



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**NÍVEIS DE PROTEÍNA BRUTA E LIPÍDIOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE
TAMBATINGA (*Colossoma macropomum* × *Piaractus brachypomum*)**

Elias Welengane

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. ÁLVARO JOSÉ DE ALMEIDA BICUDO
Orientador

Recife,
Fevereiro/2017

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

Elias Welengane

Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* × *Piaractus brachypomum*)

Nº folhas.: il.

Orientador: Álvaro José de Almeida Bicudo
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura). Departamento de Pesca e Aquicultura.
Inclui bibliografia

CDD [Nº]

1. Palavra-chave: exigências nutricionais

2. Palavra-chava: nutrição de peixes

I. Nome do Orientador: Álvaro José de Almeida Bicudo

II. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* × *Piaractus brachypomum*)

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

TÍTULO

Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga
(*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*)

Elias Welengane

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 21/02/2017 pela seguinte Banca Examinadora.

Prof. Dr. ÁLVARO JOSÉ DE ALMEIDA BICUDO

(Orientador)

Departamento de Zootecnia/Setor Palotina
Universidade Federal do Paraná

Profa. Dra. MARIA DO CARMO MOHAUPT MARQUES LUDKE

Departamento de Zootecnia
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. EUDES DE SOUZA CORREIA

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedicatória

Dedico este trabalho a meu Pai **Martins Welengane** e minha mãe **Emília Bento** (*in memoriam*), meus suportes interno.

A minha filha **Eufrásia Martins Welengane** pelo amor, compreensão e sacrifício durante a minha ausência.

A minha namorada **Cecilia José Chimbote** pelo amor e apoio incondicional durante a minha formação.

Agradecimentos

A Deus Pai todo poderoso por tudo que fez por mim durante a minha longa caminhada.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, em particular o Programa de pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pela concessão da carta de aceite. A Unidade Acadêmica de Garanhuns por disponibilizarem toda a infraestrutura laboratorial para a condução da pesquisa. Foi uma honra fazer parte do grupo de estudante desta instituição.

A Universidade Zambeze de Moçambique pela concessão da bolsa de estudo

Ao professor Dr. Álvaro José de Almeida Bicudo pela orientação, oportunidade e motivação durante a formação, mesmo nos momentos difíceis. Foi um momento ímpar ser orientado por uma pessoa especial.

Aos meus amigos Agostinho Nhavanguane, Litos Jorge Raul, Armando Muchanga, Berramos Saraiva, Milagre Pele, pelo apoio material e amizade nos momentos difíceis durante a estadia no Brasil.

A minhas irmãs Olga Maria Welengane, Marla Martins Welengane, Vanira Martins Welengane e Katia Marlene Martins pelo amor e apoio incondicional.

Aos meus primos Anselmo Martins Capuchila e Nilva Lufiande Rocha por cuidarem da minha filha neste período da minha ausência.

A professora doutora Teresa Cristina Deiró pelo acolhimento e amor de mãe que nunca tive.

Por fim aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Piscicultura da Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco Elison Macedo, Gabriela Duarte, Willian Xavier, Thiago André, Leilane Ferreira, Eduardo Fragozo e Fábio Silva pela amizade e a disponibilidade de ajudarem durante a realização deste trabalho.

Resumo

A proteína é um nutriente de elevado custo e essencial para o crescimento dos peixes e o seu uso como fonte de energia é indesejável. No presente estudo avaliaram-se níveis de proteína bruta (200, 250, 300 e 350 g kg⁻¹) e lipídios (110 e 140 g kg⁻¹) em dietas para juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*) durante 63 dias. Foram distribuídos 264 juvenis (15,2 ± 0,2 g) em aquários de 160 litros (11 peixes/aquário), em um delineamento fatorial inteiramente casualizado 4×2 (n=3). As dietas foram fornecidas três vezes ao dia até a aparente saciedade. A taxa de sobrevivência foi de 100% ao final do experimento. O ganho de peso e a taxa de crescimento específico foram influenciados (p<0,05) pela proteína bruta e lipídios, e pela interação entre ambos. O consumo de ração foi influenciado pela concentração de lipídios (p<0,05) e proteína (p<0,05) das rações, embora a interação entre estes não tenha sido significativa (p>0,05). A máxima eficiência alimentar foi observada com 308 g kg⁻¹ de proteína bruta. A retenção de proteína foi inversamente proporcional (P< 0,05) ao incremento da proteína dietética nas dietas com menor concentração lipídica (110 g kg⁻¹). O aumento do lipídio das rações diminuiu a exigência de PB para a máxima retenção proteica, estimada em 292,7 g kg⁻¹ PB. As concentrações de lipídios afetaram (p<0,05) a concentração de umidade, proteína, lipídio corporal. A exigência de proteína para peso médio final de juvenis de tambatinga é de 253 g kg⁻¹ em dietas com 140 g kg⁻¹ de lipídios e uma relação energia: proteína de 13,8 g kcal ED g⁻¹ PB.

Palavras-chave: exigências nutricionais, peixes híbridos, relação energia:proteína, fontes de energia não-proteica, efeito economizador da proteína

Abstract

Protein is a high-cost nutrient essential for fish growth and its use as an energy source is undesirable. In this study, crude protein levels (200, 250, 300 and 350 g kg⁻¹) and lipids (110 and 140 g kg⁻¹) were evaluated in diets for tambatinga juveniles (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*) during 63 days. A total of 264 juveniles (15.2 ± 0.2 g) were distributed in aquariums of 160 liters (11 fish/aquarium), in a completely randomized 4x2 factorial design (n = 3). Diets were given three times daily until apparent satiety. The survival rate was 100% at the end of the experiment. The weight gain and the specific growth rate were influenced (p < 0.05) by crude protein and crude lipid and through the interaction between both. Feed intake was influenced by the lipid (p < 0.05) and protein (p < 0.05) concentrations in their feed, although the interaction between them was not significant (p > 0.05). The maximum feed efficiency was observed with 308 g kg⁻¹ crude protein. Protein retention was inversely proportional (P < 0.05) to the dietary protein increment in diets with lower lipid concentration (110 g kg⁻¹). The increase in dietary lipids decreased the demand for CP for maximum protein retention, estimated at 292.7 g kg⁻¹ CP. Lipid concentrations affected (p < 0.05) the concentration of moisture, protein, and body lipids. The minimum requirement for the mean final weight of juvenile tambatinga is 253 g kg⁻¹ in diets with 140 g kg⁻¹ of lipids and an energy: protein ratio of 13.8 g kcal ED g⁻¹ CP.

Key words: nutritional requirements, hybrid fish, energy:protein ratio, non-protein energy source, protein sparing effect

Lista de figuras

	Página
Figura 1- Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) considerando o ganho de peso de juvenis de tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachipomus</i>) alimentados com rações com diferentes concentrações de lipídios (110 e 140 g kg ⁻¹).....	48
Figura 2- Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) considerando a taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachipomus</i>) alimentados com rações de diferentes concentrações de lipídios dietéticos (110 e 140 g kg ⁻¹).....	48
Figura 3- Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) considerando a taxa de eficiência alimentar (TEA) de juvenis de tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachipomus</i>) alimentados com rações de diferentes concentrações de lipídios dietéticos (110 e 140 g kg ⁻¹).....	48
Figura 4- Estimativa da exigência de proteína bruta (PB) considerando o valor produtivo da proteína (VPP) de juvenis de tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachipomus</i>) alimentados com rações com diferentes concentrações de lipídios dietéticos (110 e 140 g kg ⁻¹).....	48

Listas de tabelas

Página

Tabela 1- Formulação e composição química das dietas experimentais.....45

Tabela 2- Performance (média \pm desvio padrão) de juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*) alimentados com dietas contendo níveis de proteína bruta (PB) e lipídios (LIP).....46Tabela 3- Composição química corporal e muscular (médias \pm desvio padrão) na matéria natural de juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*), alimentados com dietas contendo níveis de proteína bruta (PB) e lipídio (LP).....47

Sumário

	Página
Dedicatória	4
Agradecimentos	5
Lista de figuras	8
Listas de tabelas	9
1- Introdução	11
2- Referências bibliográficas	17
1. Artigo científico	23
Introdução	26
Material e Métodos	28
Resultados	31
Discussão	33
Referências bibliográficas	39
3- Considerações Finais	49

1- Introdução

As pesquisas sobre exigências nutricionais são fundamentais para a viabilidade econômica da produção aquícola. A formulação e manufatura de dietas com base em exigências nutricionais bem definidas aumenta a biodisponibilidade dos nutrientes, melhora a assimilação pelos peixes, a rentabilidade econômica e a qualidade ambiental no sistema de cultivo (SANTOS et al., 2013). A proteína é um nutriente de elevado custo e essencial para o crescimento dos peixes. Os peixes exigem maiores quantidades de proteína dietéticas durante o seu crescimento em relação, por exemplo, ao exigido por aves e suínos, sendo esta diferença ainda maior em espécies de peixes carnívoras. Em geral, as dietas dos peixes contêm entre 24-50% de proteína bruta, variando em função da fase de desenvolvimento, do ambiente e da espécie, entre outros fatores. Um fator importante no atendimento da exigência proteica dos peixes é um adequado balanço energético-proteico. Se a dieta fornecida ao peixe não possuir quantidades ideais de energia de origem não-proteica, este utilizará parte da proteína para suprir suas necessidades energéticas. Por outro lado, o excesso de energia diminui a ingestão de alimento, e consequentemente reduz o crescimento (NRC, 2011). O uso de fontes energéticas não-proteicas (lipídios e carboidratos) em níveis adequados melhora a eficiência na utilização da proteína nas dietas, processo esse conhecido como "efeito economizador da proteína" (GARCIA et al., 2012). No caso dos lipídios, a sua adição em excesso nas dietas pode levar a diminuição no consumo de alimento, reduzindo o ganho de peso e aumentando a deposição de gordura corporal (LV et al., 2015).

A formulação de rações para a maioria das espécies nativas de interesse comercial na aquicultura brasileira é realizada majoritariamente com base na exigência nutricional de espécies de clima temperado. Em se tratando de peixes híbridos esta premissa tem se tornando ainda mais complexa, uma vez a formulação para estes em geral, quando disponível, se utiliza de valores de exigência determinados para as espécies parentais. Entretanto, considerando que o objetivo da hibridação é obter indivíduos mais aptos e produtivos que os pais, é plausível supor que isso acarrete em particularidades quanto a sua exigência nutricional. A tambatinga é um peixe híbrido resultante do cruzamento da fêmea do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com o macho da pirapitinga (*Piaractus brachipomus*). Ambas as espécies parentais da tambatinga apresentam hábito alimentar onívoro, elevada taxa de crescimento e fácil adaptação a diferentes sistemas de cultivo (FERREIRA et al., 2013). O tambaqui, a

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

pirapitinga, o pacu *Piaractus mesopotamicus* e os diferentes híbridos possíveis entre estas três espécies são conhecidos popularmente como “peixes redondos”. Em 2014 foram produzidas cerca de 158.361 toneladas de peixes redondos na aquicultura brasileira, dos quais 40.267 toneladas ($\pm 25\%$) proveniente dos híbridos tambacu e tambatinga (IBGE, 2014). Apesar da importância econômica, existem poucos estudos nutricionais com híbridos de peixes redondos (ALENCAR ARARIPE et al., 2011a, b; PEREIRA et al., 2011).

1.1- Relação proteína: energia na nutrição de peixes

As proteínas são os principais constituintes orgânicos dos tecidos dos peixes, perfazendo de 65 a 75% do total da matéria seca corporal. São responsáveis pela estrutura (músculo, colágeno e queratina), mecanismos de regulação metabólica (enzimas e hormônios), transporte (hemoglobina) e defesa (anticorpos) (PORTZ e FURUYA, 2012). O fornecimento da proteína dietética nos peixes abaixo da exigência mínima desejada resulta no baixo do crescimento e na perda de peso. Porém, o excesso de proteína dietética será convertido em energia de armazenamento ou simplesmente eliminado (nitrogênio) no ambiente podendo gerar problemas ambientais (NRC, 2011).

