

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AUTOBALANCEAMENTO DA ENERGIA E DA PROTEÍNA DA DIETA PELA  
TILÁPIA DO NILO POR MEIO DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CARBONO E  
DO CONSUMO DE MATÉRIA SECA**

ANDRÉ MOREIRA BORDINHON

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia – Área de  
Concentração: Nutrição e Produção Animal,  
como parte das exigências para para  
obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Botucatu – SP

Março – 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AUTOBALANCEAMENTO DA ENERGIA E DA PROTEÍNA DA DIETA PELA  
TILÁPIA DO NILO POR MEIO DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CARBONO E  
DO CONSUMO DE MATÉRIA SECA**

ANDRÉ MOREIRA BORDINHON

Zootecnista

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Luiz Edivaldo Pezzato

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia – Área de  
Concentração: Nutrição e Produção  
Animal, como parte das exigências para  
para obtenção do título de Doutor em  
Zootecnia.

Botucatu – SP

Março – 2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA  
INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA  
LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B729a Bordinhon, André Moreira, 1978-  
Autobalanceamento da energia e da proteína da dieta pela tilápia do  
Nilo por meio dos isótopos estáveis de carbono e do consumo de matéria  
seca / André Moreira Bordinhon. - Botucatu : [s.n.], 2008.  
iv, 63 f.: gráfs, tabs.

Tese(Doutorado) -Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,  
2008

Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato  
Inclui bibliografia.

1. Tilápia(Peixe). 2. Carbono - Isótopos. 3. Nutrição ani- mal. I.  
Pezzato, Luiz Edivaldo. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de  
Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária  
e Zootecnia. III. Título.

À minha mãe  
e o seu jeito de enxergar o mundo e enfrentá-lo,  
Dedico.

## Agradecimentos

À minha mãe Terezinha Moreira e seu esposo João Souza pelo apoio incondicional prestado ao longo de toda a minha formação acadêmica e pessoal;

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato por seu apoio e orientação na realização deste trabalho e nas decisões importantes para minha formação, além de sua amizade;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarida Maria Barros pela amizade e por toda orientação e grande ajuda no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti por todo conhecimento compartilhado com seus alunos, pela atenção e dedicação na orientação para condução desta pesquisa;

Aos amigos de pós-graduação Luiz Gabriel Quinteiro, sua esposa Blanca, ambos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (Aquanutri), pela grande ajuda na condução dos experimentos, na realização de coletas e análises e por serem minha família colombo-paulista em Botucatu;

A todos os amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (Aquanutri) especialmente: Altevir, Ademir, Daniel, Graciela, Giovani, Hamilton, Igo, Rosângela, Vivian pela grande ajuda na realização das coletas e condução dos experimentos, além da amizade;

A toda equipe do Centro de Isótopos Estáveis: Silvia, Cibele, Evandro, pela ajuda nas análises e pela amizade e à amiga Juliana Denadai por todo apoio e grande ajuda na condução desta tese, desde a elaboração do projeto à redação final;

A todos os amigos do programa de pós-graduação em Zootecnia, especialmente: Waldmaryan Bianchini, Érico Rodrigues, Fabiana, Cleusa Mori, Geisa Kleeman por todo apoio prestado: acadêmico, profissional, pessoal. Muitíssimo obrigado pela amizade de vocês;

Ao Dr. Allen Davis e sua equipe, da Universidade Auburn pelo apoio prestado na minha breve participação nas atividades em seu laboratório e ao amigo Shawn McNulty pela revisão da tradução para língua inglesa dos trabalhos resultantes desta tese e pela amizade;

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

À todos que foram injustamente omitidos aqui meus sinceros agradecimentos.

