Xavier, Thêmis Sakaguti Graciano, Lorena Batista, Leonardo Dantas, Marcos Vinícius Leme e Aline Scarante, pela ajuda que foi fundamental para realização deste trabalho, pela amizade, dedicação e pelos muitos momentos de alegria e diversão.

Aos meus antigos colegas do grupo de pesquisa: Lilian Dena, Tarcila Souza, Lilian Carolina, Kátia Kalko e José Sérgio Rigueti, por tudo que aprendi com vocês e pela nossa amizade

Aos funcionários da CODAPAR, Vitor, José Geraldo e Cleiton, pela ajuda em todas as fases do experimento.

Às funcionárias do Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Maringá, Creuza e Cleuza, pelo auxílio nas análises químicas;

Aos meus queridos amigos, Adrieli Bertolini, Anna Carolina Moura, Flávia Daniel, Marianne Ducci, Ana Paula Cacciolari, Heloiza Pacheco, Jonatham Jung, que mesmo agora longe torceram e torcem por mim.

À Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio Ltda, pela doação dos aminoácidos e tanques-rede do experimento.

Ao professor Msc.(Me) Luiz Alexandre Filho e Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro pelo auxílio no manejo dos peixes.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho e conclusão desse período tão especial em minha vida.

Muito obrigada a todos vocês!

BIOGRAFIA

MARIANA MICHELATO, filha de Nivaldo Aparecido Michelato e Juliane Jung Michelato, nasceu em Cornélio Procópio, Estado do Paraná, no dia 08 de abril de 1985.

Em maio de 2003, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, concluindo-o em dezembro de 2007.

Em março de 2008, iniciou no curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Peixes.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
I - INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. Tilápia do Nilo.....	1
2. Aminoácidos Industriais.....	2
3. Metionina e Cistina.....	4
4. Literatura Citada.....	7
II – EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA A TILÁPIA DO NILO DE 550 A 700 g, EM TANQUES-REDE, COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
Introdução.....	13
Material e Métodos.....	15

Resultados e Discussão.....	20
Conclusão.....	29
Literatura Citada.....	30

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais.....	16
Tabela 2. Valores médios de desempenho da tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina.....	21
Tabela 3. Valores médios da composição química da carcaça e do filé da tilápia do Nilo alimentada com as dietas experimentais.....	24
Tabela 4. Perfil lipídico plasmático de tilápias do Nilo alimentadas com as dietas experimentais.....	26
Tabela 5. Valores médios de custo da ração para tilápia do Nilo contendo níveis crescentes de metionina + cistina.....	27

LISTA DE FIGURAS

	Página
I – INTRODUÇÃO GERAL	
Figura 1. Via metabólica dos aminoácidos sulfurados.....	04
Figura 2. Conversão de duas moléculas de cisteína em uma molécula de cistina.....	05
II – EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA A TILÁPIA DO NILO DE 550 A 700 g, EM TANQUES-REDE, COM BASE NO CONCEITO DE PROTEÍNA IDEAL	
Figura 1. Relação entre ganho de peso diário (GPD) em função dos níveis de metionina + cistina nas dietas para tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina.....	22
Figura 2. Relação entre custo da ração e custo em ração por quilograma de filé produzido para tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina.....	28

RESUMO

Este trabalho foi realizado para determinar as exigências de metionina + cistina em dietas para a tilápia do Nilo de 550 a 700, em tanques-rede, com base no conceito de proteína ideal. Foram utilizados 600 peixes com peso vivo médio inicial de 563,4 g \pm 10,50 g cada, distribuídos em 20 tanques-rede. Durante 30 dias, os peixes foram alimentados com dietas contendo 26% de PB e 3040 kcal ED/kg, com 0,79; 0,94; 1,09; 1,24 e 1,39% metionina + cistina. Não foram observados efeitos da metionina + cistina sobre a conversão alimentar, taxa de deposição de proteína na carcaça, rendimento de carcaça, custo da ração por kg de ganho de peso, gordura visceral e níveis plasmáticos de colesterol HDL e LDL. A suplementação de metionina + cistina nas dietas resultou em aumento linear no rendimento de filé e porcentagem de proteína na carcaça, redução linear no custo da ração por kg do filé, índice hepatossomático, taxa de deposição de gordura na carcaça, extrato etéreo da carcaça, matéria mineral da carcaça, colesterol total, lipídios totais e triglicerídeos. Pela análise *Linear Response Plateau* dos níveis de metionina + cistina sobre o ganho de peso diário, rendimento de filé, nível de proteína bruta do filé e eficiência de retenção de proteína, determinou-se a exigência de metionina + cistina de 0,90; 0,99, 0,95 e 0,84% de metionina + cistina, respectivamente. Concluiu-se que o nível de metionina + cistina de 0,90% (0,55% de metionina), correspondente a uma proporção de metionina + cistina:lisina de 60% atende a exigência da tilápia do Nilo de 550 a 700 g, em tanques-rede. É possível a elaboração de dietas viáveis economicamente por meio da suplementação de metionina.

Palavras-chave: aminoácidos, composição corporal, desempenho, peixes, perfil lipídico plasmático, rendimento de filé

ABSTRACT

This work was carried out to determine the dietary methionine + cystine requirement of market size Nile tilapia (550 to 700 g), in net pens, based on ideal protein concept. Six-hundred fish were distributed to an entirely randomized design with five treatments and four replicates, with 30 fish per experimental unit. Fish were fed to diets containing approximately 26% of CP, 3,300 kcal of DE/kg and 0.79, 0.94, 1.09, 1.24 or 1.39% of methionine + cystine. Fish were hand fed three times a day to apparent satiation for 30 days. No effects of dietary methionine + cystine on feed conversion ratio, whole body daily protein deposition, carcass yield, ration cost per kg of weight gain, visceral fat and plasmatic HDL and LDL cholesterol were observed. Dietary methionine resulted in linear increase on fillet yield, whole body protein and linear reduction of ration cost per kg of fillet production and hepatosomatic index, daily whole body fat deposition, whole body ether extract, whole body mineral matter, plasmatic total cholesterol, plasmatic total lipids and plasmatic triglycerides. Broken-line regression analysis of daily weight gain, fillet yield, fillet crude protein level and protein efficiency ratio against dietary methionine + cystine level indicated that optimal dietary methionine requirement for juvenile grouper were 0.90, 0.99, 0.95 and 0.84% of the diet, respectively. It was concluded that the dietary methionine + cystine requirement of market size Nile tilapia is 0.9% (0.55% of methionine), corresponding to a methionine + cystine:lysine ratio of 60%. Methionine can be supplemented to obtain cost effectiveness diets for Nile tilapia.

Key words: amino acids, body composition, fish, fillet yield, plasmatic lipids pattern, performance

I – INTRODUÇÃO GERAL

1. Tilápia do Nilo

A aquicultura é o setor de produção de alimentos que mais cresce no mundo, sendo economicamente estimulada em virtude da redução dos estoques pesqueiros naturais. Por esse motivo, a contribuição da aquicultura para o fornecimento mundial de peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos passou de 3,9% da produção total em peso em 1970 para 36% em 2006 (FAO, 2008).

O Brasil é o maior produtor de tilápias da América do Sul, seguido por Colômbia e Equador, respectivamente, totalizando em 98,5% da produção deste continente no ano de 2006 (FAO, 2008). O interesse na criação de tilápia cresceu rapidamente na década de 1990, por causa da introdução da tecnologia de reversão sexual para produzir populações somente de machos. A possibilidade de produzir peixes para pesque-pague e indústrias de filetagem também contribuiu para o desenvolvimento da tilapicultura no Brasil (Lovshin, 2002).

Dentre as espécies mais exploradas na aquicultura, a tilápia do Nilo vem se destacando em criações intensivas, principalmente nas duas últimas décadas em virtude do seu rápido crescimento, pela facilidade na obtenção de larvas, precocidade, rusticidade e por possuir carne com boas características organolépticas com possibilidade de comercialização de filés sem espinhas intramusculares (Degani & Revach, 1991).

De hábito alimentar onívoro, consome ração logo após o início da alimentação exógena e utiliza eficientemente os carboidratos como fonte de energia (Tengjaroenkul

et al., 2000), o que permite reduzir os custos com a alimentação (Pezzato et al., 2002). Utilizam eficientemente os alimentos de origem vegetal (Pezzato et al., 2001), uma vez que possuem adaptações morfológicas e fisiológicas como dentes faríngeos, pH estomacal ácido e intestino longo (Kubarik, 1997).

Para melhorar a utilização de dietas elaboradas com base em proteína, há necessidade de suplementação de aminoácidos em dietas para peixes carnívoros como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Gaylord et al., 2007), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (Hansen et al., 2007), cobia (*Rachycentron canadum*) (Chou et al., 2004) e cod (*Gadus morhua*) (Hansen et al., 2007) e não carnívoros como a carpa (*Carassius auratus gibelio*) (Hu et al., 2008), tilápia do Nilo (Furuya et al., 2001; Bomfim et al., 2008), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Abimorad et al., 2009).