A exigência proteica dos peixes é afetada por vários fatores, dentro os quais destacam-se: a) idade dos peixes, pois a exigência diminuiu com o crescimento dos peixes (CHO et al., 2015); b) fatores ambientais, em particular a temperatura, onde a exigência da proteína bruta é maior quando os animais estão na faixa ótima de temperatura para crescimento (NRC, 2011); c) hábito alimentar, peixes carnívoros apresentam maior exigência em proteína se comparadas às espécies herbívoras/onívoras; d) qualidade e concentração de fontes energéticas não-proteica, que adequadamente balanceadas proporcionarão o “efeito economizador da proteína” (CHO et al., 2015, XU et al., 2015).

Os peixes não têm exigência em proteína *per se*, mas sim de aminoácidos, em quantidades adequadas e devidamente balanceados entre si. Existem dois grupos de aminoácidos: os essenciais (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina), que são aqueles que não são sintetizados pelos animais, ou não são sintetizados em quantidades suficientes e os não-essenciais (cistina, tirosina, alanina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutâmico, glicina, prolina e

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

serina), que são aqueles que são sintetizados endogenamente pelos animais (NRC, 2011).

A aquisição dos aminoácidos é realizado pelo processo de hidrólises das proteínas, seguido pela absorção do trato intestinal e posterior distribuição para o corpo via circulação sanguínea (PORTZ e FURUYA, 2012). A absorção dos aminoácidos livres ocorre na membrana apical do enterócito, através de transportadores específicos dependentes de Na^+ , de transportadores não dependentes de Na^+ e por difusão. A absorção de dois aminoácidos livres pelo mesmo transportador faz com que, na presença de grandes quantidades de um dos aminoácidos (desbalanceamento) ocorra a inibição da absorção do outro. Por isso, à formulação adequada das dietas para peixes, deve levar em consideração não só a quantidade, mas também a relação entre aminoácidos (RIBEIRO et al., 2012).

A utilização ajustada da proteína e outros nutrientes na dieta, em particular os carboidratos e lipídios, são fundamentais para retenção da proteína para o crescimento, buscando uma ração economicamente viável e ambientalmente sustentável (GUIMARÃES et al., 2015; RIBEIRO et al., 2016). Os carboidratos são considerados a fonte energética não-proteica de menor custo. Entretanto, os peixes têm limitada capacidade de aproveitamento deste nutriente, se comparado a aves e suínos, por exemplo. A capacidade de aproveitamento dos carboidratos como fonte energética está associada em grande parte ao hábito alimentar da espécie, sendo que espécies onívoras conseguem aproveitar maiores quantidades que espécies carnívoras (MORRIS et al., 2003).

Por outro lado, os lipídios, além de atuarem como fonte de ácidos graxos essenciais, e de melhorarem a palatabilidade da dieta, são bem aproveitados como fonte de energia por diferentes espécies, independentemente do hábito alimentar (RAHIMNEJAD et al., 2015). A absorção dos lipídios na dieta de peixes é feita principalmente na forma de ácidos graxos e monoglicerídios, passando por difusão pelos enterócitos e posteriormente transportada nos capilares sanguíneos (RIBEIRO et al., 2012). As fontes de energias não proteicas quando adicionadas nas dietas melhoram a eficiência de retenção da proteína, incrementam a energia digestível disponível e diminuem as perdas metabólicas de nitrogênio (MEURER et al., 2002). Deficiência ou excesso de energia na dieta pode reduzir as taxas de crescimento. Baixa relação energia/proteína da dieta faz os peixes utilizarem grande parte da proteína como energia, encarecendo desta forma a dieta. Por outro lado, alta relação energia/proteína

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

(E: P) reduz o consumo voluntário de alimentos e aumenta a deposição de lipídios na carcaça (VAN DER MEER et al., 1995, 1997b; SANTOS et al., 2010). A relação energia: proteína para peixes varia de 7,0 a 10 kcal/g de proteína e esta variação está relacionada ao hábito alimentar dos peixes (PORTZ e FURUYA, 2012). Peixes carnívoros apresentam menor relação, pois aproveitam mais eficientemente a energia proveniente de gorduras se comparados aos herbívoros, que aproveitam com maior eficiência os carboidratos como fonte energética. Outra característica que influencia na relação é a forma de expressão dos nutrientes, pois, quando se trabalha com nutrientes digestíveis, a relação aumenta (BITTENCOURT et al., 2010).

1.2- A tambatinga (*Colossoma macropomum* × *Piaractus brachipomus*) e suas espécies parentais

Os peixes da família Serrasalmidae são comumente chamados de peixes redondos e constituem um grupo economicamente importante de peixes na produção aquícola de diversos países da América Latina. Neste grupo diverso, entre as espécies amazônicas, destacam-se o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e a pirapitinga (*P. brachypomus*), que possuem elevadas taxas de crescimento, facilidade de adaptação aos sistemas de cultivo intensivo e qualidade da carne (GUIMARÃES et al., 2015).

O tambaqui, originário das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, é a segunda espécie mais produzida na aquicultura brasileira, principalmente devido à alta taxa de crescimento e baixos custos de produção (GUIMARÃES et al., 2015). O seu cultivo é mais frequente nas regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste, devido à existência de características climáticas favoráveis para o seu desenvolvimento e uma boa aceitação pelo mercado consumidor (RIBEIRO et al., 2016). Assim como outras espécies nativas, o tambaqui tem a capacidade de digerir alimentos de origem animal e vegetal. É um excelente peixe filtrador, planctófago na fase larval e alimentando-se de pequenas sementes e invertebrados nas fases de alevino e juvenil (SILVA et al., 2003).

Estudos realizados com objetivo de determinar a exigência de proteína para o tambaqui apresentam resultados discrepantes, tornando difícil recomendar níveis proteicos para as diversas fases de desenvolvimento. Juvenis de tambaqui ($6,73 \pm 0,83g$) alimentados até aparente saciedade duas vezes ao dia apresentaram o melhor crescimento com 25% de proteína bruta e $2,70 \text{ kcal g}^{-1}$ de energia digestível (ED)

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

(GUTIÉRREZ et al., 2010). Van der Meer et al. (1995) observaram os melhores resultados de desempenho zootécnico com juvenis de tambaqui (125g de peso inicial) alimentados com 30% de PB e 3,4 kcal ED g⁻¹, e a melhor relação energia: proteína registrada foi 11,3 kcal ED g⁻¹ PB. Santos et al. (2010) estudando níveis proteicos (28, 32, 36 e 40% proteína bruta) e regime alimentar (com privação e sem privação) em tambaqui (peso inicial de 50,3g) apresentaram melhor desempenho com 36% proteína bruta. Estes autores concluíram que a melhor relação energia: proteína para juvenis de tambaqui foi 9,50 kcal ED g⁻¹, e que a privação alimentar não influenciou a exigência proteica. Provavelmente, essas diferenças são explicadas pela composição da dieta, a frequência e taxa de alimentação empregada, as condições ambientais durante a condução dos estudos a presença de alimentos naturais e outras peculiaridades de cada ensaio (CAMARGO et al., 1998). Além da determinação das exigências nutricionais, também vêm sendo utilizadas outras estratégias de aumentar a eficiência de utilização das dietas em tambaquís, como o uso de aditivos alimentares (SILVA et al., 2007), suplementação de vitaminas e minerais (CHAGAS e VAL, 2003; MATSUO et al., 2005; ARIDE et al., 2010) e o uso de enzimas exógenas em dietas para a espécie (NUNES et al., 2006; SILVA et al., 2007), por exemplo.

A pirapitinga, vulgarmente conhecida como pacu vermelho em algumas regiões do Brasil e países da América Latina (NASCIMENTO et al., 2010), é também uma espécie oriunda da bacia Amazônica e do rio Orinoco. Em ambiente selvagem os espécimes podem atingir até 80 cm de comprimento e 20kg de peso vivo (GUIMARÃES et al., 2015). Em cativeiro, apresenta rápido crescimento, rusticidade, resistência a baixas temperaturas e níveis de oxigênio dissolvido na água, ao manuseio e a enfermidades. Também possui atributos corporais que atraem o mercado consumidor: cabeça com menor dimensão, facilidade para descamação e coloração diferenciada em diferentes partes do corpo – avermelhada nas regiões peitoral e opérculos e prateada nas demais partes do corpo (CHAGAS et al., 2005).

Por ser uma espécie relativamente recente na aquicultura sul-americana, estudos com relação a nutrição da pirapitinga são escassos. Vásquez-Torres et al. (2011) determinaram em 31,6% a exigência de proteína bruta para juvenis de pirapitinga (peso inicial de 15g) utilizando dietas semipurificadas. Estudo avaliando o perfil de aminoácidos para a espécie concluiu que apesar da caseína ser uma proteína de alta qualidade, seu perfil de AAE não é suficiente para atender às exigências da espécie

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

quando utilizada como única fonte proteica (VÁSQUEZ-TORRES e ARIAS-CASTELLANOS, 2013).

Na produção em cativeiro, a escolha das espécies cultivadas sempre leva em consideração a capacidade de expressar o máximo ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de produto comercializável. Embora o melhoramento genético através de seleção e formação de linhagens possa melhorar o desempenho das espécies em cativeiro, em espécies autóctones estas ferramentas são pouco utilizadas pelos produtores. De fato, em busca de uma espécie mais adaptada as condições de cultivo, é comum na piscicultura brasileira, a utilização da hibridação (HILSDORF e ORFÃO, 2011). A tambatinga é um peixe híbrido, resultante do cruzamento da fêmea do tambaqui com o macho da pirapitinga (PORTO-FORESTI et al., 2010). Estudos nutricionais com este peixe são escassos. Alencar Araripe et al. (2011a) avaliaram a redução da proteína bruta de 40 para 28%, com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga (peso inicial de 6,5 g). Estes autores sugeriram que o nível de 28% de PB, quando há suplementação com aminoácidos, pode ser utilizado em dietas para alimentação dos alevinos de tambatinga, pois não prejudica seu desempenho. Ainda sobre a nutrição proteica da espécie, Alencar Araripe et al. (2011b) definiram que a melhor relação treonina : lisina digestível foi de 48,97%, o que corresponde aos teores de inclusão de 1,11 e 1,00% de treonina total e digestível, respectivamente. Muito embora as espécies parentais da tambatinga, ou filogeneticamente próximas como o pacu, já possuam maior volume de informações quanto as suas exigências nutricionais, alguns destes estudos apresentam resultados discrepantes (BICUDO et al., 2010; VÁSQUEZ-TORRES et al., 2011; PEREIRA et al., 2011; GUIMARÃES et al., 2015). Ademais, recomenda-se que na existência de estudos experimentais sobre as exigências nutricionais da espécie, estes sejam utilizados para a formulação das dietas (NRC, 2011). Assim, conclui-se pela necessidade de melhorar a compreensão das exigências nutricionais da tambatinga, em particular da exigência proteica e sua relação com fontes energéticas não-proteicas.

1.3- Objetivos do trabalho

1.3-1. Objetivo geral

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Determinar a exigência proteica de juvenis de tambatinga alimentados com dietas contendo diferentes concentrações lipídicas.