## Sumário

<b>CAPÍTULO I</b> .....	01
Considerações Iniciais.....	01
1. Introdução.....	02
2. Avaliação do consumo.....	03
3. Utilização de isótopos estáveis ambientais.....	05
4. Referências bibliográficas.....	13
 <b>CAPÍTULO II</b> .....	 19
Regulação do consumo de proteína e energia pela tilápia do Nilo, avaliada pelo enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ )	
Resumo.....	20
Abstract.....	21
1. Introdução.....	23
2. Material e Métodos.....	23
2.1. Instalações, animais experimentais e procedimentos para coleta.....	23
2.2. Análises isotópicas.....	24
2.3. Estimativa de consumo de proteína e energia por meio dos isótopos estáveis de carbono.....	25
3. Resultados.....	26
3.1. Mudança no enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ).....	26
3.2. Consumo de proteína e energia estimado por $\delta^{13}\text{C}$ .....	27
4. Discussão.....	28
4.1. Turnover de carbono nos tecidos.....	28
4.2. Consumo de proteína e energia.....	29
5. Conclusão.....	32
6. Referências Bibliográficas.....	39

<b>CAPÍTULO III</b> .....	42
<i>Regulação pela tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) do consumo de proteína e energia da dieta</i>	
Resumo.....	43
Abstract.....	44
1. Introdução.....	45
2. Material e Métodos.....	46
3. Resultados.....	47
3.1. Regulação da ingestão de proteína e energia.....	47
3.2. Preferência alimentar ao longo do dia.....	48
4. Discussão.....	48
4.1. Regulação da ingestão de proteína na fase inicial do experimento.....	48
4.2. Regulação da ingestão de proteína e energia.....	49
5. Conclusão.....	50
6. Referências Bibliográficas.....	55
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	57
Considerações Finais.....	58
<b>ANEXO</b> .....	60

## **CAPÍTULO I**

### **CONSIDERAÇÕES INICIAIS**



## 1           **Considerações Iniciais**

### 3   **1. Introdução**

5           Os animais que sobrevivem alimentando-se de apenas uma fonte alimentar são  
6 exceções na natureza, pois a maioria destes obtêm os nutrientes necessários ao seu  
7 metabolismo a partir de diversas fontes de alimentos. Como a disponibilidade de  
8 alimentos e a exigência de nutrientes pelos animais nem sempre coincidem, é de se  
9 esperar que os animais apresentem preferência alimentar quando opções de escolha lhes  
10 são oferecidas (Schimdt-Nielsen, 2002).

11           A regulação do consumo de alimento é o componente principal do  
12 balanceamento energético. Mecanismos reguladores de consumo são principalmente  
13 avaliados com base na regulação do consumo de energia. Contudo, evidências apontam  
14 à existência de um complexo mecanismo envolvido na regulação do consumo de  
15 nutrientes (Berthoud & Seeley, 2000).

16           Para Sclafani (2000) os animais aprendem a selecionar alimentos num  
17 mecanismo no qual estes seriam capazes de associar características sensoriais do  
18 alimento (textura, sabor, odor e cor) com suas conseqüências pós-ingestão. Isto significa  
19 que se um animal ingere um alimento tóxico, este fato levaria o animal a desenvolver  
20 repulsa pelas características deste alimento. Se os efeitos após a ingestão forem  
21 positivos o animal adquire preferência por características organolépticas e visuais  
22 daquele alimento.

23           Experimentos de auto-seleção de alimentos (autobalanceamento) com animais  
24 terrestres foram conduzidos em laboratório, de maneira que estes podiam selecionar  
25 livremente as fontes alimentares de proteína, gordura e carboidratos e suas escolhas  
26 levaram a uma dieta com excelente resposta no desempenho (Laure-Achagiotis et al.,  
27 1992). Em relação ao funcionamento do mecanismo fisiológico de escolha alguns  
28 autores propõem diferentes processos inatos para explicar a existência de diferentes  
29 níveis de apetite para os macronutrientes. Os ratos apresentam preferência pelo gosto de  
30 alguns tipos de amido, gorduras e proteínas (Sclafani, 1991; Ackroff et al., 1990;  
31 Deutsch et al., 1989). Além disto, alguns neurotransmissores (serotonina, dopamina,  
32 neuropeptídeo Y e galanina) afetam diferentemente o consumo de gordura e  
33 carboidratos (Leibowitz, 2000).