No Brasil, a criação de tilápias pelo sistema tradicional em tanques de terra vem sendo substituído pela criação intensiva, principalmente em tanques-rede, impulsionado por diversos fatores, como disponibilidade de extensa área alagada, maior controle da população e da sanidade, facilidade na despesca e alta produtividade.

2. Aminoácidos Industriais

As proteínas são moléculas estruturalmente complexas (Alberts et al., 2002) e os aminoácidos são as unidades básicas da proteína, apresentam propriedades químicas distintas e podem ser classificados em essenciais e não essenciais. Essenciais são os aminoácidos que não podem ser sintetizados pelos animais, devendo ser fornecidos na ração por meio dos ingredientes proteicos e energéticos ou pela inclusão de aminoácidos industriais.

O balanceamento de aminoácidos é importante para permitir a melhor utilização da proteína na dieta. Atualmente, têm-se proposto o balanceamento de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. A proteína ideal é definida como o balanceamento de aminoácidos, de forma a atender as exigências de todos os aminoácidos para manutenção e produção, baseada na proposta de que cada aminoácido essencial seja expresso em relação a um aminoácido de referência, a lisina. Esse conceito foi aplicado inicialmente para suínos, uma vez que as exigências quantitativas de aminoácidos são constantemente alteradas em função dos melhoramentos genéticos obtidos, sendo difícil obter as exigências de todos os aminoácidos com experimentos de dose-resposta. Por outro lado, o conceito de proteína ideal pode ser adaptado a uma variedade de situações,

ainda que as exigências absolutas de certos aminoácidos possam mudar por diversas razões, as proporções permanecem estáveis (Mack, 1998).

Apesar das tilápias possuírem hábito alimentar onívoro, a proteína ainda é um nutriente de elevado custo em função da elevada proporção em sua dieta. Um dos ingredientes protéicos utilizados pelas fábricas de ração é a farinha de peixe, por apresenta bom balanço de aminoácidos, é palatável, possui ácidos graxos essenciais, minerais e vitaminas (Furuya et al., 2001). Porém, o custo da farinha de peixe varia de acordo com sua disponibilidade no mercado e com o aumento da produção de farelos vegetais. Por esse motivo, tem-se buscado alternativas de fontes proteicas de origem vegetal para compor dietas comerciais em substituição à farinha de peixe.

O farelo de soja tem se destacado como a fonte proteica mais promissora, pela sua disponibilidade no mercado nacional e pelo valor nutritivo (Kaushik et al., 1995; Furuya et al., 2004a). No entanto, esse alimento possui diversos fatores antinutricionais, deficiência em aminoácidos sulfurados e baixa palatabilidade.

A inclusão de aminoácidos industriais em dietas experimentais e comerciais para melhorar o perfil de aminoácidos é uma prática comum e amplamente utilizada principalmente em dietas com elevadas proporções de farelo de soja, ou outro alimento proteico de origem vegetal, ou até mesmo quando se deseja reduzir o nível de proteína da dieta. Partindo deste princípio, rações que são formuladas com base em proteína bruta, com níveis adequados de energia, podem não atender as exigências nutricionais dos peixes para todos os aminoácidos, promovendo queda na produção, aumento dos custos, além de causar maior impacto ambiental (Furuya, 2001; Cho & Bureau, 2001).

Para adequada suplementação de aminoácidos, é necessário o conhecimento das exigências nutricionais, bem como da digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos. Apesar da importância econômica da tilápia do Nilo em diversos países, existem poucas informações sobre as exigências proteicas para peixes adultos, uma vez que a maioria das pesquisas foi realizada com peixes jovens, não havendo evidência de que a exigência determinada para peixes jovens pode ser aplicada para peixes adultos.

Alguns pesquisadores têm preconizado a utilização do perfil de aminoácidos da carcaça para balanceamento de dietas comerciais. Ainda que exista elevada correlação entre o perfil de aminoácidos da carcaça e as exigências de aminoácidos essenciais determinadas em experimento de dose-resposta, é preciso considerar que as diferenças entre os valores estimados e determinados podem representar grandes variações no desempenho produtivo dos animais e na resposta econômica em condições práticas.

3. Metionina e Cistina

O enxofre é um elemento essencial para vida e está presente em quatro aminoácidos: na metionina, aminoácido essencial, na cisteína e cistina, aminoácidos não essenciais produzidos a partir da metionina, e na taurina, aminoácido não essencial abundante no organismo animal.

A metionina é um aminoácido essencial, indispensável para o crescimento normal dos peixes, visto que participa da síntese de proteínas e outras funções metabólicas (Lovell, 1989; Teshima et al., 2002; Alam et al., 2005). A principal função da metionina é atuar como doadora de grupos metil, para uma variedade de substratos incluindo ácidos nucleicos, proteínas, fosfolipídios e aminas biogênicas (Mato et al., 1997).

O composto empregado para transferência dos grupos metila é a S-adenosilmetionina (SAM), sintetizado a partir da metionina, e da adenosina trifosfato (ATP), pela ação da enzima adenosilmetionintransferase (Figura 1). A S-adenosilmetionina gera compostos como a carnitina (Swenson & Reece, 1996), cisteína (Nelson e Cox, 2003), cistina (Zhou et al., 2006), colina (Swenson & Reece, 1996; Kasper et al., 2000), poliaminas e outros intermediários metabólicos, como a fosfatidilcolina (PC) e fosfatidiletanolamina (PE), além de atuar como fonte de enxofre, exigido na síntese de muitos outros compostos sulfurados (Bender, 2003).

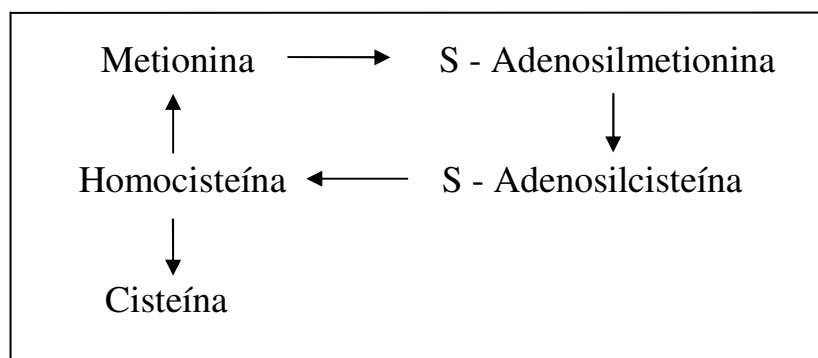


Figura 1. Via metabólica dos aminoácidos sulfurados (Nelson & Cox, 2003).

A cisteína é produzida pela reação da homocisteína com a serina. A homocisteína por sua vez é formada pela hidrólise da S-adenosilcisteína formada pela transferência de um grupo metil do SAM para qualquer um dos seus inúmeros receptores biológicos. Já a cistina é um aminoácido dimérico formado pela oxidação de duas moléculas de cisteína unidas por uma ponte dissulfeto (Figura 2).

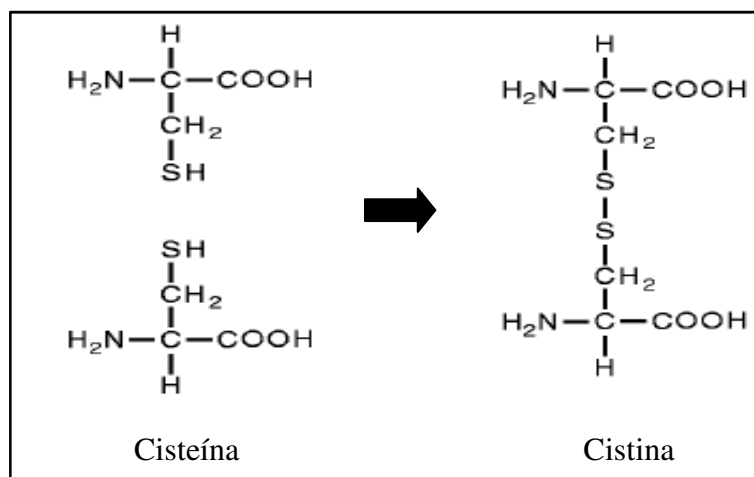


Figura 2. Conversão de duas moléculas de cisteína em uma molécula de cistina (Lewis, 2003).

A metionina é considerada o primeiro aminoácido limitante em rações à base de farelo de soja e milho, e sua exigência para peixes cultivados tem sido estabelecida por muitos pesquisadores em um intervalo entre 1,8% e 3,2% (expresso em porcentagem de proteína) (Wilson, 2002).

De forma geral, os alimentos de origem vegetal são limitantes em metionina, particularmente o farelo de soja, sendo necessário que seja suplementado aminoácido industrial para melhorar a resposta produtiva (Gaylord et al., 2007; Hansen et al., 2007; Hu et al., 2008) e melhoria da saúde hepática dos peixes (Espe et al., 2008; Graciano et al., 2010).