1.3-2. Objetivos específicos

- a) Determinar a influência dos níveis de proteína bruta e de lipídios dietéticos sobre o desempenho zootécnico, retenção de nutrientes e composição química corporal e muscular de juvenis de tambatinga;
- b) Determinar a exigência em proteína bruta de juvenis de tambatinga alimentados com diferentes concentrações lipídicas.
- c) Determinar a melhor relação energia:proteína em dietas para juvenis de tambatinga;

2- Referências bibliográficas

ALENCAR ARARIPE, M.N.B.; ARARIPE, H.G.A.; LOPES, J.B.; CASTRO, P.L.; BRAGA, T. E.A.; FERREIRA A.H.C.; ABREU, M.L.T. Redução da proteína bruta com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1845–1850, 2011a.

ALENCAR ARARIPE, M.N.B.; ARARIPE, H.G.A.; LOPES, J.B.; BRAGA, T.E.A.; ANDRADE, L.S.; MONTEIRO, A.B. Relação treonina:lisina para alevinos de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37, p.393–400, 2011b.

ARIDE, P.H.R.; FERREIRA, M.S.; DUARTE, R.M.; OLIVEIRA, A.M.; FREITAS, D.V.; SANTOS, A.L.W.; VAL, A.L. Ascorbic acid (vitamin c) and iron concentration in tambaqui, *Colossoma macropomum*, iron absorption. **Journal of the World of Aquaculture Society**, v. 41, p.291–297, 2010.

BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; CYRINO, J.E.P. Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 213–222, 2010.

BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A.; SIGNOR A.A.; BOSCOLO, W.R.; FREITAS, J.M.A. Proteína e energia em rações para alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.2553-2559, 2010.

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Universidade Federal de Santa Maria: Santa Maria 2013.

BORBA, M.R.; FRACALOSSO, D.M.; PEZZATO, L.E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J.M. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, v. 16, p. 362-369, 2003.

BRENNER, M. Determinação da exigência de proteína do pacu (*Colossoma mitrei* Berg,1895). 1988. 87 p. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** - Universidade Federal de Viçosa, 1988.

CAMARGO, A.C.S.; VIDAL JÚNIOR, M.V; DONZELE, J.L.; ANDRADE, D.R.; SANTOS, L.C. Níveis de energia metabolizável para tambaqui (*Colossoma macropomum*) dos 30 aos 180 gramas de peso vivo. Composição das Carcaças, **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.27, p.409-415, 1998.

CHAGAS, E. C.; CARVALHO, G. L.; JÚNIOR, H. M.; ROUBACH, R.; PAULA LOURENÇO, J. N. Desempenho de tambaqui cultivado em tanques-rede, em lago de várzea, sob diferentes taxas de alimentação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,v. 40,p.833-835, 2005.

CHAGAS, E. C.; VAL, A. L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.397-402, 2003

CHO, S.H., KIM H.S.; MYUNG S.H.; JUNG W.G.; JIN CHOI J. LEE S.M. Optimum dietary protein and lipid levels for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*, Hilgendorf 1880) **Aquaculture Research** v.46, p.2954–2961, 2015.

CORRÊA, C. F. DE AGUIAR, L.H.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAIS. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v.147, p. 857–62 2007.

FRACALOSSO, D.M. Brazilian Species. In: WEBSTER, C.D.; LIM, C. (Ed.). **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. New York:CABI Publishing, 2002.chap. 28, p. 388-395.

FREITAS, J.M.A.; SARY,C.; LUCHESI,J.D.; FEIDEN, A.; BOSCOLO W.R. Proteína e energia na dieta de jundiás criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.40, p.2628-2633, 2011.

GARCIA, A.S.; GONÇALVES, L.U.; CAVALLI, R.O.;VIEGAS, E.M.M. ‘Lipídios’, in Fracalossi, D. M. and Cyrino, J. E. P. (eds) **Nutriaqua - Nutrição e alimentação de**

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, pp. 79-96, 2012.

GUIMARÃES, I.G.; MARTINS, G.P. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review **Journal of Applied Ichthyology** 31, p.57–66. 2015.

GUTIÉRREZ, F.W.; QUISPE, M.; VALENZUELA, L.; CONTRERAS, G.; ZALDÍVAR J. Utilización de la proteína dietaria por alevinos de la gamitana, *Colossoma macropomum*, alimentados con dietas isocalóricas **Revista Peruana de Biología** 17(2): 219 – 223, 2010.

HILSDORF, A. W.S; ORFÃO L.HA. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil, **Revista Brasileira de Zootecnia.** 40 p.317-324, (supl. especial) 2011.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2014) **Produção da pecuária municipal** ISSN 0101-4234, Rio de Janeiro 42, p. 1-39, 2011.

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

LV, Y.; CHANG, Q.; CHEN, S.; BO QIN, C.Y.; WANG, Z.. Effect of Dietary Protein and Lipid Levels on Growth and Body Composition of Spotted Halibut, *Verasper variegatus* **JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY.** V. 46, p. 311-318, 2015.

NASCIMENTO, A. F.; MARIA, A. N.; PESSOA, N. O.; CARVALHO, M. A. M.; VIVEIROS, A. T. M. Out-of-season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). **Animal and Reproduction Science** 118, p 324– 329, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2011) N. R. C. Nutrients Requirements of Fish and Shrimp. Washington: **National Academy Press**, 2011.p1-15.

NUNES, E. S. S.; CAVERO, B. A. S.;PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. (2006). Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.139-143, 2006.

MEURER, F.; HAYASHI C.; BOSCOLO W.R.; SOARES, C.M. Lipídios na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p. 566-573, 2002.

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

MORRIS, P.C.; BEATTIE C.; ELDER B., FINLAY J.;GALLIMORE P.; JEWISON W., LEE D.; MACKENZIE K.; MCKINNEY R. SINNOTT, R.; SMART A.; WEIR, M. Effects of the timing of the introduction of feeds containing different protein and lipid levels on the performance and quality of Atlantic salmon, *Salmo salar*, over the entire seawater phase of growth. **Aquaculture**,v.225, p.41-65, 2003.

MATSUO, A. Y., WOOD, C. M. &VAL, A. L., Effects of copper and cadmium on ion transport and gill metal binding in the Amazonian teleost tambaqui (*Colossoma macropomum*) in extremely soft water. **Aquatic Toxicology** V.74,p.351–364, 2005.

OISHI, C. A.; NWANNA, L. C.; PEREIRA FILHO, M. Optimum dietary protein requirement for Amazonian Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fish meal free diets. **Acta Amazonica** V.40, p.757–762, 2010.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; PEDINI, M. Situação atual da aqüicultura brasileira e mundial. In: Valenti, W.C.; Poli, C.R.; Pereira, J.A.; Borghetti, J.R. (Ed.). **Aqüicultura no Brasil – bases para um desenvolvimento sustentável**. CNPq: Brasília. 2000. p.353-382.

PEREIRA M. C.; AZEVEDO R. V.; BRAGA L. G. T. Óleos vegetais em rações para o híbrido tambacu (*macho Piatactus mesopotamicus x fêmea Colossoma macropomum*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v.12, p.551–562, 2011.

PORTO-FORESTI, F. Hibridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: Baldisseroto, B.; Gomes, L. DE C. (Eds.). . **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. 2^a. ed. Santa Maria: editoraufsm, 2010. p. 589–606.

PORTZ, L.; FURUYA, W. M. ‘Energia, proteína e aminoácidos’, in Fracalossi, D. M. and Cyrino, J. E. P. (eds) **Nutriaqua - Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aqüicultura brasileira**. 1^a. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, pp. 65–77, 2012.

RAHIMNEJAD S.; BANG I.C., PARK J.Y.; SADE A., CHOI J.; LEE S.M., Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance feed utilization and body composition of juvenile hibrid grouper, *Epinephelus fuscoguttatus x E. lanceolatus*. **Aquaculture** v.446,p 283-284, 2015.

RIBEIRO, F.M., FREITAS, P.V.D.X., SANTOS, E.O., SOUSA, R.M., CARVALHO T.A. ALMEIDA, E.M., Santos T.O. & Costa A.C. Alimentação e nutrição de pirapitinga (*Piaractus brachypomums*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*): **Revisão, Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.10, p 873-882 2016.

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

RIBEIRO, P.A.P.; MELO D.C.; COSTA L.S.; TEIXEIRA E.A. Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce. 2012. p.37-44,

ROBAINA, L.; SCHUCHARDT D. Proteínas em dietas para peixes. La nutrición y alimentación em piscicultura. Publicaciones Científicas y Tecnológicas de la Fundación Observatorio Español de Acuicultura. p.91-150. 2009.

VAN DER MEER, M. B.; MACHIELS, M. A. M.; VERDEGEM, M. C. J. The effect of dietary protein level on growth, protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum*(Cuvier). **Aquaculture Research**. v. 26, p.901–909, 1995.

VAN DER MEER, M.B.; ZAMORA, J. E.; VERDEGEM, M.C.J. Effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, v.28, p.405-417, 1997.

XU, G.F., WANG Y., LIU, Y., YANG, Y.H., YU S.L. & MOU, Z.B. Growth, feed utilization and body composition of juvenile Manchurian trout, *Brachymistax lenok* (Pallas). fed diferente dietary protein and lipid levels, **Aquaculture Nutrition**,v.21, p.322-340, 2015.

SANTOS, L., PERREIRA- FILHO, M., SOBREIRA, C., ITUASSU, D. & FONSECA, F. D. Exigência proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. (Protein requirement of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) after feed deprivation). **Acta Amazonica** 40, p.597–604, 2013.

SANTOS, E.L., CAVALCANTI, M.C.A., FREGADOLLI, F.L., MENESES, D.R., TEMOTEO, M.C., LIRA, J.E. & FORTES, C. R. (2010) Considerações sobre o manejo nutricional e alimentar de peixes carnívoros **Revista Eletrônica Nutritime**, p. 2314 – 2351, 2010.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA-FILHO, M.; CAVERO B. A. S. & OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. (2007). Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). **Acta Amazonica**, v. 37, p.157-164. 2007.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Frutos e sementes consumidos pelo tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1815-1824, 2003.

VIDAL JÚNIOR, M.V.; DONZELE J.L.; CAMARGO A.C.S.; ANDRADE D.R & SANTOS L.C. Níveis de Proteína Bruta para Tambaqui (*Colossoma macropomun*), na

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

fase de 30 a 250 gramas. Desempenho dos Tambaquis, **Revista Brasileira de Zootecnia**.v.27, p.421-426, 1998.

VÁSQUEZ-TORRES, W.; PEREIRA-FILHO.; M.; ARIAS-CASTELLANOS. J. A. 2011. Optimum dietary crude protein requirement for juvenile cachama (*Piaractus brachypomus*) **Ciência Rural**, v.41, p.2183-2189, 2011.

VÁSQUEZ-TORRES, W. & ARIAS-CASTELLANOS, J. A. Crescimento de juvenis de *Piaractus brachypomus* alimentados com dietas contendo diferentes perfis de aminoácidos essenciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 849-856, 2013.

1. Artigo científico

Os resultados obtidos durante o trabalho experimental desta dissertação estão apresentados no artigo intitulado “Efeito economizador da proteína pelo lipídio dietético em juvenis do híbrido tambatinga ($\text{♀}Colossoma macropomum \times \text{♂}Piaractus brachipomus$)”, que se encontra anexado.

Artigo científico a ser encaminhado a Revista *Aquaculture International*

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

**Efeito economizador da proteína pelo lipídio dietético em juvenis do híbrido
tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* × ♂ *Piaractus brachipomus*)**

Elias Welengane ^a & Álvaro José de Almeida Bicudo ^b.

^a Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPaq), Universidade Federal Rural de Pernambuco, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos - 52171-900. Recife, PE, Brasil.