1           Se comparados aos animais terrestres os peixes têm uma relação aparentemente  
2 mais dependente de condições ambientais para seu crescimento e para sua reprodução.  
3 Essa dependência se reflete nas peculiaridades de seu comportamento principalmente no  
4 seu comportamento alimentar (Toguyeni et al., 1997).

5           O mecanismo da seleção de alimentos feita pelos peixes está relacionado a  
6 diversos fatores não completamente estabelecidos. A escolha dos itens alimentares pode  
7 depender de outros fatores que não somente o paladar, mas também a cor do alimento  
8 (Rubio et al., 2003) e variar segundo as condições ambientais (Yamamoto et al., 2003).  
9 Os estudos de escolha voluntária em peixes não são conduzidos apenas com  
10 fornecimento carboidratos, proteínas e lipídeos isoladamente, mas também com  
11 misturas de composições diferenciadas, de maneira que os peixes possam balancear sua  
12 dieta escolhendo os alimentos disponíveis (Yamamoto et al., 2002).

13           Diversos autores desenvolveram pesquisas com intuito de elucidar o mecanismo  
14 de regulação de consumo avaliando esta capacidade em algumas espécies de peixes.  
15 Estudos de autobalanceamento foram realizados com ‘goldfish’ *Carassius auratus*  
16 (Sánchez-Vázquez et al., 1998), truta-arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Sánchez-Vázquez  
17 et al., 1999) e ‘sea bass’ *Dicentrarchus labrax* (Rubio et al., 2003; Aranda et al., 2003),  
18 tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Pereira da Silva et al., 2004) e todos os  
19 resultados indicaram a alta capacidade destes peixes em balancear sua dieta quando são  
20 fornecidos diferentes alimentos.

21           Contudo os ciclídeos, grupo de espécies de peixes no qual a tilápia está inserida,  
22 possuem características de territorialismo marcante entre as outras espécies. Em geral,  
23 as espécies deste grupo apresentam alta agressividade conspecífica, com característica  
24 de disputa por território e, conseqüentemente, pela disponibilidade de alimento. Para  
25 Grant et al. (2002) esta agressividade possui maior efetividade quando há apenas um  
26 nível intermediário de disponibilidade de alimento, sendo menos marcante em  
27 condições de escassez e excesso.

28

## 1 **2. Avaliação do consumo**

2  
3 Estudos de regulação de consumo com animais terrestres são consideravelmente  
4 menos escassos se comparados a estudos neste tema em espécies de peixes. Esta relativa  
5 ausência de trabalhos se deve principalmente a dificuldade técnica de fornecer a estes  
6 animais uma condição de disponibilidade contínua de alimento no ambiente aquático  
7 (Sánchez-Vázquez et al., 1998).

8 Para estimar o consumo são utilizadas diversas técnicas como observações  
9 visuais utilizadas em estudos de atracto-palatabilidade (Pereira da Silva & Pezzato,  
10 1999) e comportamento alimentar (Pereira da Silva & Pezzato, 2000), além de  
11 dispositivos eletrônicos conectados aos alimentadores utilizados em experimentos de  
12 escolha de macronutrientes para truta arco-íris (Sánchez-Vázquez et al., 1999) ,  
13 ‘goldfish’ (Sánchez-Vázquez et al., 1998), ‘sea bass’ (Rubio et al., 2003; Aranda et al.,  
14 2003).

15 O desenvolvimento de comedouros de demanda que permitem que os peixes  
16 acionem o mecanismo que libera alimento e a possibilidade de registrar estas ações por  
17 meio de mecanismos eletrônicos, propiciando a medida acurada de consumo permitiu  
18 que várias pesquisas nesta área fossem realizadas (Cuenca & Higuera, 1994; Sánchez-  
19 Vázquez et al., 1998; Boujard et al., 1992; Brånäs & Alanärä., 1993). Em outro estudo,  
20 Alanärä et al.(1996) estudou o efeito da densidade de estocagem de duas espécies de  
21 peixe (truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* e ‘Artic Charr’ *Salvelinus alpinus*)  
22 utilizando sistema automático de transmissão da atividade de acionamento do  
23 mecanismo a um computador portátil acoplado.