Diversos estudos foram realizados para determinar as exigências de metionina ou metionina + cistina para peixes, como os realizados com cobia (Zhou et al., 2006), grouper (*Epinephelus coioides*) (Luo et al., 2005), “rockfish” (*Sebastes schlegeli*) (Yan et al., 2007), “yellow croaker” (*Pseudosciaena crocea*) (Mai et al., 2006), tilápia do Nilo (Furuya et al., 2004b; Nguyen & Davies, 2009), sendo que a exigência de aminoácidos sulfurados em dietas para tilápias pelo NRC (1993) é de 0,9%. Ainda que as exigências de aminoácidos sulfurados determinadas por pesquisadores brasileiros

estejam próximas do valor descrito pelo NRC (1993), como pode ser observado nos trabalhos realizados por Furuya et al. (2001) e Bomfim et al. (2008), as exigências de metionina são bastante conflitantes, quando se compara a exigência determinada por Furuya et al. (2004b), de 0,54%, comparado ao valor descrito no NRC (1993), de 0,75% de metionina.

A exigência de metionina varia de 1,37% para o “rockfish” (Yan et al., 2007), de 1,19% para o cobia (Zhou et al., 2006), de 1,31% da dieta para o “grouper” (Luo et al., 2005), de 1,73% para “yellow croaker” (Mai et al., 2006). Valores inferiores de exigências de metionina foram descritos para a tilápia do Nilo por Furuya et al. (2004b) e Bomfim et al. (2008). Em função da inter-relação entre metionina e cistina, em que a cistina pode ser obtida a partir da metionina, não sendo possível obter a metionina a partir da cistina, é comum a apresentação da exigência de metionina + cistina, ao invés de apresentar a exigência somente de metionina. Outra opção é apresentar a exigência de metionina + cistina juntamente com a exigência de metionina.

O conceito de proteína ideal tem sido amplamente utilizado para estimar as exigências de aminoácidos para aves e suínos. A vantagem da aplicação do conceito é ainda que as exigências quantitativas dos aminoácidos variem entre espécies e idade, as proporções entre os aminoácidos em relação à lisina permanecem praticamente constantes. Com base no conceito de proteína ideal, a exigência de metionina como proporção da lisina da dieta varia de 50,8% para o “gilthead seabream” (Peres & Oliveira-Teles, 2009), de 60,98% (Furuya et al., 2001) e 59,50% (Bomfim et al., 2008) para a tilápia do Nilo.

Poucas são as informações sobre as exigências de aminoácidos sulfurados para tilápias. A determinação de suas exigências é importante em dietas práticas, principalmente quando o farelo de soja é a principal fonte de proteína, por conter baixo nível de metionina. De acordo com o NRC (1993), em dietas para peixes onívoros, os aminoácidos sulfurados devem estar presentes na proporção de 3% da proteína, sendo que a mesma deve estar na proporção de 2,68% em dietas para a tilápia do Nilo ou 0,75% da dieta. Mais recentemente, Furuya et al. (2004) determinaram exigência de 0,6% de metionina, que correspondeu a 2% da proteína, com 1,11% de aminoácidos sulfurados totais para alevinos dessa espécie.

LITERATURA CITADA

- ABIMORAD, E.G.; FAVERO, G.C.; CASTELLANI, D. et al. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. **Aquaculture**, v.295, p.266-270, 2009.
- ALBERTS, Bruce et al. Fundamentos da Biologia Celular: uma introdução à biologia molecular da célula, Porto Alegre: Artmed, 2002
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M. et al. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. **Aquaculture**, v.248, p.13-19, 2005.
- BENDER, D.A. **Nutritional biochemistry of the vitamins**. 2.ed. Cambridge, USA: Cambridge University Press, 2003. 488p.
- BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L. et al. Exigência de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.5, p.783-790, 2008.
- CHO, C.Y.; BUREAU, D.P. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. **Aquaculture Research** v.32, p.349-360, 2001.
- CHOU, R.L.; HER, B.Y.; SU, M.S. et al. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v.229, p.325-333, 2004.
- DEGANI, G.; REVACH, A. Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio* L., tilapia, *Oreochromis aureus* x *O. niloticus*, and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1882). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.22, p.397-403, 1991.
- ESPE, M.; HEVROY, E.M.; LIASET, B. et al. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v.274, p.132-141, 2008.
- FAO Food and Agriculture Organization - **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. Rome: FAO. 2009. 196p.
- FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. et al. Exigências de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.885-889, 2001
- FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R.; NEVES, P.R. et al. Exigência de metionina + cistina para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1933-1937, 2004b.
- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Use of ideal concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**, v.35, p.1110-1116, 2004a.
- GAYLORD, T.G.; BARROWS, F.T.; TEAGUE, A.M. et al. Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.269, p.514-524, 2007.
- GRACIANO, T.S.; Metionina e colina em dietas para juvenis de tilápia do Nilo, desempenho produtivo, morfologia hepática e muscular.
- HANSEN, A.; ROSEN LUND, G.; KARLSEN, O. et al. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I — Effects on growth and protein retention. **Aquaculture**, v.272, p.599-611, 2007.

- HU, M.; WANG, Y.; WANG, Q. et al. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture**, v.275, p.260-265, 2008.
- KASPER, C.S.; WHITE, M.R.; BROWN, P.B. Choline is required by Tilapia when methionine is not in excess. **Journal of Nutrition**, v.130, p.238-242, 2000.
- KAUSHIK, S.J.; CRAVEDI, J.P.; LALLES, J.P. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 133, p. 257-274, 1995.
- KUBARIK, J. Tilapia on highly flexible diets. **Feed International**, v. 6, p.16-18, 1997.
- LOVELL, R.T. **Nutrition and Feeding of Fish.**, New York, USA: Van Nostrand Reinhold, 1989, 267p.
- LOVSHIN L.L. Tilapia culture in Brazil. IN COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E., eds. **Tilapia Aquaculture in the Americas**, v.2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States, p.113-140, 2002.
- MACK, S. Amino acids in broiler nutrition-requirements and interrelations. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES**, 1998, Campinas. *Anais...* Campinas: CBNA, 1998. p. 69-86.
- MAI, K.; WAN, J.; AI, Q. et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. **Aquaculture**, v.253, p.564-572, 2006.
- MATO, J.M.; ALVAREZ, L.; ORTIZ, P. et al. S-Adenosylmethionine synthesis: Molecular mechanisms and clinical implications. **Pharmacology & Therapeutics - Elsevier**, v.73, n.3, p.265-280, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC **Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes**. Washington, D.C. National Academy Press, 1993. 102p
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Leninger – Princípios da Bioquímica**. 3ed. São Paulo: Editora Sarvier. 2003. 1119p.
- NGUYEN, T.N. & DAVIS, D.A. Re-evaluation of total sulphur amino acid requirement and determination of replacement value of cystine for methionine in semi-purified diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture nutrition**, v.15, p.247-253, 2009.
- LEWIS, A J. Methionine – cystine relationships in pig nutrition: In: D'MELLO, J.P.D. **Amino acids in animal nutrition**, CAB: Walling Ford, p.143-156, 2003.
- LUO, Z.; LIU, Y.; MAI, K. et al. Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. **Aquaculture**, v.249, p.409–418, 2005.
- PERES, H. & OLIVA-TELES, A. The optimum dietary essential amino acid profile for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v.296, p.81-86, 2009.
- PEZZATO, L.E. **Digestibilidade em peixes**. 2001. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **DUKES: Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 1996, 856p.
- TENGJAROENKUL, B.; SMITH, B.J.; CACECI, T. et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v.182, p.317-327, 2000.

- TESHIMA, S.; ALAM, M. S.; KOSHIO, S. et al. Assessment of requirement values for essential amino acids in the prawn, *Marsupenaeus japonicas*. **Aquaculture Research**, v.33, p.395-402, 2002.
- WILSON, R.P. Amino acids and proteins, In: Halver, J.E., Hardy,R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed. Academic Press, New York, 2002, p. 143–179.
- YAN, Q.; XIE, S.; ZHU, X. et al Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Aquaculture nutrition**, v.13, p.163-169, 2007.
- ZHOU, Q.C.; WU, Z.H.; TAN, B.P. et al. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v.258, p.551-557, 2006.

EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA A TILÁPIA DO NILO
DE 550 A 700 g, EM TANQUES-REDE, COM BASE NO CONCEITO
DE PROTEÍNA IDEAL

Exigência de metionina + cistina para a tilápia do Nilo de 550 a 700 g, em tanques-rede, com base no conceito de proteína ideal

RESUMO – Este trabalho foi realizado para determinar as exigências de metionina + cistina em dietas para a tilápia do Nilo de 550 a 700, em tanques-rede, com base no conceito de proteína ideal. Os peixes foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados 600 peixes com peso vivo médio inicial de 563,4 g \pm 10,50 g cada, distribuídos em 20 tanques-rede, alimentados durante 30 dias com dietas contendo aproximadamente 26% de PB e 3040 kcal ED/kg, com 0,79; 0,94; 1,09; 1,24 e 1,39% metionina + cistina. Não foram observados efeitos da metionina + cistina sobre a conversão alimentar, taxa de deposição de proteína na carcaça, rendimento de carcaça, custo da ração por kg de ganho de peso, gordura visceral e níveis plasmáticos de colesterol HDL e LDL. A suplementação de metionina + cistina nas dietas resultou em aumento linear no rendimento de filé e porcentagem de proteína na carcaça, redução linear no custo da ração por kg do filé, índice hepatossomático, taxa de deposição de gordura na carcaça, extrato etéreo da carcaça, matéria mineral da carcaça, colesterol total, lipídios totais e triglicerídeos. Pela análise *Linear Response Plateau* dos níveis de metionina + cistina sobre o ganho de peso diário, rendimento de filé, nível de proteína bruta do filé e eficiência de retenção de proteína, determinou-se exigência de metionina + cistina de 0,90; 0,99, 0,95 e 0,84% de metionina + cistina, respectivamente. Concluiu-se que o nível de metionina + cistina de 0,90% (0,55% de metionina), correspondente a uma proporção de metionina + cistina:lisina de 60% atende a exigência da tilápia do Nilo de 550 a 700 g, em tanques-rede. É possível a elaboração de dietas viáveis economicamente por meio da suplementação de metionina.

Palavras-chave: aminoácidos, composição corporal, desempenho, peixes, perfil lipídico plasmático, rendimento de filé

**Nutritional requirements of methionine + cystine of the Nile tilapia (550 to 700 g),
in net pens, based on ideal protein concept**

ABSTRACT. This work was carried out to determine the dietary methionine + cystine requirement of market size Nile tilapia (550 to 700 g), in net pens, based on ideal protein concept. Six-hundred fish were distributed to an entirely randomized design with five treatments and four replicates, with 30 fish per experimental unit. Fish were fed to diets containing approximately 26% of CP, 3,300 kcal of DE/kg and 0.79, 0.94, 1.09, 1.24 or 1.39% of methionine + cystine. Fish were hand fed three times a day to apparent satiation for 30 days. No effects of dietary methionine + cystine on feed conversion ratio, whole body daily protein deposition, carcass yield, ration cost per kg of weight gain, visceral fat and plasmatic HDL and LDL cholesterol were observed. Dietary methionine resulted in linear increase on fillet yield, whole body protein and linear reduction of ration cost per kg of fillet production and hepatosomatic index, daily whole body fat deposition, whole body ether extract, whole body mineral matter, plasmatic total cholesterol, plasmatic total lipids and plasmatic triglycerides. Broken-line regression analysis of daily weight gain, fillet yield, fillet crude protein level and protein efficiency ratio against dietary methionine + cystine level indicated that optimal dietary methionine requirement for juvenile grouper were 0.90, 0.99, 0.95 and 0.84% of the diet, respectively. It was concluded that the dietary methionine + cystine requirement of market size Nile tilapia is 0.9% (0.55% of methionine), corresponding to a methionine + cystine:lysine ratio of 60%. Methionine can be supplemented to obtain cost effectiveness diets for Nile tilapia.

Key words: amino acids, body composition, fish, fillet yield, plasmatic lipids pattern, performance

Introdução

A aquicultura é o setor de produção de alimentos que mais cresce, apresentando taxa de crescimento anual de 6,9%. A contribuição da aquicultura para o fornecimento mundial de peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos passou de 3,9% da produção total em peso em 1970 para 36% em 2006 (FAO, 2008).

Dentre as espécies mais exploradas na aquicultura, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) vem se destacando em criações intensivas, principalmente nas últimas duas décadas, em razão da sua rusticidade, precocidade, por apresentar carne com boas características organolépticas e filé sem espinhas intramusculares. No Brasil, a espécie tem sido criada principalmente para a pesca esportiva e para industrialização, principalmente para obtenção dos filés.

A metionina é um aminoácido essencial que atua na síntese proteica e desempenha funções fisiológicas importantes, além de ser essencial para o crescimento dos peixes (Lovell, 1989). A principal função da metionina é atuar como doadora de grupos metil, necessárias às reações de metilação pela via S-adenosil metionina (SAM) (Bender, 2003). O SAM é sintetizado a partir da metionina e da adenosina trifosfato (ATP), e pela da doação de grupos metil é precursor de vários substratos, incluindo ácidos nucleicos, proteínas, fosfolipídios e aminas biogênicas (Mato et al., 1997). A via S-adenosil metionina gera compostos como a carnitina (Swenson & Reece, 1996), cistina (Zhou et al., 2006), colina (Swenson & Reece, 1996; Kasper et al., 2000), poliaminas e outros intermediários metabólicos, como a fosfatidilcolina (PC) e fosfatidiletanolamina (PE) (Bender, 2003), além de atuar como fonte de enxofre, exigido na síntese de muitos outros compostos sulfurados (Bender, 2003). Assim, a suplementação de metionina está relacionada com melhorias no desempenho produtivo e também com a saúde hepática dos peixes (Espe et al., 2008; Graciano et al., 2010).

A suplementação de metionina tem sido avaliada principalmente em dietas elaboradas com base em proteína do farelo de soja, que possui a metionina como o primeiro aminoácido limitante, tanto em dietas para peixes carnívoros como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Gaylord et al., 2007), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (Hansen et al., 2007), cobia (*Rachycentron canadum*) (Chou et al., 2004) e cod (*Gadus morhua*) (Hansen et al., 2007), como em dietas para peixes onívoros como a carpa (*Carassius auratus gibelio*) (Hu et al., 2008), tilápia do Nilo (Furuya et al., 2001; Bomfim et al., 2008), e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Abimorad et al., 2009).

Segundo Jackson & Capper (1982), alevinos de tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*) exigem dieta com 1,1% de metionina + cistina, próximo do recomendado pelo NRC (1993) e Furuya et al. (2004), de 0,90% e 1,00%, respectivamente, de metionina + cistina para a tilápia do Nilo. Com base no conceito de proteína ideal, em que a exigência de aminoácidos é apresentada como proporção da lisina, Bomfim et al. (2008) estimaram exigência 57,2% de metionina + cistina para a tilápia do Nilo, próximo do valor determinado anteriormente por Furuya et al. (2001) de 60,11%. Mais recentemente, Nguyen & Davis (2009) estimaram que a metionina + cistina devem estar presentes em dietas para a tilápia do Nilo na proporção de 56,67% da lisina.

Não há informações sobre as exigências de metionina + cistina para tilápias com peso comercial de abate objetivando a produção de filés. Em função do elevado custo com a alimentação na fase final de criação, é importante a determinação das exigências de aminoácidos metionina + cistina para elaborar dietas de mínimo custo e que proporcionem aos peixes o maior rendimento de filés.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar as exigências de metionina + cistina para tilápias do Nilo de 550 a 700 g, em tanques-rede, com base no conceito de proteína ideal, por meio do desempenho produtivo e perfil lipídico plasmático.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Rio do Corvo, que compõe o reservatório de Rosana, no município de Diamante do Norte – PR, no período de 15 de dezembro de 2009 a 16 de janeiro de 2010.

Foram utilizados 600 peixes revertidos sexualmente durante a fase larval, com peso vivo médio inicial de $563,4 \text{ g} \pm 10,50 \text{ g}$, provenientes da piscicultura Sgarbi – Palotina, Paraná, Brasil. Os peixes foram distribuídos em 20 tanques-rede com volume unitário de $1,2 \text{ m}^3$ ($1,0 \times 1,0 \times 1,2 \text{ m}$ de altura), em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições.

Os parâmetros físico-químicos da água como pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram monitorados semanalmente por meio de pH-metro e oxímetro digital portátil.

Foram elaboradas cinco dietas com aproximadamente 3040 kcal de ED/kg e 26% de proteína bruta, com níveis crescentes de suplementação de DL-metionina 99, em que foram obtidas dietas com 0,79; 0,94; 1,09; 1,24 e 1,39% de metionina +cistina, correspondendo a dietas com 0,40; 0,55; 0,70; 0,85 e 1,00% de metionina. Foram utilizados os valores de energia digestível e fósforo disponível dos alimentos obtidos por Furuya et al. (2001b), Pezzato et al. (2002) e Guimarães et al. (2008a,b), em estudos realizados com tilápia do Nilo.

As rações foram produzidas no município de Capitão Leônidas – PR, na Cooperativa de Produção, Industrialização e Comercialização de Peixes do Rio Iguaçu – COOPERÇU em parceria com a Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Todos os ingredientes foram pesados e posteriormente moídos em moinho martelo com peneira com abertura de 0,8 mm de diâmetro. Após total homogeneização, as dietas foram extrusadas em extrusor de rosca simples com matriz de 3,5 mm, em que foram obtidos grânulos com diâmetro aproximado de 5,0 mm.