^b Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Paraná – Rua Pioneiro, 2153 – Dallas – 85950-000 - Palotina, PR, Brasil

**Efeito economizador da proteína pelo lipídio dietético em juvenis do híbrido
tambatinga ($\text{♀} \textit{Colossoma macropomum} \times \text{♂} \textit{Piaractus brachipomus}$)**

Resumo

A produção de dietas aquícolas com adequado balanceamento entre proteína e lipídios é necessária para garantir a sustentabilidade da aquicultura, particularmente quando novas espécies são cultivadas. Foram avaliados quatro níveis de proteína bruta (200, 250, 300 e 350 gkg⁻¹) associados a duas concentrações lipídicas (110 e 140 gkg⁻¹) em dietas para juvenis de tambatinga ($\text{♀} \textit{Colossoma macropomum} \times \text{♂} \textit{Piaractus brachypomus}$) durante 63 dias. Os peixes (15,2 ± 0,2 g) foram distribuídos em 24 aquários de 160 litros (11 peixes/aquário), em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x2), com três repetições. As dietas foram fornecidas três vezes ao dia até a aparente saciedade. O aumento do lipídio das dietas reduziu (P<0,05) a exigência proteica para ganho de peso de 326 g kg⁻¹ (dietas com 110 g kg⁻¹ de LIP) para 255 g kg⁻¹ (dietas com 140 g kg⁻¹). A retenção de proteína dos peixes aumentou (P<0,05) quando alimentados com até 293 g kg⁻¹ de PB e 140 g kg⁻¹ LIP; nas dietas com 110 g kg⁻¹ LIP a retenção proteica diminuiu linearmente (P<0,05) com o aumento da proteína das dietas. A eficiência alimentar aumentou (P<0,05) até 308 g kg⁻¹ de PB, independente da concentração lipídica (P>0,05). A interação entre lipídio e proteína dietéticos influenciou (P<0,05) a concentração de lipídios, proteína e umidade corporal; o mesmo foi registrado (P<0,05) para o conteúdo de lipídio e proteína muscular. Em conclusão, a elevação de lipídios em dietas para tambatinga economizou o uso da proteína dietética como fonte de energia. Estima-se que juvenis de tambatinga de 15-120 possuam uma exigência mínima de 255 g kg⁻¹ PB e 140 g kg⁻¹ de LIP e relação proteína:energia de 17,4 g PB kJ ED⁻¹.

Palavras-Chave: nutrição de peixes, peixes híbridos, Characiformes, exigência nutricional

Abstract

Producing diets with proper balance between protein and lipids is required to ensure the sustainability of aquaculture, particularly when new species are farmed. This research assessed four levels of crude protein (200, 250, 300, and 350 g kg⁻¹) associated with two lipid concentrations (110 and 140 g kg⁻¹) in diets for juveniles of tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* × ♂ *Piaractus brachypomus*) over 63 days. The fish (15.2 ± 0.2 g) were distributed in 24 160 L tanks (11 fish/tank) in a 4x2 completely randomized factorial design with three replicates. The diets were provided three times a day until apparent satiety. Increasing the lipid content in the diets reduced (P<0.05) the protein requirements for weight gain from 326 g kg⁻¹ (diets with 110 g kg⁻¹ LIP) to 255 g kg⁻¹ (diets with 140 g kg⁻¹). Protein retention in the fish increased (P<0.05) when they were fed up to 293 g kg⁻¹ CP and 140 g kg⁻¹ LIP; in the diets with 110 g kg⁻¹ LIP, protein retention decreased linearly (P<0.05) as the protein content in the diets increased. Feed efficiency increased (P<0.05) at up to 308 g kg⁻¹ CP regardless of lipid concentration (P>0.05). The interaction between dietary lipid and protein impacted (P<0.05) lipid and protein concentration and body moisture; the same was observed (P<0.05) for muscle lipid and protein content. In conclusion, increasing lipid content in tambatinga diets spared the use of dietary protein as an energy source. It is estimated that tambatinga juveniles with 15-120 g have a minimum requirement of 255 g kg⁻¹ CP and 140 g kg⁻¹ LIP and a protein:energy ratio of 17.4 g CP kJ DE⁻¹.

Keywords: fish nutrition, hybrid fish, Characiformes, nutritional requirement

Introdução

O conhecimento das exigências nutricionais das espécies cultivadas é condição *sine qua non* para a formulação de dietas economicamente viáveis e ambientalmente amigáveis (Cyrino et al. 2010). Devido a proteína ser o macronutriente mais oneroso nas dietas para peixes, geralmente este é o primeiro nutriente cuja exigência é determinada no cultivo de novas espécies potenciais para aquicultura. Entretanto, a exigência proteica dos peixes é influenciada por diferentes fatores, dentre os quais a concentração de fontes energéticas não-proteicas nas dietas (NRC 2011).

Aumentar o lipídio dietético visando o “efeito economizador da proteína” é uma estratégia bastante conhecida na formulação das dietas aquícolas. A adequada relação lipídio:proteína aumenta o ganho de peso, a eficiência alimentar e a retenção de nitrogênio, diminuindo o custo das rações e o impacto ambiental da atividade. Por outro lado, excesso de lipídios dietéticos pode limitar a ingestão de nutrientes, diminuir o desempenho e aumentar a deposição de gordura corporal/muscular, diminuindo a qualidade do produto comercializado (carne). Entretanto, a utilização de fontes energéticas não proteicas, assim como a relação ideal que resultará em efeito economizador da proteína dietética, está associada as características biológicas e fisiológicas intrínsecas de cada espécie (Gominho-Rosa et al. 2015; Moro et al. 2016).

Os peixes serrasalmídeos dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus* incluem espécies onívoras que estão entre as mais importantes para a aquicultura latino-americana (Campos-Baca and Kohler 2005; Guimarães and Martins 2015). Em 2015, o tambaqui *C. macropomum*, o pacu *P. mesopotamicus*, a pirapitinga *P. brachypomus* e mais os híbridos interespecíficos destas espécies, corresponderam por 39% das 483.241 toneladas de peixes produzidos na aquicultura brasileira (IBGE 2016). Embora

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

importância comercial dos híbridos entre os gêneros *Colossoma* e *Piaractus* tenha crescido significativamente nos últimos anos (Hashimoto et al. 2012), estudos nutricionais com estes peixes são escassos (Macari et al. 1994; Alencar Araripe et al. 2011a; Pereira et al. 2011; Alencar Araripe et al. 2011b; Uzcátegui-Varela et al. 2014). A tambatinga, híbrido resultante do cruzamento entre a fêmea de *C. macropomum* com o macho de *P. brachypomus*, tem apresentado elevado crescimento em sistemas intensivos (Rodrigues et al. 2016), nos quais a alimentação é o principal componente dos custos de produção. Assim, considerando que: (i) mesmo para as espécies parentais da tambatinga as exigências nutricionais não estão bem definidas (Guimarães and Martins 2015) e (ii) um dos principais fatores para a hibridação de peixes em cativeiro é gerar indivíduos mais produtivos que ambas as espécies parentais (Hashimoto et al. 2012), é plausível hipotetizar que a tambatinga possui exigências nutricionais diferenciadas em relação as outras espécies de serrasalmídeos que a originaram.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar os melhores níveis de proteína e lipídios dietéticos para juvenis de tambatinga.

Material e Métodos

Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas (Tabela 1) para conter quatro níveis de proteína bruta (200, 250, 300 e 350 g kg⁻¹) associados a dois níveis de lipídios (110 e 140 g kg⁻¹), constituindo um delineamento fatorial (4×2) inteiramente casualizado (n=3). Em cada dieta, a farinha de peixe forneceu 40% da proteína bruta dietética.

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Devido à ausência de estudos prévios de digestibilidade para a tambatinga, estimou-se a energia digestível (ED) do milho e do farelo de soja utilizando os coeficientes de digestibilidade aparente para o tambacu *C. macropomum* × *P. mesopotamicus* (Bicudo et al., no prelo); da farinha de peixe (Abimorad *et al.* 2008) e óleo de soja (Gonçalves e Cyrino, 2014) para o pacu. O tambacu e o pacu foram selecionados como espécies-referência para a elaboração das dietas experimentais em virtude da proximidade filogenética e hábito alimentar similar ao da tambatinga.

Durante a fabricação das dietas, os ingredientes foram finamente moídos (≤ 1 mm), misturados, umedecidos com aproximadamente 25-30% de água e granulados (2-3 mm) em moinho de rosca sem fim. Após secagem (24 h) em estufa de ventilação forçada (50°C), as dietas foram armazenadas em recipientes plásticos protegidos de luz e mantidas sob refrigeração durante todo o período experimental.

Peixes e condições experimentais

Os juvenis de tambatinga foram adquiridos de uma piscicultura comercial (Propriá, SE, Brasil) e adaptados as condições laboratoriais por 21 dias. Neste período, os peixes eram alimentados até a aparente saciedade com ração comercial (32% PB) duas vezes ao dia.

Ao início do experimento, após 24 horas de jejum, os peixes foram anestesiados (benzocaina 50 mg L⁻¹), pesados (peso inicial 15,2 ± 0,2 g) e distribuídos aleatoriamente em 24 aquários de vidro (160L úteis, 11 peixes por aquários) inseridos em um sistema de recirculação de água, com filtro biológico, filtro ultravioleta, aeração suplementar e controle de temperatura. O fotoperíodo durante o período experimental foi de 12 horas.

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Durante 63 dias os peixes foram alimentados diariamente até a aparente saciedade com as dietas experimentais, em três refeições diárias (08:00, 12:00 e 16:00h). O consumo de cada aquário foi monitorado semanalmente.

Coleta e processamento de amostras

Onze peixes da população inicial foram sacrificados por overdose de benzocaína (500 mg L⁻¹), moídos e congelados para determinação da composição química corporal. Ao fim do período experimental todos os peixes de cada aquário foram sacrificados por overdose de anestésico (benzocaína; 500 mg L⁻¹), contados e pesados. Cinco peixes de cada aquário foram amostrados aleatoriamente, moídos e mantidos sob refrigeração (-20 °C) até posterior análise química. Os peixes restantes (seis) foram individualmente pesados e eviscerados para obtenção do peso do fígado, da gordura viscerossomática e também amostras de tecido muscular para análise química.

Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Licença nº 085/2016).

Análises químicas

Os ingredientes, dietas experimentais e amostras teciduais dos peixes foram analisados quanto a sua composição química de acordo com as normas preconizadas pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000). A umidade foi determinada através do método gravimétrico, em estufa a 105 °C até peso constante. O teor de cinzas foi determinado pelo método gravimétrico em mufla a 600°C durante 6

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

horas. A proteína bruta (N x 6,25) foi determinada pelo método de micro-Kjedhal e o extrato etéreo foi determinado após extração por hexano pelo método de Soxhlet. A fibra bruta foi determinada pela digestão ácido/básica.

Procedimentos estatísticos

Os dados foram previamente testados quanto a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (teste de Bartlett). Depois, foram submetidos à análise de variância de duas vias (*Two-way ANOVA*) e quando detectados efeitos significativos dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan. Realizou-se análise de regressão para estimar a exigência proteica da espécie. O nível de significância utilizado foi $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software SAS versão 9.1.

Resultados

A taxa de sobrevivência foi de 100% ao final do experimento. A interação entre os níveis dietéticos de proteína e lipídios foi significativa ($P < 0,05$) para o peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específico e valor produtivo da proteína (Tabela 2). A elevação do lipídio dietético de 110 para 140 g kg⁻¹ proporcionou *efeito economizador da proteína* nestas variáveis, reduzindo a exigência proteica para o crescimento e aumentando a eficiência de uso da proteína nas dietas com maior concentração lipídica (Figura 1). De fato, considerando o ganho de peso, a exigência em proteína reduziu 23% (de 328 para 255 g kg⁻¹) quando se elevou a concentração de lipídios. A retenção de proteína reduziu ($P < 0,05$) proporcionalmente ao aumento da proteína dietética nas

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

dietas com 110 g kg⁻¹ de lipídios. Por outro lado, nas dietas com maior concentração lipídica, a retenção proteica aumentou ($p < 0,05$) até 293 g kg⁻¹, reduzindo a partir deste ponto.