Os peixes receberam diariamente em ração a porcentagem equivalente a 1,5% do seu peso vivo em gramas, dividido em dois períodos de arraçoamento, às 9h e 14h.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais

Ingrediente	Metionina + cistina (%)				
	0,79	0,94	1,09	1,24	1,39
Farelo de soja	42,00	42,00	42,00	42,00	42,00
Milho	41,58	41,61	41,63	41,66	41,68
Quirera de arroz	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Farinha de vísceras	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Fosfato bicálcico	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Ácido glutâmico	0,70	0,55	0,40	0,25	0,10
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Óleo de soja	0,30	0,28	0,25	0,23	0,20
L-lisina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-treonina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-triptofano	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
DL-metionina	0,00	0,15	0,30	0,45	0,60
Supl. mineral e vitamínico ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamina C ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antioxidante ³	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Antifúngico ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada ⁵					
Matéria seca (%)	87,77	87,78	87,78	87,79	87,79
Energia digestível (kcal/kg)	3041,16	3041,16	3041,16	3041,16	3041,16
Proteína bruta (%)	26,20	26,20	26,21	26,21	26,21
Extrato etéreo (%)	2,75	2,75	2,75	2,75	2,75
Fibra bruta (%)	3,39	3,39	3,39	3,39	3,39
Cálcio (%)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Metionina (%)	0,40	0,55	0,70	0,85	1,00
Metionina + cistina (%)	0,79	0,94	1,09	1,24	1,39
Lisina (%)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Treonina (%)	1,11	1,11	1,11	1,11	1,11
Triptofano (%)	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Arginina (%)	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78
Fenilalanina + tirosina (%)	2,10	2,10	2,10	2,10	2,10
Histidina (%)	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Isoleucina (%)	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
Leucina (%)	2,16	2,16	2,16	2,16	2,16
Valina (%)	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22

¹ Suplemento mineral e vitamínico - (Supre Mais®): composição por kg: Vit. A = 1200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ác. fólico = 1.200 mg; pantotenato de Ca = 12.000 mg; vit. C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mg = 4.000 mg; Zn = 6.000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg; Se = 20 mg.

² Vitamina C (Lutavit C®): sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico com (3500 mg de vitamina C/kg).

³ Banox®. Composição: BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

⁴ Mold Zap Aquativa®. Composição: dipropionato de amônia, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

⁵ De acordo com Furuya et al. (2001b), Pezzato et al. (2002) e Guimarães et al. (2008a,b).

As análises químicas das dietas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos (LANA) do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, seguindo a metodologia citada por Silva & Queiroz (2002).

Todos os peixes foram pesados no início e ao final do experimento. No início do período experimental, 30 peixes do mesmo lote utilizado para a montagem do experimento foram coletados para a determinação da composição química da carcaça inicial. Ao final do experimento os peixes permaneceram em jejum por 24 horas, e pesados em balança digital (0,01 g). Os peixes foram eutanasiados com 300 mg/L de Eugenol (Vidal et. al., 2008).

De cada unidade experimental, três peixes foram destinados para análise do perfil lipídico plasmático, cinco peixes para a determinação da composição química da carcaça e seis peixes para retirada dos filés para análise da composição química. Foi determinado o ganho de peso, consumo e conversão alimentar, sendo que para a determinação do índice hepatossomático, taxa de eficiência proteica e eficiência de retenção de nitrogênio foram utilizadas as expressões descritas por Jauncey & Ross (1982).

Foram calculadas as taxas de deposição de proteína (TDP) e gordura corporal (TDG), eficiência de deposição de proteína (EDP) e energia retida na carcaça (ERC), conforme metodologia descrita por Fraga (2002). Para o cálculo da taxa de deposição de proteína corporal (TDP) foram coletados 30 peixes do lote utilizado para a montagem do experimento, comparados com os peixes que foram abatidos ao final do período experimental. A taxa de deposição de proteína corporal (g) foi calculada segundo a fórmula: $TDP = (QP_{cf} - QP_{ci})/PE$, em que, QP_{cf} é a quantidade, em gramas, de proteína na carcaça final; QP_{ci} é a quantidade de proteína na carcaça inicial e PE é o período experimental, em dias. QP_{cf} foi obtida multiplicando-se o peso da carcaça de um determinado indivíduo, ao final do experimento, pela respectiva proteína bruta da carcaça (PBC), enquanto QP_{ci} foi obtida pelo peso do respectivo indivíduo, ao início do experimento, multiplicando pelo rendimento médio de carcaça e pela PBC média de seu grupo ao nascimento.

A taxa de deposição de gordura corporal (TDG) foi calculada segundo a equação: $TDG = (QG_{cf} - QG_{ci})/PE$, em que, QG_{cf} é a quantidade, em gramas, de gordura na carcaça final; QG_{ci} é a quantidade de gordura na carcaça inicial e PE é o período experimental, em dias. QG_{cf} e QP_{ci} foram obtidas de modo similar as QP_{cf} e QP_{ci} , utilizando-se os valores de extrato etéreo da carcaça ao invés de proteína bruta da

carcaça. A eficiência de retenção de proteína (ERP) foi calculada por meio da fórmula: $ERP = TDP/CDL$, em que, TDP é a taxa de deposição de proteína, em gramas e CDL é o consumo diário, em gramas.

Para as análises do perfil lipídico plasmático os peixes foram previamente anestesiados com 60 mg/L de Eugenol (Vidal et. al., 2008) e o sangue foi coletado, com seringa descartável de 5 mL, da veia caudal dos peixes, e rapidamente transferido para tubo de ensaio sem anticoagulante. O sangue foi mantido em refrigerador (5°C) e, em seguida, os tubos com as amostras de sangue foram centrifugados a 3500 rpm durante 8 minutos à temperatura ambiente. Após centrifugação, o plasma foi utilizado para as análises de colesterol total, lípideos, triacilgliceróis, LDL e HDL. Os triacilgliceróis plasmáticos foram determinados utilizando o método do teste colorimétrico enzimático, utilizando Glicerol-3-fosfato oxidase, através do kit “Triglicerídeos” GPO-PAP” da Kovalent do Brasil Ltda. O colesterol total foi determinado pelo método do teste fotométrico enzimático, em que o colesterol é determinado após hidrólise e oxidação enzimática, utilizando o kit “Colesterol CHOD-PAP” da Kovalent do Brasil Ltda. O HDL foi determinado pelo método de seleção direta sem precipitação por meio de medida enzimática pelo kit “HDL-C Immuno” da Kovalent do Brasil Ltda. Os valores de triacilgliceróis, colesterol total e HDL foram obtidos em analisador automático Vitalab Selectra XL - series – da Vital Scientific N.V (Dieren, Holanda). Os níveis de LDL foram determinados de acordo com Friedewald et al. (1972).

As amostras destinadas para a composição química dos filés foram moídas em processador e as da carcaça foram moídas em moedor de carne após a retirada das escamas e das nadadeiras, até obter-se amostras homogêneas. Todas as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 62 horas e moídas em moinho tipo bola. As análises químicas das amostras da carcaça e dos filés foram realizadas no LANA, seguindo-se metodologia citada por Silva & Queiroz (2002).

A viabilidade econômica da inclusão de metionina nas dietas foi determinada por meio do custo de ração $R\$/kg GP = CA \times Pi$, sendo $R\$/kg GP$ = custo em ração/kg de ganho de peso (R\$), CA = conversão alimentar e Pi = custo do kg de ração (R\$). O custo de ração por quilograma de filé produzido foi determinado por meio da equação: $R\$/kg GF = R\$/kg GP/1x(RF/100)$, sendo $R\$/kg GF$ = custo em ração/kg de ganho em filé (R\$), RF = rendimento de filé (%).

As análises estatísticas foram realizadas por intermédio do programa SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, desenvolvido na UFV (1997). Os dados

foram interpretados por meio de análise de variância a 5% de probabilidade. Os efeitos das relações metionina + cistina:lisina foram analisados por meio dos modelos de regressão linear, quadrático ou descontínuo “*Linear Response Plateau*” (LRP), conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável, com base na significância dos coeficientes de regressão pelo teste F, no coeficiente de determinação, na soma de quadrado dos desvios e no fenômeno em estudo.

Resultados e Discussão

Os valores médios obtidos de temperatura, oxigênio dissolvido e pH da água dos tanques-rede foram de $27,5 \pm 1,2$ °C; $5,70 \pm 0,12$ mg L⁻¹ e $7,37 \pm 0,57$, respectivamente. Os dados obtidos se encontram dentro da faixa recomendada por Sipauba-Tavares (1994) para peixes tropicais de água doce. Destaca-se a menor variação da temperatura e do oxigênio dissolvido da água em tanques-rede em relação aos valores obtidos em tanques de terra, o que facilita o planejamento do manejo alimentar em termos de taxa e frequência de arraçamento, bem como previsão de comercialização dos peixes.

Na Tabela 2, encontram-se os valores médios dos resultados das variáveis de desempenho da tilápia do Nilo, em função dos teores de metionina + cistina nas dietas. Os teores crescentes de metionina + cistina nas dietas não influenciaram ($p > 0,05$) a conversão alimentar, deposição de proteína, rendimento de carcaça e o índice de gordura visceral. Esta suplementação resultou em aumento linear ($p < 0,05$) no rendimento de filé e proteína na carcaça, redução linear no custo da ração por kg do filé, índice hepatossomático e deposição de gordura.