O consumo de ração foi influenciado pela contração lipídica ($P < 0,05$) e proteica ($P < 0,05$) das dietas, mas a interação entre estes fatores não existiu ($P > 0,05$). Apesar disso, apenas nos peixes alimentados com 20% de PB foi possível registrar diminuição do consumo alimentar ($P < 0,05$) devido à elevação do lipídio dietético (Tabela 2). A eficiência alimentar aumentou ($P < 0,05$) proporcionalmente ao incremento de proteína nas dietas até 308 g kg⁻¹, diminuindo a partir de então (Figura 1). Nenhum efeito significativo dos níveis lipídicos ou da interação destes com a proteína dietética foi registrado sobre a eficiência alimentar. Entretanto, as dietas com 200PB/140LIP resultaram em maior ($P < 0,05$) eficiência alimentar se comparado aos peixes alimentados com as dietas 200PB/110LIP.

O índice hepatossomático diminuiu ($p < 0,05$) com o aumento da concentração lipídica das dietas de 110 (média agrupada = $2,03 \pm 0,18$) para 140 g kg⁻¹ (média agrupada = $1,81 \pm 0,16$), sem efeito significativo do nível proteico ou da interação entre PB×LIP. O índice de gordura visceral diminuiu ($P < 0,05$) com a elevação da proteína das dietas ($Y = 4,392 - 8,11 \times 10^{-3}x$; $r^2 = 0,68$), sem qualquer efeito do nível lipídico ($P > 0,05$) ou interação significativa entre estes fatores.

A interação entre PB×LIP influenciou significativamente o conteúdo corporal de água, proteína e lipídio dos peixes (Tabela 3). Nas dietas com 110 g kg⁻¹ de LIP, a umidade corporal aumentou com a elevação da PB até 303 g kg⁻¹, resultando em diminuição a partir deste ponto ($Y = 274,267 + 2,749x - 4,53 \times 10^{-3}x^2$; $r^2 = 0,88$). Entretanto, aumentando a concentração dietética de lipídios e proteína aumentou significativamente ($Y = 612,267 + 0,193x$; $r^2 = 0,48$) a umidade corporal dos peixes. Os peixes alimentados

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

com concentrações crescentes de proteína reduziram ($P < 0,05$) a deposição de lipídios corporais nas dietas com 110 g kg⁻¹ ($Y = 247,10 - 0,461x$; $r^2 = 0,89$) e 140 g kg⁻¹ ($Y = 238,533 - 0,375x$; $r^2 = 0,96$). Por outro lado, a deposição de proteína corporal apresentou seus maiores valores nos peixes alimentados com 300PB/140LIP ($Y = 1222,667 - 13,681x + 0,055x^2 - 7,16 \times 10^{-5}x^3$; $r^2 = 0,93$) e 350PB/110LIP ($Y = 249,217 - 0,844x + 1,7 \times 10^{-3}x^2$; $r^2 = 0,61$). Apenas o conteúdo de cinzas corporais não foi significativamente afetado por nenhum dos fatores estudados (PB e LIP) ou pela interação entre eles.

A composição química muscular dos peixes foi menos influenciada pela interação entre PB e LIP do que a composição corporal total, sendo esta observada apenas nas concentrações de lipídio e proteína, que apresentaram o mesmo comportamento descrito para a composição corporal total. O conteúdo de cinzas e umidade muscular dos peixes foi influenciada ($P < 0,05$) apenas pela concentração de proteína dietética.

Discussão

Devido as características intrínsecas de cada espécie e as particularidades das condições experimentais de cada estudo (dietas, etc), a comparação entre estudos é complexa e deve ser feita com cautela. Os resultados do presente estudo sugerem que o híbrido tambatinga possui exigência proteica inferior ao estimado para juvenis de *C. macropomum* (280-480 g kg⁻¹ PB) e *P. brachypomus* (31,6%), como reportado, respectivamente, por (Guimarães and Martins 2015) e (Vásquez-Torres et al. 2011). De fato, no único estudo a registrar exigência inferior a 280 g kg⁻¹ de PB para *C. macropomum* (Vidal Júnior et al. 1998), foi relatada a presença de plâncton (248 e 370

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga... mg/m⁻³) nas unidades experimentais. Embora contrariando a opinião dos referidos autores, é possível que neste estudo a exigência em proteína tenha sido subestimada, uma vez que o tambaqui é uma espécie filtradora. (Alencar Araripe et al. 2011b) sugeriram que dietas com 280 g kg⁻¹ de PB e suplementadas com aminoácidos cristalinos, poderiam ser utilizadas para juvenis de tambatinga (6,5 g) sem prejuízo ao desempenho da espécie. Entretanto, no presente estudo, juvenis de tambatinga alimentados com dietas com 140 g kg⁻¹ de lipídios apresentaram menor exigência em proteína para ganho de peso do que o valor preconizado aqueles autores.

A elevação do conteúdo lipídico das dietas proporcionou evidente “*protein sparing effect*” pelos juvenis de tambatinga. Este resultado diverge dos registrados para outros caracídeos brasileiros como o pacu (Bicudo et al. 2010), o curimatá *Prochilodus affinis* (Bomfim et al. 2005), o lambari *Astyanax bimaculatus* (Cotan et al. 2006), a piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Sa and Fracalossi 2002) e o piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Bittencourt et al. 2010), nos quais a elevação do conteúdo energético/lipídio das dietas não resultou em redução na exigência proteica dos peixes. De fato, poucas espécies onívoras brasileiras têm demonstrado capacidade de economizar a proteína dietética pela maior utilização de fontes energéticas não-proteicas. (van der Meer et al. 1997) registraram um modesto incremento – de 2 para 2,3% – no uso líquido da proteína por juvenis de tambaqui quando o lipídio dietético foi elevado de 5 para 20%. Em jundiás *Rhamdia quelen*, bagre onívoro com tendência a carnívora (Oliveira Filho and Fracalossi 2006), a elevação do conteúdo energético das dietas de 3200 para 3650 kcal kg⁻¹ diminuiu em 13% a exigência em proteína bruta (de 37,3 para 32,6% PB).

Peixes dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus* têm demonstrado utilizar muito eficientemente fontes energéticas não-proteicas (ABIMORAD and CARNEIRO 2007).

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Por exemplo, juvenis de *C. macropomum* aumentaram significativamente a atividade de lipases intestinais quando a concentração lipídica da dietas aumentou de 49 para 145 g kg⁻¹ (DE ALMEIDA et al. 2006). Considerando a energia digestível estimada para as rações com 140 g kg⁻¹ (14,6 kJ g⁻¹), a ótima relação proteína:energia dietética para juvenis de tambatinga é 17,4 g PB kJ ED, e portanto dentro do estimado . Em geral, a melhor relação energia: proteína para a alimentação das diferentes espécies de peixes se encontra entre 7 e 10 kcal ED g⁻¹ de proteína (NRC 2011). Neste ponto, a tambatinga também não diferiu de outras espécies dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus*, cujas melhores relações energia: proteína foram estimadas entre 9 e 15 kcal ED g⁻¹ PB (Bicudo et al. 2010; Guimarães and Martins 2015).

A redução do consumo devido ao aumento na concentração lipídicas das dietas é bem registrada para diferentes espécies (NRC 2011). No presente estudo, exceto pelas rações com menor nível proteico (200 g kg⁻¹), a ingestão de alimento não foi influenciada pela elevação do conteúdo lipídicos das dietas, assim como registrado por (Ye et al. 2016) para a tilápia do Nilo e por (Cho et al. 2015) para o rockfish *Sebastes schegeli*. No presente estudo, a diferença entre a energia digestível estimada para as dietas com 110 (13,6 kJ g⁻¹) e 140 (14,6 kJ g⁻¹) g kg⁻¹ de lipídios é inferior a amplitude energética (2,5 kJ g⁻¹) na qual (Bicudo et al. 2010) registraram consumo similar (P>0,05) de juvenis de pacu. De fato, estudo recentes (Volkoff et al. 2017) demonstraram que os mecanismos fisiológicos que regulam o consumo nesta espécie não foram influenciados por alterações bruscas na composição das dietas, como a total substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja. Estudos sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos na regulação do consumo em caracídeos autóctones são relativamente recentes. Entretanto, alta similaridade na presença e distribuição destes fatores já foi detectada entre *P. mesopotamicus* (Volkoff et al. 2017) e *P. brachypomus*

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

(Volkoff 2015). Por isso, é plausível supor que o híbrido tambatinga, assim como *P. mesopotamicus* - espécie filogeneticamente próxima - também possua capacidade de regular seu consumo, independentemente da composição da dieta.

Apenas os peixes que receberam dietas com 200 g kg⁻¹ de PB aumentaram significativamente (P<0,05) a sua eficiência alimentar. Nenhuma melhora (P>0,05) na eficiência alimentar foi registrada a partir desta concentração proteica devido a variação lipídica das dietas, embora tenha-se estimado uma exigência de 308 g kg⁻¹ de PB. Assim, conclui-se que ao se fornecer aos juvenis de tambatinga dietas que garantam a exigência mínima estimada para ganho de peso (255 g kg⁻¹ de PB/ 140 g kg⁻¹ de lipídios), também se estará obtendo a melhor eficiência alimentar dos peixes. Os resultados de eficiência alimentar da tambatinga alimentados com dietas com 250-350 g kg⁻¹ PB são similares aos registrados em estudos prévios com *C. macropomum* (LIMA et al. 2016) e *P. brachyomus* (Vásquez-Torres et al. 2011) quando alimentados com os níveis proteicos mínimos estimados nos referidos estudos. Por outro lado, a tambatinga apresentou eficiência alimentar superior ao híbrido 'piraqui' (fêmea de *P. brachyomus* × macho de *C. macropomum*) alimentados com 260 g kg⁻¹ de PB (Uzcátegui-Varela et al. 2014).

Do ponto de vista ambiental e econômico, é necessário maximizar o uso da proteína dietética, não só pelo alto custo deste nutriente, mas para diminuir o impacto ambiental provocado pelo excesso de nitrogênio excretado pelos peixes (Cyrino et al. 2010). A retenção de proteína pelos peixes que receberam dietas com 140 g kg⁻¹ elevou-se até 293 g kg⁻¹ de PB; enquanto nos peixes alimentados com 110 g kg⁻¹ a retenção decresceu linearmente. Juvenis de *P. brachyomus* (46 g) alimentados com dietas isolipídicas (± 300 g kg⁻¹) aumentaram linearmente a excreção nitrogenada em reposta ao aumento da proteína dietética 250 para 350 g kg⁻¹ (David Ruales and Vásquez Torres

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

2014), corroborando assim os resultados do presente estudo. De fato, a maior retenção de proteína devido ao aumento da concentração lipídica das dietas já foi reportado para outras espécies (van der Meer et al. 1997; Cho et al. 2015). No presente estudo, as taxas de retenção de proteína da registradas (40-57%) no presente estudo são similares as reportadas por (Alencar Araripe et al. 2011b) para juvenis de tambatinga, por (Bicudo et al. 2010) para *P. mesopotamicus* e por (van der Meer et al. 1997) para *C. macropomum*. Entretanto, são superiores as usualmente registradas (25-30%) em outras espécies de peixes (NRC 2011; Wang et al. 2015; Cho et al. 2015).

Diversos estudos tem o índice hepatossomático e da relação de gordura visceral como variáveis para estimar o estoque energético em diferentes espécies de peixes (Fernandes et al. 2016). No presente estudo o reduziu ($P < 0,05$) com incremento do nível de lipídio dietético, demonstrando possivelmente a mobilização de glicogênio e/ou lipídios estocados no fígado. Entretanto, nenhuma explicação lógica foi encontrada para estes resultados.