Pela análise *Linear Response Plateau* dos níveis de metionina + cistina sobre o ganho de peso diário, rendimento de filé, nível de proteína bruta do filé e eficiência de retenção de proteína, determinou-se exigência de metionina + cistina. Pela análise *Linear Response Plateau* dos níveis de metionina + cistina sobre o ganho de peso diário, rendimento de filé e eficiência de retenção de proteína, determinou-se exigência de 0,90; 0,99 e 0,84% de metionina + cistina, com base em matéria natural e 1,03; 1,13 e 0,96% de metionina + cistina, com base em matéria seca.

Tabela 2 - Valores médios de desempenho da tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina

Variável*	Metionina + cistina (%)					CV ¹
	0,79	0,94	1,09	1,24	1,39	
Peso inicial (g/peixe)	569,00	544,00	572,00	563,00	570,00	1,86
Peso final (g/peixe)	700,38	700,33	720,38	703,00	725,82	3,28
GPD (g/peixe) ²	4,41	5,21	4,95	4,67	5,19	15,41
Conversão alimentar	1,65	1,43	1,49	1,44	1,43	13,35
TDP (mg/dia)	625,25	808,56	808,56	611,65	936,48	24,54
TDG (mg/dia) ³	725,25	714,62	628,09	649,29	440,48	29,80
ERP (%) ²	32,19	41,63	41,63	29,52	41,13	24,54
Rendimento de carcaça (%)	89,48	89,95	90,10	89,35	89,76	0,93
Rendimento de filé (%) ²	34,97	37,58	38,01	39,45	39,38	7,83
IHS ³	1,89	1,90	1,77	1,78	1,70	8,37
Gordura visceral (%)	4,21	3,81	4,11	4,66	3,25	16,16

*GPD = ganho de peso diário; TDP = taxa de deposição de proteína; TDG = taxa de deposição de gordura; ERP = eficiência de retenção de proteína; IHS = índice hepatossômico

¹Coefficiente de variação.

²Linear Response Plateau (LRP) (P<0,05): ganho de peso diário (Y = 1,6295 + 3,6301X; R² = 0,78; metionina + cistina = 0,90 %; ganho de peso diário = 4,90 g); retenção de proteína (Y = 8,9100 + 31,4590X; R² = 0,71; metionina + cistina = 0,84; retenção de proteína = 35,32 %); rendimento de filé (Y = 11,8346 + 27,3848X; R² = 0,94; metionina + cistina = 0,99 %; rendimento de filé = 38,95 %).

³Efeito linear (P<0,05); deposição de gordura (Y = 1090,00 - 424,10X; R² = 0,77); índice hepatossômico (Y = 2,174 - 0,337X; R² = 0,87)

A exigência de metionina + cistina estimada neste trabalho para ganho de peso é inferior ao obtido por Jackson & Capper (1982), quando determinaram a exigência de 1,27% de metionina + cistina para a tilápia mossambica e sugeriram o valor mínimo de metionina de 0,53%, com a relação metionina + cistina/lisina de 78%. Entretanto é superior ao determinado por Santiago & Lovell (1988) e por Furuya et al. (2001a) para alevinos de tilápia do Nilo, de 0,90 e 1,05% de metionina + cistina, respectivamente.

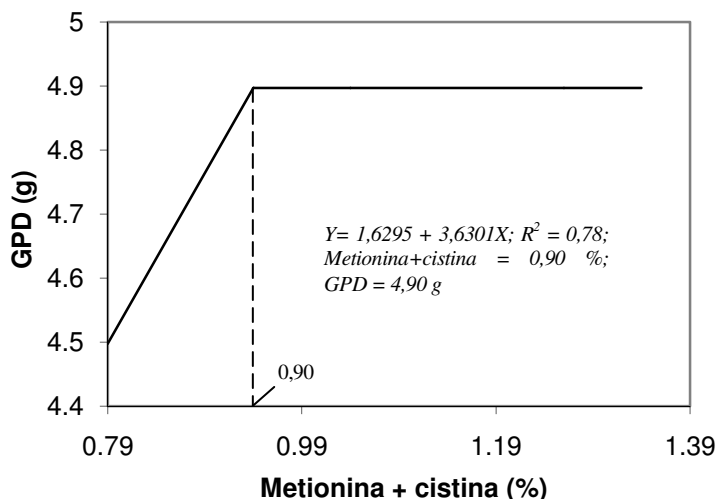


Figura 1 – Relação entre ganho de peso diário (GPD) em função dos níveis de metionina + cistina nas dietas para tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina

No presente estudo, o valor obtido para esta variável foi inferior ao descrito por Alam et al. (2001), em trabalho realizado com “flounder” japonês, de 2,03% de aminoácidos sulfurados na dieta. Valores superiores ao encontrado no presente estudo para ganho de peso também foram obtidos por Burtle & Cai (1995) e Schwarz et al. (1998), em trabalhos realizados com o bagre do canal e carpa comum, que estimaram valores de 1,34% de metionina + cistina (0,94% de metionina) e 1,28% de metionina + cistina (0,86% de metionina), respectivamente.

A proporção metionina:cistina também pode afetar o ganho de peso de tilápias, como descrito por Nguyen & Davies (2009), que observaram que o melhor ganho de peso da tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo relação metionina:cistina mínima de 50:50, sendo obtidos bons valores de ganho de peso em peixes alimentados com dietas contendo relações de 60:40 e 70:30. No presente trabalho, a estimativa da exigência de metionina + cistina de 0,9% resultou em dieta com relação metionina:cistina próxima de 60:40.

O resultado obtido para conversão alimentar difere dos encontrados por diversos autores. Para eficiência alimentar, Kim et al. (1992), em estudo com truta arco-íris, estimaram exigência de 0,68% de metionina + cistina (1,94% da proteína bruta e 0,40% de metionina), enquanto Burtle & Cai (1995), em trabalho realizado com o bagre do canal, encontraram exigências de 1,40% de metionina + cistina (1,00% de metionina),

enquanto para juvenis de perca amarela Twibell et al. (2000) determinaram exigência de 1,00% de metionina + cistina para melhor conversão alimentar, sendo que Furuya et al. (2004) observaram efeito quadrático ($p < 0,05$) dos níveis de metionina + cistina da dieta sobre o ganho de peso, sendo que o maior valor foi estimado com 1,12% de metionina + cistina.

No presente trabalho, foi observado efeito linear crescente ($p < 0,05$) dos níveis de metionina + cistina sobre a eficiência de retenção de proteína e deposição de proteína. Mesmo nos níveis mais elevados de suplementação de metionina não foram observados efeitos negativos sobre a utilização da proteína das dietas, indicando que a suplementação de 0,65% não piorou a utilização da fração nitrogenada das dietas. Furuya et al. (2004) observaram que níveis mais elevados de DL-metionina (3,2 e 4,0 g kg^{-1} de ração), resultaram em piora no ganho de peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e rendimento da tilápia do Nilo, o que pode ter ocorrido pela inter-relação entre os aminoácidos e/ou pelo seu efeito tóxico. Provavelmente, formou-se um “pool” de aminoácidos incompatível com a capacidade hepática em utilizá-lo, uma vez que a metionina sintética é absorvida mais rapidamente que a metionina ligada à proteína.

Kim et al. (1992), em estudo com a truta arco-íris, determinaram exigência de 0,78% de metionina + cistina para melhor utilização da fração proteica da dieta, sendo que em pesquisa realizada com o bagre do canal Burtle & Cai (1995) estimaram exigência de 0,99% de metionina + cistina (0,58% de metionina) na dieta para melhor utilização da proteína da dieta. As diferenças nos resultados obtidos em relação ao do presente trabalho podem estar relacionadas com os níveis de proteína, energia e balanceamento de aminoácidos das dietas, sendo que os estudos realizados anteriormente não consideraram o balanceamento dos aminoácidos limitantes, como a lisina, treonina, arginina e triptofano.

Diferentemente do resultado obtido por Furuya et al. (2004), que observaram efeito quadrático ($p < 0,05$) dos teores de aminoácidos sulfurados digestíveis da ração sobre o rendimento de carcaça, em que foi estimado o valor de 1,13% para o máximo valor dessa variável, no presente trabalho não foi observado efeitos ($p > 0,05$) dos níveis de metionina + cistina sobre o rendimento de carcaça. Por outro lado, foi estimado exigência de 0,99% de metionina + cistina (com base em matéria natural) e de 1,13% de metionina + cistina (com base em matéria seca), pelo modelo LRP, provavelmente em função da maior retenção de proteína corporal, concordando com Burtle & Cai (1995),

que obtiveram maior conteúdo de proteína corporal com 1,17% de metionina + cistina (0,77% de metionina), para alevinos de bagre do canal. O maior rendimento de filé também pode estar relacionado com a menor deposição de gordura corporal e redução dos valores de índice hepatossomático com aumento dos níveis de metionina + cistina nas dietas, além da maior deposição de proteína corporal.