No presente estudo a interação entre os níveis de proteína e lipídios influenciaram ($P < 0,05$) fortemente o conteúdo de lipídio, proteína e umidade do corpo inteiro. Peixes dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus* são espécies reofílicas, e por isso tendem a acumular suas reservas energéticas na forma de gordura visceral. Entretanto, ao analisar a composição do musculo dos juvenis de tambatinga, a interação entre os dois fatores estudados influenciou ($P < 0,05$) apenas os níveis de proteína e lipídio. A tambatinga em geral é comercializada na forma de eviscerada, de postas ou filés. Em geral, peixes cultivados são mais gordurosos que espécimes selvagens, e a composição química da dieta influenciará diretamente a composição química do produto final a ser comercializado (Shearer 1994). A tambatinga, assim as outras espécies de *Colossoma* e *Piaractus*, são classificados como peixes gordos para o consumo humano (Jobling

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

2001). Por serem espécies reofílicas, peixes dos gêneros *Colossoma* e *Piaractus* depositam a maior parte da gordura na cavidade visceral, embora possuam também significativa deposição de gordura muscular e subcutânea. Considerando que a tambatinga é comercializada na forma eviscerada, postas e filés, o fornecimento de dietas nutricionalmente desbalanceadas – em especial a relação proteína: lipídio – pode diminuir a aceitação do consumidor e o tempo de vida útil do produto (Lie 2001). No presente estudo, os níveis dietéticos preconizados para máxima retenção de proteína (300 PB/140 LIP) também proporcionaram maiores valores de proteína e menor deposição lipídica no músculo dos peixes, sendo portanto também adequados do ponto de vista da qualidade do produto final.

Em conclusão, a exigência proteica de juvenis de tambatinga entre 15 e 120 g é de 255 g kg⁻¹ quando combinados com 140 g kg⁻¹ de lipídios, e a ótima relação energia proteína é 13,8 g kcal ED g⁻¹ PB.

Referências bibliográficas

- ABIMORAD EG, CARNEIRO DJ (2007) Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles ? fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition* 13:1–9. doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00438.x
- Alencar Araripe M de NB, Araripe HG de A, Lopes JB, et al (2011a) Relação treonina: lisina para alevinos de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*). *Boletim do Instituto de Pesca* 37:393–400.
- Alencar Araripe M de NB de, Alencar Araripe HG de, Lopes JB, et al (2011b) Redução da proteína bruta com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40:1845–1850. doi: 10.1590/S1516-35982011000900001
- Bicudo AJA, Sado RY, Cyrino JEP (2010) Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) in response to dietary protein and energy levels. *Aquaculture Nutrition* 16:213–222. doi: 10.1111/j.1365-2095.2009.00653.x
- Bittencourt F, Feiden A, Signor AA, et al (2010) Proteína e energia em rações para alevinos de piavuçu. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:2553–2559. doi: 10.1590/S1516-35982010001200001
- Bomfim MAD, Lanna EAT, Serafini MA, et al (2005) Proteína bruta e energia digestível em dietas para alevinos de curimatá (*Prochilodus affinis*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 34:1795–1806. doi: 10.1590/S1516-35982005000600001

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Campos-Baca L, Kohler CC (2005) Aquaculture of *Colossoma macropomum* and Related Species in Latin America. In: American Fisheries Society Symposium. pp 541–561

Cho SH, Kim HS, Myung SH, et al (2015) Optimum dietary protein and lipid levels for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*, Hilgendorf 1880). *Aquaculture Research* 46:2954–2961. doi: 10.1111/are.12450

Cotan JLV, Lanna EAT, Bomfim MAD, et al (2006) Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:634–640. doi: 10.1590/S1516-35982006000300002

Cyrino JEP, Bicudo ÁJ de A, Sado RY, et al (2010) A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:68–87. doi: 10.1590/S1516-35982010001300009

David Ruales CA, Vásquez Torres W (2014) Dietary protein and body mass affect ammonium excretion in white cachama (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 27:121–132.

DE ALMEIDA LC, LUNDSTEDT LM, MORAES G (2006) Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. *Aquaculture Nutrition* 12:443–450. doi: 10.1111/j.1365-2095.2006.00446.x

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Fernandes AC, Carvalho PLPF de, Pezzato LE, et al (2016) The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. *Aquaculture* 456:83–93. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.02.001

Gominho-Rosa M do C, Rodrigues APO, Mattioni B, et al (2015) Comparison between the omnivorous jundi?? catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the utilization of dietary starch sources: Digestibility, enzyme activity and starch microstructure. *Aquaculture* 435:92–99. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.035

Guimarães IG, Martins GP (2015) Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. *Journal of Applied Ichthyology* 31:57–66. doi: 10.1111/jai.12976

Hashimoto DT, Senhorini JA, Foresti F, Porto-Foresti F (2012) Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. *Reviews in Aquaculture* 4:108–118. doi: 10.1111/j.1753-5131.2012.01067.x

IBGE IB de G e E (2016) *Produção da pecuária municipal 2015*, 43rd edn. IBGE, Rio de Janeiro

Jobling M (2001) Nutrient repartitioning and the influence of feed composition on body composition. In: HOULIHAN D, BOUJARD T, JOBLING M (eds) *Food Intake in Fish*. Blackwell Publishing, Oxford, pp 354–375

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Lie Ø (2001) Flesh quality - the role of nutrition. *Aquaculture Research* 32:341–348.

doi: 10.1046/j.1355-557x.2001.00026.x

LIMA CDS, BOMFIM MAD, SIQUEIRA JC DE, et al (2016) Crude protein levels in the diets of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), fingerlings.

Revista Caatinga 29:183–190. doi: 10.1590/1983-21252016v29n121rc

Macari M, Carneiro DJ, Larson ML, Machado CR (1994) Influence of dietary protein intake and recombinant human somatotropin administration on growth and body composition of juvenile tambacu (a *Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum* cross). *Aquaculture* 127:363–369. doi: 10.1016/0044-

8486(94)90238-0

Moro G V., Silva TSC, Zanon RB, Cyrino JEP (2016) Starch and lipid in diets for dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier 1816): growth, nutrient utilization and digestive enzymes. *Aquaculture Nutrition* 22:890–898. doi: 10.1111/anu.12305

NRC NRC (2011) Nutrients requirements of fish and shrimp. The National Academies Press, Washington, D.C.

Oliveira Filho PRC de, Fracalossi DM (2006) Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:1581–1587. doi: 10.1590/S1516-35982006000600002

Pereira MC, Azevedo R V, Braga LGT (2011) Óleos vegetais em rações para o híbrido tambacu (macho *Piaractus mesopotamicus* x fêmea *Colossoma macropomum*). *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal* 12:551–562.

- WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...
- Rodrigues APO, Lima AF, Maciel PO, et al (2016) Stocking density during the initial grow-out phase of tambatinga in net pens. *Ciência Rural* 46:163–168. doi: 10.1590/0103-8478cr20150164
- Sa MVC, Fracalossi DM (2002) Dietary Protein Requirement and Energy to Protein Ratio for Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) Fingerlings. *Revista Brasileira de Zootecnia* 31:1–10. doi: 10.1590/S1516-35982002000100001
- Shearer KD (1994) Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119:63–88. doi: 10.1016/0044-8486(94)90444-8
- Uzcátegui-Varela JP, Méndez X, Isea F, Parra R (2014) Evaluación de dietas con diferente contenido proteico sobre el desempeño productivo de alevines del híbrido cachamay (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) en condiciones de cautiverio. *Revista Científica* 24:458–465.
- van der Meer MB, Zamora JE, Verdegem MCJ (1997) The effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research* 28:405–417. doi: 10.1111/j.1365-2109.1995.tb00885.x
- Vásquez-Torres W, Pereira-Filho M, Arias-Castellanos JA (2011) Optimum dietary crude protein requirement for juvenile cachama *Piaractus brachypomus*. *Ciência Rural* 41:2183–2189. doi: 10.1590/S0103-84782011001200023
- Vidal Júnior M V, Dozele JL, Camargo AC da S, et al (1998) Níveis de proteína bruta para tambaqui (*Colossoma macropomun*), na fase de 30 a 250 gramas. 1.Desempenho dos tambaquis 1. *Revista Brasileira de Zootecnia* 27:421–426.

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Volkoff H (2015) Cloning and tissue distribution of appetite-regulating peptides in pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 99:987–1001. doi: 10.1111/jpn.12318

Volkoff H, Estevan Sabioni R, Coutinho LL, Cyrino JEP (2017) Appetite regulating factors in pacu (*Piaractus mesopotamicus*): Tissue distribution and effects of food quantity and quality on gene expression. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 203:241–254. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.09.022

Wang J, Li B, Ma J, et al (2015) Optimum dietary protein to lipid ratio for Starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture Research* 189–201. doi: 10.1111/are.12873

Ye J-D, Chen J-C, Wang K (2016) Growth performance and body composition in response to dietary protein and lipid levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) subjected to normal and temporally restricted feeding regimes. *Journal of Applied Ichthyology* 32:332–338. doi: 10.1111/jai.13004

Tabela 1. Formulação e composição química das dietas experimentais

Ingredientes (g kg ⁻¹)	Relação proteína bruta/lipídio das dietas							
	200/110	250/110	300/110	350/110	200/140	250/140	300/140	350/140
Milho	602,66	451,88	301,09	160,65	561,08	410,29	259,51	108,69
Farinha de peixe	162,70	203,40	244,10	284,70	162,70	203,40	244,10	284,70
Farelo de soja	161,27	266,74	372,21	475,55	170,26	275,74	381,20	486,80
Óleo de soja	40,00	40,00	40,00	40,00	80,00	80,00	80,00	80,00
Inerte ¹	22,67	27,28	31,90	28,40	15,26	19,87	24,49	29,11
Supl. Min. e Vit. ²	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Ácido ascórbico	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
<i>Composição química analisada (base na matéria úmida)</i>								
Proteína bruta (g kg ⁻¹)	201,9	256,3	304,5	352,0	213,3	263,6	297,8	360,2
Extrato etéreo (g kg ⁻¹)	112,1	110,9	112,1	110,6	154,3	144,6	141,8	133,2
Matéria seca (g kg ⁻¹)	914,2	914,2	928,6	924,7	926,3	916,3	914,4	927,6
Cinzas (g kg ⁻¹)	97,8	105,3	98,4	101,7	98,4	106,2	115,5	114,4
Fibra bruta (g kg ⁻¹)	46,7	56,8	57,8	57,2	49,1	51,4	55,2	68,3
ENN (g kg ⁻¹) ³	455,7	384,9	355,8	303,2	411,2	350,5	304,1	251,4
Energia bruta (kJ g ⁻¹) ⁴	17,0	17,1	17,7	17,9	18,2	18,0	17,9	18,1
Relação P/E (mg PB kJ ⁻¹)	11,9	15,0	17,2	19,7	11,7	14,6	16,6	19,9

¹ Celulose microfina (Rhoister Indústria e Comércio Ltda, Araçoiaba da Serra-SP, Brasil)² Níveis de garantia (kg-1 produto): vit. A, 1.000.000 UI; Vvit. D3, 312.500 UI; Vvit. E, 18.750 UI; Vvit. K3, 1.250 mg; Vvit. B, 2.500 mg; vit. B2, 2.500 mg; vit. B6, 1.875 mg; Vvit. B12, 4 mg; Vitamina C, 31.250 mg; Ác. Nicotínico, 12.500 mg; Pantotenato de cálcio, 6.250 mg; Biotina, 125 mg; Ác. Fólico, 750 mg; Colina, 50.000 mg; Inositol, 12.500 mg; Sulfato de ferro, 6.250 mg; Sulfato de cobre, 625 mg; Sulfato de zinco, 6.250 mg; Sulfato de manganês, 1875 mg; Selenito de sódio, 13 mg; Iodato de cálcio, 63 mg; Sulfato de cobalto, 13 mg.³ ENN = extrativo não-nitrogenado. Estimado pela fórmula 1000 - (água+proteína bruta+fibra bruta+cinzas+extrato etéreo)⁴ Calculado usando os valores médios para carboidratos (17,2 kJ g⁻¹), proteínas (23,6 kJ g⁻¹) e lipídios (39,5 kJ g⁻¹) segundo NRC (2011).