Foi observado aumento linear de proteína e redução linear de gordura na carcaça, sendo que pela análise por RLP não foi observado aumento na porcentagem de proteína do filé dos peixes alimentados com dietas contendo 0,95% de metionina + cistina (1,8% metionina + cistina com base em matéria seca). A variação da relação metionina + cistina:lisina não influenciou ($p>0,05$) os teores de umidade, extrato etéreo e cinzas no filé (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios da composição química da carcaça e do filé da tilápia do Nilo alimentada com as dietas experimentais

Variável	Metionina + cistina (%)					CV ¹
	0,79	0,94	1,09	1,24	1,39	
	Carcaça (%)					
Umidade	65,28	64,87	65,37	63,80	65,33	1,08
Proteína bruta ²	14,60	14,89	15,06	15,06	15,11	3,98
Extrato etéreo ²	12,11	12,21	11,98	11,85	11,08	5,67
Cinzas ²	3,76	3,73	3,64	3,53	3,50	8,12
	Filés (%)					
Umidade	76,56	75,25	75,83	75,56	75,81	0,59
Proteína bruta ³	17,16	17,80	17,73	17,88	17,76	2,06
Extrato etéreo	2,58	2,97	2,69	2,52	2,50	9,19
Cinzas	1,12	1,19	1,50	1,20	1,40	22,22

¹CV = coeficiente de variação.

*Composição química da carcaça inicial (base em matéria natural): umidade 64,61%; proteína bruta 14,71%; extrato etéreo 11,79% e cinzas 3,79%.

²Efeito linear ($P<0,05$): proteína bruta na carcaça ($Y = 14,09 + 0,783X$; $R^2 = 0,80$); extrato etéreo na carcaça ($Y = 13,61 - 1,622X$; $R^2 = 0,73$); cinzas na carcaça ($Y = 4,151 - 0,476X$; $R^2 = 0,96$).

³Linear Response Plateau (LRP) ($P<0,05$): proteína bruta do filé ($Y = 13,39 + 4,613X$; $R^2 = 0,81$; metionina + cistina = 0,95 %); proteína bruta do filé = 17,80 %;

Os aminoácidos sulfurados devem estar presentes em dietas para tilápias na proporção de aproximadamente 3,0% da proteína (NRC, 1993 Furuya et al., 2004; Bomfim et al., 2008). No entanto, é importante considerar que as exigências de metionina + cistina também devem ser avaliadas separadamente em rações para peixes, visto que os peixes, assim como outros animais não ruminantes, exigem um mínimo de metionina, considerando-se que a metionina não pode ser obtida a partir da cistina (trans-sulfuração). Assim, pelos resultados do presente estudo, estimou-se um mínimo

de 0,55% de metionina (0,63% com base em matéria seca), para permitir adequada resposta sobre o desempenho produtivo.

O valor da relação metionina + cistina:lisina obtido neste trabalho (60%) foi próximo aos obtidos por Furuya et al. (2001), Furuya et al. (2004) e Bomfim et al. (2008), para a tilápia do Nilo. Considerando os resultados obtidos, a relação mais adequada para satisfazer as exigências dos aminoácidos sulfurados em rações para a tilápia do Nilo foi de 59,5%, uma vez que não comprometeu o desempenho dos peixes e a deposição de proteína corporal.

Em comparação com a exigência de lisina, destaca-se que os aminoácidos sulfurados são utilizados em maior proporção para os processos de manutenção em relação à lisina (Rollin et al., 2003; Boisen, 2003). Dessa forma, parece adequada a apresentação das exigências de aminoácidos sulfurados e não somente de metionina quando o objetivo principal é a produção de peixes destinados à produção de carne, pela inter-relação entre a metionina e cistina.

No presente trabalho, os maiores teores de proteína na carcaça e no filé dos peixes concordam com os resultados obtidos por Yan et al. (2007), em estudo realizado com rockfish alimentados com dietas contendo mais de 1,58% de metionina na dieta. No entanto, os autores não observaram redução dos teores de gordura na carcaça com o aumento dos níveis de metionina na dieta.

Os maiores teores de proteína na carcaça e no filé e os menores teores de gordura, provavelmente estão relacionados com as funções da metionina sobre a síntese de proteína corporal, bem como no metabolismo dos lipídios. A metionina é um aminoácido essencial, indispensável para o crescimento normal dos peixes, porque participa da síntese de proteínas e outras funções metabólicas (Teshima et al., 2002; Alam et al., 2005).

Com o aumento dos níveis de metionina + cistina nas dietas observou-se redução linear ($p < 0,05$) sobre os valores de colesterol, lipídios totais e triglicérides plasmático (Tabela 4).

Tabela 4 - Perfil lipídico plasmático de tilápias do Nilo alimentadas com as dietas experimentais

Variável	Metionina + cistina (%)					CV
	0,79	0,94	1,09	1,24	1,39	
Colesterol total (mg/dL) ²	231,34	217,29	194,13	199,68	188,07	20,84
Colesterol HDL (mg/dL) ^{2*}	76,31	76,64	70,98	78,88	78,73	19,68
Colesterol LDL (mg/dL) ^{2*}	61,68	52,76	43,40	63,73	54,08	30,96
Lípidios (mg/dL) ²	861,87	870,95	806,52	771,97	767,47	20,43
Triglicérides (mg/dL) ²	363,68	385,70	337,63	312,04	325,28	44,81

* HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteína de baixa densidade.

¹ CV = coeficiente de variação.

² Efeito linear (P<0,05): colesterol total (Y = 281,80 - 69,44X; R² = 0,85); lípidios: (Y = 1024,00 - 191,80X; R² = 0,87); triglicérides: (Y = 454,20 - 100,30X; R² = 0,64).

A redução dos teores de colesterol, lípidios e triglicérides plasmáticos pode estar relacionada as diversas funções da metionina e cistina. A metionina afeta o perfil de aminoácidos plasmáticos em muitas espécies de peixes (Twibell et al., 2000; Mai et al. 2006), bem como o metabolismo de aminoácidos sulfurados (Espe et al., 2008). A S-adenosilmetionina (SAM), sintetizado a partir da metionina, gera compostos como a carnitina (Swenson & Reece, 1996) e colina (Swenson & Reece, 1996; Kasper et al., 2000). A colina atua também, como fator lipotrópico, melhora a síntese de lipoproteínas e evita o fígado gorduroso (Swenson & Reece, 1996), fato que pode explicar a redução do índice hepatossomático dos peixes alimentados com níveis maiores metionina + cistina (Tabela 2).

Por outro lado, Yan et al. (2007) observaram efeitos irregulares da inclusão de níveis crescentes de metionina em dietas para “rockfish” sobre os teores de triglicérides e colesterol plasmático, fato também observado anteriormente por Luo et al. (2005), em estudo realizado com juvenis de “grouper”. Destaca-se que os experimentos acima foram realizados com juvenis, que possuem menores teores de gordura corporal em relação aos peixes adultos, sendo esperado maior efeito dos níveis de metionina em peixes de tamanho comercial para abate.

Existem poucas informações sobre a relação entre metionina ou metionina+cistina sobre o perfil lipídico plasmático em peixes. Na presença de quantidades adequadas de metionina o organismo pode sintetizar colina (Kasper et al., 2000). A metionina atua como doador de grupo metil, sendo necessários também, o ácido fólico e a vitamina B₁₂ (Case et al., 1997). A molécula de colina possui três grupos metil (-CH₃), e reage com a acetil coenzima A, atuando como precursor da acetilcolina, um neurotransmissor (Zeisel, 2000) e da fosfatidilcolina, que é um

elemento estrutural da membrana celular e da transmissão do impulso nervoso, atuando também no metabolismo e transporte de lipídio-colesterol (Bender, 2003). Atua ainda como fator lipotrópico, presente tanto em células vegetais como animais, melhora a síntese de lipoproteínas e evita o fígado gorduroso (Swenson & Reece, 1996). Isto pode ter resultado em menor índice hepatossomático dos peixes no presente trabalho, assim como menor deposição de proteína e redução nos teores de gordura corporal, o que resultou em maior rendimento de filé.

Com o aumento dos níveis de metionina + cistina nas dietas observou-se redução linear ($p < 0,05$) sobre o custo em ração por quilograma de filé produzido. Por outro lado, não foi observado efeito sobre o custo em ração por quilograma de ganho de peso (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios de custo da ração para tilápia do Nilo contendo níveis crescentes de metionina + cistina

	Metionina + cistina (%)					CV ¹
	0,79	0,94	1,09	1,24	1,39	
Custo da ração (R\$/kg)	0,616	0,643	0,670	0,697	0,724	5,96
Custo em ração (R\$/kg GP)	1,01	0,92	1,00	1,00	0,92	10,89
Custo em ração (R\$/kg filé) ¹	3,05	2,47	2,63	2,54	2,35	14,89

¹Coefficiente de variação.

²Efeito linear ($P < 0,05$): custo em ração (R\$/kg filé) ($Y = 3,579 - 0,891X$; $R^2 = 0,61$);

No presente trabalho, observou-se que é possível a suplementação de DL-metionina na proporção de até 0,6%, sem incrementos sobre o custo em ração por quilograma de ganho de peso e redução do quilograma de kg de filé produzido (Figura 2). Em condições práticas, a redução do custo da alimentação é uma variável importante, uma vez que a alimentação representa a maior parcela do custo em criação intensiva de peixes.

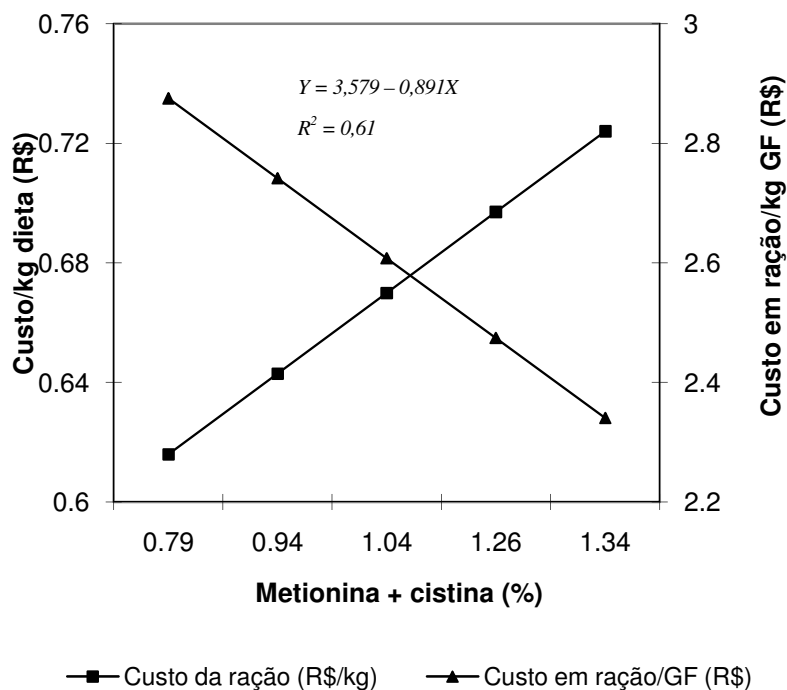


Figura 2 – Relação entre custo da ração e custo em ração por quilograma de filé produzido para tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo níveis crescentes de metionina + cistina

Poucos foram os trabalhos que avaliaram a análise econômica da suplementação de aminoácidos em peixes. Em função dos efeitos da suplementação de metionina sobre o crescimento, composição e rendimento dos filés é importante a avaliação econômica considerando-se o ganho de peso, o consumo e o custo do quilograma de ração, considerando-se o incremento de custo com a suplementação de metionina nas dietas.

Observou-se que a suplementação de metionina melhora o desempenho produtivo, com melhorias no perfil lipídico plasmático, sendo possível viabilizar dietas com níveis mais elevados de suplementação deste aminoácido.

Conclusão

Concluiu-se que para a tilápia do Nilo de 550 a 700 g, a utilização de dieta com 0,90% de metionina + cistina, contendo 0,55% de metionina na ração, correspondente a relação metionina + cistina:lisina de 60% atende as exigências para performance, saúde e resposta econômica.

LITERATURA CITADA

- ABIMORAD, E.G.; FAVERO, G.C.; CASTELLANI, D. et al. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. **Aquaculture**, v.295, p.266-270, 2009.
- ALAM, M.S. et al. Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine. **Aquaculture Nutrition**, v.7, p.201-209, 2001.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M. et al. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicas*. **Aquaculture**, v.248, p.13-19, 2005.
- BENDER, D.A. **Nutritional biochemistry of the vitamins**. 2.ed. Cambridge, USA: Cambridge University Press, 2003, 488p.
- BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; FERREIRA, A.S.; RIBEIRO, F. B. ; TAKISHITA, S.S. Exigência de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science**, v. 37, p. 783-790, 2008.
- BURTLE, G.J.; CAI, Y.J. Additional methionine supplementation required in soybean meal/corn-based diets for channel catfish. **UGA Animal & Dairy Science**, p.2-10, 1995.
- CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrición Canina y Felina**. 1.ed.Madrid – Espana: Hacourt Brace de Espana, S.A., 1997. 417p.
- CHOU, R.L.; HER, B.Y.; SU, M.S. et al. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v.229, p.325-333, 2004.
- ESPE, M., HEVROY, E.M., LIASET, B., LEMME, A., EL-MOWAFI, A. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v.274, p.132-141, 2008.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2008**. Roma, Italia 2009.
- FRIEDEWALD, W.T.; LEVI, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v.18, p. 499-502, 1972.
- FURUYA, W. M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V. R. B. et al. Exigências de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 885-889, 2001.
- FURUYA, W.M. et al. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.4, 2001b.
- FURUYA, W.M. et al. Exigências de metionina + cistina para alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), baseadas no conceito de proteína ideal. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2001a, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba : Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001a. p.1418-1419.
- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v.35, p.1110-1116, 2004.

- GAYLORD, T.G.; BARROWS, F.T.; TEAGUE, A.M. et al. Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.269, p.514-524, 2007.
- GUIMARÃES, I.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, p. 396-404, 2008a.
- GUIMARÃES, I.G.; BARROS, M.M.; TACHIBANA, L. et al. Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.39, p.781-789, 2008b.
- HANSEN, A.; ROSEN LUND, G.; KARLSEN, O. et al. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I — Effects on growth and protein retention. **Aquaculture**, v.272, p.599-611, 2007.
- HU, M.; WANG, Y.; WANG, Q. et al. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture**, v.275, p.260-265, 2008.
- JACKSON, A.J.; CAPPER, B.S. Investigations into requirements of the tilapia (*Sarotherodon mossambicus*) for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 29, p.289-297, 1982.
- JAUNCEY, K.; ROSS, B. **A guide to tilapia feeds and feeding**. Scotland: University, 1982.
- KASPER, C.S.; WHITE, M.R.; BROWN, P.B. Choline is required by Tilapia when methionine is not in excess. **Journal of Nutrition**, v.130, p.238-242, 2000.
- KIM, K. et al. Requirements for sulfur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.101, p.95-103, 1992.
- LOVELL, R.T. **Nutrition and Feeding of Fish**. Van Nostrand Reinhold, New York, NY, USA, 1989. 267p.
- LUO, Z.; LIU, Y.; MAI, K. et al. Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. **Aquaculture**, v.249, p.409–418, 2005.
- MAI, K.; WAN, J.; AI, Q. et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. **Aquaculture**, v.253, p.564-572, 2006.
- MATO, J.M.; ALVAREZ, L.; ORTIZ, P.; PAJARES, M.A. S-Adenosylmethionine synthesis: Molecular mechanisms and clinical implications. **Pharmacology & Therapeutics - Elsevier**, v. 73, n.3, p.265-280, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of warm water fishes and shellfishes**. Washington: National Academy Press, 1993.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Leningher – Princípios da Bioquímica**. 3ed. São Paulo: Editora Sarvier. 2003. 1119p.
- NGUYEN, T.N. & DAVIS, D.A. Re-evaluation of total sulphur amino acid requirement and determination of replacement value of cystine for methionine in semi-purified diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture nutrition**, v.15, p.247-253, 2009.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; PEZZATO A.C. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1595-1604, 2002.
- ROLLIN. X.; MAMBRINI, M.; ABOUDI, T. et al. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. **British Journal of Nutrition**, v.90, p. 865-876, 2003.
- SANTIAGO, C.B.; LOVELL, R.T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, v.118, p.1540-1546, 1988.

- SCHWARZ, F.J. et al. Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v.161, p.121-129, 1998.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- SIPAUBA-TAVARES, V.L.S. 1994. Limnologia aplicada à aquicultura. Jaboticabal: FUNEP. 70p.
- SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **DUKES: Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 1996, 856p.
- TESHIMA, S.; ALAM, M. S.; KOSHIO, S. et al. Assessment of requirement values for essential amino acids in the prawn, *Marsupenaeus japonicas*. **Aquaculture Research**, v.33, p.395-402, 2002.
- TWIBELL, R.G.; WILSON, K.A.; BROWN, P.B. Dietary sulfur amino acid requirement of juvenile yellow perch fed the maximum cystine replacement value for methionine. **Journal of Nutrition**, v.130, p.612-616, 2000.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG**. Viçosa, MG: 1997 (Versão 8.0).
- VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B., ALBINATI, A.C.L. et al. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1069-1074, 2008.
- YAN, Q.; XIE, S.; ZHU, X. et al Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Aquaculture nutrition**, v.13, p.163-169, 2007.
- ZEISEL, S.H. Choline: an essential nutrient for humans. **Nutrition**, v.16, n.7/8, p.669-671, 2000.
- ZHOU, Q.C., WU, Z.H., TAN, B.P., CHI, S.Y., YANG, Q.H. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v.258, p.551-557, 2006.