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Tabela 2. Performance (média ± desvio padrão) de juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*) alimentados com dietas contendo níveis de proteína bruta (PB) e lipídios (LIP) após 63 dias.

Dietas (g kg ⁻¹)	IW (g/peixe)	FW (g/peixe)	WG (%)	SGR (%dia ⁻¹)	DFI (% peso vivo dia ⁻¹)	FER	PER	PPV (%)	HSI (%)	VFI (%)
200/110	15,20 ± 0,41	86,66 ± 3,8 ^d	470,40 ± 29,52 ^d	2,76 ± 0,08 ^c	3,00 ± 0,09 ^a	0,74 ± 0,01 ^c	3,67 ± 0,05 ^a	56,55 ± 2,97 ^a	2,09 ± 0,09 ^a	2,74 ± 0,43 ^a
200/140	15,15 ± 0,31	101,40 ± 9,5 ^c	569,65 ± 69,21 ^c	3,01 ± 0,17 ^b	2,86 ± 0,09 ^b	0,82 ± 0,05 ^b	3,85 ± 0,23 ^a	49,19 ± 5,05 ^{bc}	1,93 ± 0,12 ^{abc}	2,85 ± 0,01 ^a
250/110	15,33 ± 0,16	120,59 ± 0,67 ^b	686,78 ± 5,32 ^b	3,27 ± 0,01 ^a	2,58 ± 0,08 ^c	0,95 ± 0,03 ^a	3,73 ± 0,12 ^a	54,19 ± 1,19 ^{ab}	2,01 ± 0,11 ^{abc}	2,27 ± 0,32 ^{ab}
250/140	15,35 ± 0,18	126,92 ± 10,18 ^{ab}	726,77 ± 68,78 ^{ab}	3,35 ± 0,14 ^a	2,57 ± 0,03 ^c	0,97 ± 0,02 ^a	3,66 ± 0,07 ^a	53,10 ± 3,64 ^{ab}	1,72 ± 0,20 ^{bc}	2,55 ± 0,49 ^a
300/110	15,41 ± 0,22	128,84 ± 2,58 ^{ab}	736,55 ± 28,24 ^{ab}	3,37 ± 0,05 ^a	2,54 ± 0,02 ^c	0,98 ± 0,01 ^a	3,22 ± 0,03 ^b	49,58 ± 1,08 ^{bc}	1,95 ± 0,16 ^{abc}	1,77 ± 0,31 ^{bc}
300/140	14,98 ± 0,24	119,80 ± 9,67 ^b	699,75 ± 60,16 ^b	3,30 ± 0,12 ^a	2,49 ± 0,06 ^c	0,99 ± 0,04 ^a	3,32 ± 0,13 ^b	57,22 ± 3,34 ^a	1,70 ± 0,12 ^c	1,81 ± 0,45 ^{bc}
350/110	15,04 ± 0,23	134,07 ± 4,18 ^a	791,90 ± 36,47 ^a	3,47 ± 0,07 ^a	2,61 ± 0,13 ^c	0,97 ± 0,06 ^a	2,77 ± 0,16 ^c	45,92 ± 2,28 ^c	2,05 ± 0,33 ^{ab}	1,59 ± 0,25 ^c
350/140	15,28 ± 0,22	120,65 ± 6,85 ^b	689,65 ± 51,83 ^b	3,28 ± 0,10 ^a	2,49 ± 0,05 ^c	0,99 ± 0,00 ^a	2,74 ± 0,01 ^c	40,38 ± 1,14 ^d	1,90 ± 0,12 ^{abc}	1,72 ± 0,25 ^{bc}
ANOVA (valores de <i>P</i> dos fatores)										
LIP	0,640	0,902	0,998	0,743	0,026	0,053	0,355	0,201	0,008	0,339
PB	0,607	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,239	<0,001
LIP×PB	0,187	0,008	0,013	0,011	0,449	0,228	0,299	0,002	0,859	0,946

IW: initial weight;

FW: final weight;

WG: weight gain = (FW-IW/IW×100); SGR: specific growth rate = [(ln FW)-(ln IW)/63 days×100];

DFI: daily feed intake

FER: feed efficiency ratio

PER: protein efficiency rate

PPV: protein productive value

HIS: hepatosomatic index

VSI: visceral fat index

Valores na mesma coluna com diferentes sobrescritos são significativamente diferentes pelo teste de Duncan (P <0,05)

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

Tabela 3. Composição química corporal e muscular (médias \pm desvio padrão) na matéria natural de juvenis de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*), alimentados com dietas contendo níveis de proteína bruta (PB) e lipídio (LP).

Dietas (PB/LIP)	Umidade	Proteína Bruta	Lipídios	Cinzas
g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹
<i>Corpo inteiro</i>				
População Inicial	746,5	12,6	62,0	30,0
200/110	642,0 \pm 4,6 ^c	149,0 \pm 5,3 ^b	163,7 \pm 2,9 ^a	33,7 \pm 1,2
200/140	654,0 \pm 13,5 ^{bc}	127,2 \pm 4,9 ^c	166,3 \pm 7,2 ^a	33,3 \pm 0,6
250/110	680,7 \pm 3,8 ^a	143,0 \pm 5,0 ^b	122,0 \pm 1,0 ^c	33,0 \pm 1,7
250/140	661,7 \pm 10,0 ^b	142,7 \pm 6,7 ^b	142,4 \pm 4,0 ^b	33,3 \pm 1,5
300/110	688,7 \pm 4,5 ^a	150,7 \pm 2,5 ^b	102,7 \pm 3,1 ^d	32,0 \pm 1,0
300/140	658,0 \pm 12,0 ^{bc}	166,3 \pm 3,2 ^a	125,0 \pm 2,0 ^c	33,7 \pm 1,5
350/110	682,0 \pm 14,1 ^a	161,7 \pm 10,0 ^a	93,3 \pm 4,7 ^e	33,7 \pm 1,2
350/140	687,3 \pm 3,2 ^a	144,7 \pm 3,8 ^b	109,3 \pm 3,1 ^d	32,0 \pm 1,7
ANOVA (valores de P dos fatores)				
Lipídio	0,049	0,022	<0,001	1,000
Proteína	<0,001	<0,001	<0,001	0,801
Proteína x Lipídio	0,003	<0,001	0,003	0,234
<i>Músculo</i>				
200/110	763,7 \pm 7,2 ^c	161,0 \pm 2,6 ^b	45,3 \pm 1,2 ^b	11,7 \pm 0,6 ^a
200/140	763,3 \pm 9,7 ^c	148,7 \pm 7,6 ^c	48,0 \pm 1,7 ^a	11,0 \pm 0,0 ^{ab}
250/110	772,3 \pm 4,9 ^{abc}	162,3 \pm 2,1 ^b	34,3 \pm 1,5 ^d	11,0 \pm 0,0 ^{ab}
250/140	769,3 \pm 6,8 ^{abc}	163,3 \pm 7,5 ^b	37,7 \pm 1,2 ^c	10,3 \pm 0,6 ^b
300/110	779,7 \pm 3,2 ^a	162,3 \pm 7,8 ^b	20,7 \pm 0,6 ^e	11,3 \pm 0,6 ^a
300/140	776,3 \pm 4,6 ^{ab}	176,0 \pm 8,0 ^a	22,7 \pm 1,2 ^e	11,7 \pm 0,6 ^a
350/110	767,3 \pm 2,3 ^c	173,7 \pm 1,5 ^a	22,7 \pm 0,6 ^e	11,3 \pm 0,6 ^a
350/140	776,0 \pm 4,6 ^{ab}	163,0 \pm 4,6 ^b	22,0 \pm 1,0 ^e	11,0 \pm 0,0 ^{ab}
ANOVA (valores de P dos fatores)				
Lipídio	0,837	0,396	0,002	0,093
Proteína	0,006	0,002	<0,001	0,033
Proteína x Lipídio	0,288	0,005	0,045	0,229

Valores na mesma coluna com diferentes sobrescritos são significativamente diferentes pelo teste de Duncan (P < 0,05).

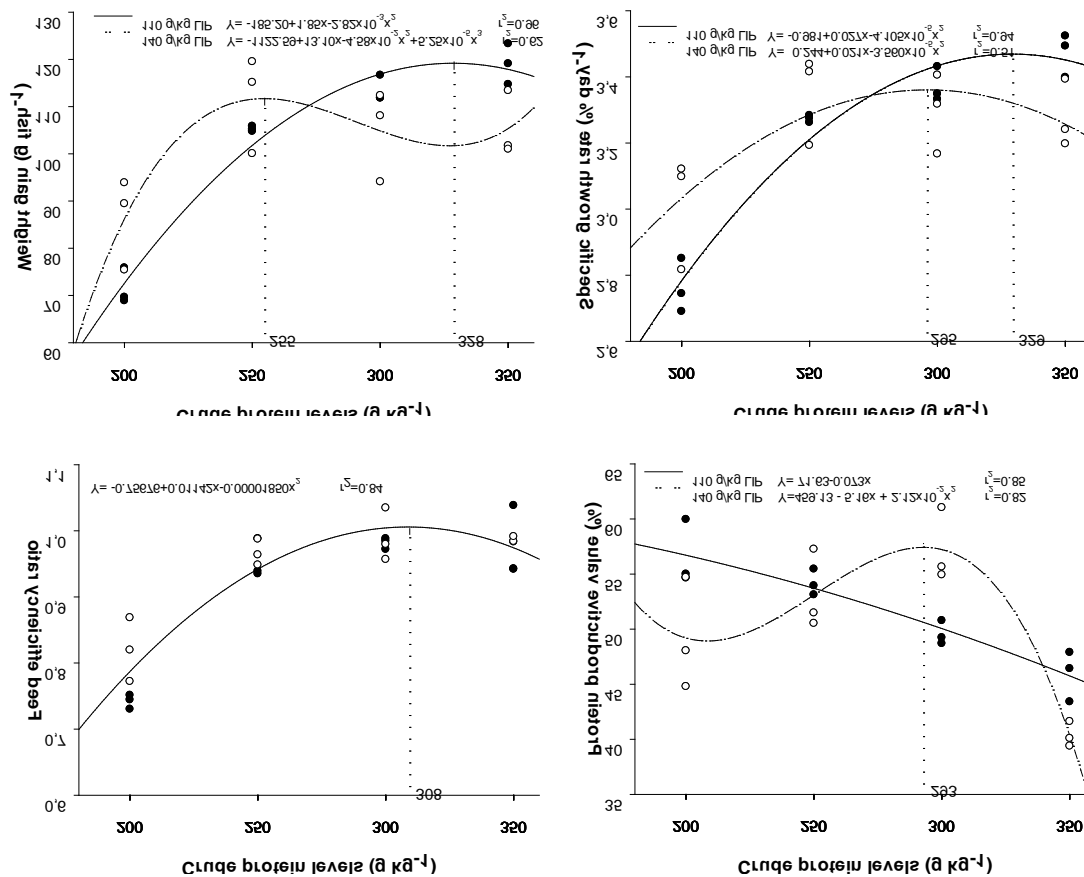


Figura 1 – Estimativa de exigência de proteína bruta dietética para juvenis de tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* × ♂ *Piaractus brachypomus*) alimentados com dietas contendo duas concentrações lipídicas (110 g kg⁻¹, círculos pretos e linha contínua; 140 g kg⁻¹, círculos brancos e linha ponto-tracejada).

3- Considerações Finais

A produção de pescado em aquicultura como a atividade zootécnica, exige que a atividade seja economicamente viável. Atualmente presta-se bastante atenção para qualquer atividade produtiva que se possa produzir com menor impacto ambiental possível. Nesse contexto, a pesquisa sobre a exigência nutricional assume importante papel na produção da aquicultura dado que o resultado de custo de produção esta relacionado a este ponto. Desperdício de alimentos, nutrientes não digeridos e produtos excretados pelos peixes originam nitrogénio e fósforo, dois elementos de particular importância na saturação ambiental com matéria orgânica. Uma das informações importante para rentabilizar a produção comercial de uma espécie é a avaliação de alimentos com objetivo de conhecer o real potencial de utilização destes para cada peixe e o real conhecimento de exigências nutricionais das diferentes espécies e fases de desenvolvimento. A proteína é um nutriente de elevado custo e essencial para o crescimento dos peixes e o seu uso como fonte de energia é indesejável. A utilização ajustada de proteína e outros nutrientes na dieta, em particular os carboidratos e lipídios, são fundamentais para retenção da proteína para o crescimento, buscando uma ração economicamente viável e ambientalmente sustentável.

Nesta pesquisa o híbrido tambatinga demonstrou ser eficiente no aproveitamento das dietas avaliadas, com um atendimento de exigência mínima para peso médio final de juvenis de tambatinga é de 250 g kg^{-1} e a ótima relação energia: proteína é $13,8 \text{ g kcal ED g}^{-1} \text{ PB}$. As necessidades nutricionais de energia e proteína em tambatinga são similares a outras espécies de peixes redondos. Contudo recomendam-se outros estudos para determinação destas exigências das diferentes fases de produção do tambatinga bem como para o conhecimento do perfil ideal de aminoácidos desta proteína.

Norma da Revista

Online Manuscript Submission

Springer now offers authors, editors and reviewers of *Aquaculture International* the option of using our fully web-enabled online manuscript submission and review system. To keep the review time as short as possible (no postal delays!), we encourage authors to submit manuscripts online to the journal's editorial office. Our online manuscript submission and review system offers authors the option to track the progress of the review process of manuscripts in real time. Manuscripts should be submitted to: <http://aqui.edmgr.com>

The online manuscript submission and review system for *Aquaculture International* offers easy and straightforward log-in and submission procedures. This system supports a wide range of submission file formats: for manuscripts - Word, Wordperfect, RTF, TXT and LaTeX; for figures - TIFF, GIF, JPEG, EPS, PPT, and Postscript.

NOTE: By using the online manuscript submission and review system, it is NOT necessary to submit the manuscript also in printout + disk. In case you encounter any difficulties while submitting your manuscript on line, please get in touch with the responsible Editorial Assistant by clicking on "CONTACT US" from the tool bar.

Electronic figures

Electronic versions of your figures must be supplied. For vector graphics, EPS is the preferred format. For bitmapped graphics, TIFF is the preferred format. The following resolutions are optimal: line figures - 600 - 1200 dpi; photographs - 300 dpi; screen dumps - leave as is. Colour figures can be submitted in the RGB colour system. Font-related problems can be avoided by using standard fonts such as Times Roman, Courier and Helvetica.

Colour figures

Springer offers two options for reproducing colour illustrations in your article. Please let us know what you prefer: 1) Free online colour. The colour figure will only appear in colour on www.springer.com and not in the printed version of the journal. 2) Online and printed colour. The colour figures will appear in colour on our website and in the printed version of the journal. The charges are EUR 950/USD 1150 per article.

Language

We appreciate any efforts that you make to ensure that the language is corrected before submission. This will greatly improve the legibility of your paper if English is not your first language.

Reviewing Procedure

Aquaculture International is sent to 2 specialist reviewers who remain anonymous unless they specifically choose to confer with the author.

Manuscript Presentation

Manuscripts should all be presented in the accepted scientific format e.a. Introduction, Materials and Methods etc. There is no separate format for short communication. The journal's language is English. British English or American English spelling and terminology may be used, but either one should be followed consistently throughout the article. Manuscripts should leave adequate margins on all sides to allow reviewers' remarks. Please double-space all material, including notes and references. Quotations of more than 40 words should be set off clearly, either by indenting the left-hand margin or by using a smaller typeface. Use double quotation marks for direct quotations and single quotation marks for quotations within quotations and for words or phrases used in a special sense. Number the pages consecutively with the first page containing:

running head (shortened title)

title

author(s)

affiliation(s)

full address for correspondence, including telephone and fax number and e-mail address

Abstract

Please provide a short abstract of 100 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Key Words

Please provide 5 to 10 key words or short phrases in alphabetical order.

Abbreviations

Abbreviations and their explanations should be collected in a list.

Figures

All photographs, graphs and diagrams should be referred to as a 'Figure' and they should be numbered consecutively (1, 2, etc.). Multi-part figures ought to be labelled with lower case letters (a, b, etc.). Please insert keys and scale bars directly in the figures. Relatively small text and great variation in text sizes within figures should be avoided as figures are often reduced in size. Figures may be sized to fit approximately within the column(s) of the journal. Provide a detailed legend (without abbreviations) to each figure, refer to the figure in the text and note its approximate location in the margin. Please place the legends in the manuscript after the references.

Tables

Each table should be numbered consecutively (1, 2, etc.). In tables, footnotes are preferable to long explanatory material in either the heading or body of the table. Such explanatory footnotes, identified by superscript letters, should be placed immediately below the table. Please provide a caption (without abbreviations) to each table, refer to the table in the text and note its approximate location in the margin. Finally, please place the tables after the figure legends in the manuscript.

Section Headings

First-, second-, third-, and fourth-order headings should be clearly distinguishable but not numbered.

Appendices

Supplementary material should be collected in an Appendix and placed before the Notes and Reference sections.

Notes

Please use endnotes rather than footnotes. Notes should be indicated by consecutive superscript numbers in the text and listed at the end of the article before the References. O source reference note should be indicated by an asterisk after the title. This note should be placed at the bottom of the first Page.

Cross-Referencing

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

In the text, a reference identified by means of an author's name should be followed by the date of the reference in parentheses and page number(s) where appropriate. When there are more than two authors, only the first author's name should be mentioned, followed by 'et al.'. In the event that an author cited has had two or more works published during the same year, the reference, both in the text and in the reference list, should be identified by a lower case letter like 'a' and 'b' after the date to distinguish the works.

Examples:

Winograd (1986, p. 204)

(Winograd 1986; Flores *et al.* 1988)

(Bullen and Bennett 1990)

Acknowledgements

Acknowledgements of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the References.

References

1. Journal article:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329

2. Inclusion of issue number (optional):

Saunders DS (1976) The biological clock of insects. *Sci Am* 234(2):114–121

3. Journal issue with issue editor:

Smith J (ed) (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J* 14(6):126–233

4. Journal issue with no issue editor:

Mod Genomics J (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J* 14(6):126–233

5. Book chapter:

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York

6. Book, authored:

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

7. Book, edited:

Smith J, Brown B (eds) (2001) *The demise of modern genomics*. Blackwell, London

8. Chapter in a book in a series without volume titles:

Schmidt H (1989) Testing results. In: Hutzinger O (ed) *Handbook of environmental chemistry*, vol 2E. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 111

9. Chapter in a book in a series with volume title:

Smith SE (1976) Neuromuscular blocking drugs in man. In: Zaimis E (ed) *Neuromuscular junction*. *Handbook of experimental pharmacology*, vol 42. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp593–660

10. Proceedings as a book (in a series and subseries):

Zowghi D et al (1996) A framework for reasoning about requirements in evolution. In: Foo N, Goebel R (eds) *PRICAI'96: topics in artificial intelligence*. 4th Pacific Rim conference on artificial intelligence, Cairns, August 1996. *Lecture notes in computer science (Lecture notes in artificial intelligence)*, vol 1114. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 157

11. Proceedings with an editor (without a publisher):

Aaron M (1999) *The future of genomics*. In: Williams H (ed) *Proceedings of the genomic researchers*, Boston, 1999

12. Proceedings without an editor (without a publisher):

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. In: *Abstracts of the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms*, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978

13. Paper presented at a conference:

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. Paper presented at the 3rd

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

international symposium on the genetics of industrial microorganisms, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978

14. Patent:

Name and date of patent are optional

Norman LO (1998) Lightning rods. US Patent 4,379,752, 9 Sept 1998

15. Dissertation:

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

16. Institutional author (book):

International Anatomical Nomenclature Committee (1966) *Nomina anatomica. Excerpta Medica*, Amsterdam

17. Non-English publication cited in an English publication:

Wolf GH, Lehman P-F (1976) *Atlas der Anatomie*, vol 4/3, 4th edn. Fischer, Berlin.

[NB: Use the language of the primary document, not that of the reference for "vol" etc.!]

18. Non-Latin alphabet publication:

The English translation is optional.

Marikhin VY, Myasnikova LP (1977) *Nadmolekulyarnaya struktura polimerov* (The supramolecular structure of polymers). Khimiya, Leningrad

19. Published and In press articles with or without DOI:

19.1 In press

Wilson M et al (2006) References. In: Wilson M (ed) *Style manual*. Springer, Berlin Heidelberg New York (in press)

19.2. Article by DOI (with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med* 78:74–80. DOI 10.1007/s001090000086

19.3. Article by DOI (before issue publication with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med* (in press). DOI 10.1007/s001090000086

WELENGANE, E. Níveis de proteína bruta e lipídios em dietas para juvenis de tambatinga...

19.4. Article in electronic journal by DOI (no paginated version)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. Dig J Mol Med. DOI 10.1007/s801090000086

20. Internet publication/Online document

Doe J (1999) Title of subordinate document. In: The dictionary of substances and their effects. Royal Society of Chemistry. Available via DIALOG. [http://www.rsc.org/dose/title of subordinate document](http://www.rsc.org/dose/title%20of%20subordinate%20document). Cited 15 Jan 1999

20.1. Online database

Healthwise Knowledgebase (1998) US Pharmacopeia, Rockville. <http://www.healthwise.org>. Cited 21 Sept 1998

Supplementary material/private homepage

Doe J (2000) Title of supplementary material. <http://www.privatehomepage.com>. Cited 22 Feb 2000

University site

Doe J (1999) Title of preprint. <http://www.uni-heidelberg.de/mydata.html>. Cited 25 Dec 1999

FTP site

Doe J (1999) Trivial HTTP, RFC2169. <ftp://ftp.isi.edu/in-notes/rfc2169.txt>. Cited 12 Nov 1999

Organization site

ISSN International Centre (1999) Global ISSN database. <http://www.issn.org>. Cited 20 Feb 2000

Proofs

Proofs will be sent to the corresponding author. One corrected proof, together with the original, edited manuscript, should be returned to the Publisher within three days of receipt by mail (airmail overseas).

Offprints

25 offprints of each article will be provided free of charge. Additional offprints can be ordered by means of an offprint order form supplied with the proofs.

Page Charges and Colour Figures

No page charges are levied on authors or their institutions. Colour figures are published at the author's expense only.

Copyright

Authors will be asked, upon acceptance of an article, to transfer copyright of the article to the Publisher. This will ensure the widest possible dissemination of information under copyright laws.

Permissions

It is the responsibility of the author to obtain written permission for a quotation from unpublished material, or for all quotations in excess of 250 words in one extract or 500 words in total from any work still in copyright, and for the reprinting of figures, tables or poems from unpublished or copyrighted material.

Springer Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. To publish via Springer Open Choice, upon acceptance please visit <http://www.springer.com/openchoice> to complete the relevant order form and provide the required payment information. Payment must be received in full before publication or articles will publish as regular subscription-model articles. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.