24 Este mesmo sistema de monitoramento foi utilizado no estudo realizado por  
25 Sánchez-Vázquez et al. (1999), no qual, segundo os autores, a truta arco-íris foi capaz  
26 de compor sua dieta de maneira balanceada com fornecimento de carboidratos, lipídeos  
27 e proteínas de maneira separada, apresentando preferência por proteína em comparação  
28 a carboidratos e gordura. Sua ingestão de alimento é regulada para o balanceamento de  
29 energia e para manutenção de crescimento constante (Sánchez-Vázquez et al.,1999).

30 Rubio et al. (2003) avaliaram a capacidade do ‘sea bass’ em regular a  
31 capacidade de balancear sua dieta com fornecimento de lipídeos, proteínas e  
32 carboidratos em cápsulas em comedouros de demanda, com intuito de isolar a influencia  
33 de paladar e odor, diferenciando-os somente pela cor da cápsula. Os resultados apontam

1 que esta espécie é capaz de balancear sua dieta por meio de auto-escolha apenas pela  
2 associação da cor das cápsulas e seu efeito pós-ingestão. Aranda et al. (2003) avaliaram  
3 o comportamento desta mesma espécie num estudo de autobalanceamento após curto  
4 período de jejum. A conclusão de seu estudo apontou para a capacidade desta espécie  
5 em compensar sua perda energética em apenas dois dias por meio da auto-alimentação  
6 e, aumento da exigência protéica após períodos maiores de restrição alimentar.

7 Para o 'goldfish', Sánchez-Vázquez et al. (1998) observaram resultados  
8 similares a outras espécies citadas na capacidade desta espécie em balancear sua dieta.  
9 Em seu ensaio também foi possível observar, por meio de sensores, o complexo padrão  
10 comportamental para realização da seleção de alimentos.

11 Em outra pesquisa utilizando sensores eletrônicos, Yamamoto et al. (2002)  
12 avaliaram a substituição da farinha de peixe por outros produtos de origem animal e  
13 vegetal como fonte de proteína para truta arco-íris, em sistema de alimentação manual e  
14 por meio de comedouros de demanda, e afirmaram que a forma de alimentação não  
15 influenciou no desempenho produtivo dos animais.

16 Contudo, a utilização de sensores eletrônicos não se apresenta como única  
17 alternativa para observação de consumo e seleção de nutrientes por peixes. Yamamoto  
18 et al. (2003) estudaram o efeito da temperatura da água na escolha de nutrientes pela  
19 carpa comum (*Cyprinus carpio*). Neste ensaio o autor observou o consumo da espécie  
20 somente pelo recolhimento e pesagem das sobras nos comedouros. Utilizando  
21 procedimentos similares, Pereira da Silva et al. (2004) avaliaram a capacidade da tilápia  
22 do Nilo em regular sua ingestão protéica e seus resultados indicaram que esta espécie é  
23 capaz de regular seu consumo por meio do nível protéico de sua dieta e não somente  
24 pela ingestão calórica diária.

25

### 3. Utilização de isótopos estáveis ambientais

Os isótopos podem ser definidos como átomos do mesmo elemento químico, que possuem o mesmo número de prótons, mas que diferem em seu número de nêutrons, conseqüentemente, apresentando diferentes massas. O termo isótopo tem sua origem no grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato de que são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Contudo, os isótopos possuem camada eletrônica igual, ou seja, com o mesmo número de elétrons, então também pode-se afirmar que os isótopos são átomos que apresentam as mesmas propriedades químicas e diferentes propriedades físicas, o que permite que eles sejam utilizados como traçadores naturais em pesquisas. Caracterizá-los como estáveis significa que estes não emitem radiação.

Existem na natureza dois isótopos estáveis de carbono ( $^{12}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$ ), com abundâncias naturais de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (Kennedy & Krouse, 1990). Devido a esta diferença na abundância natural dos isótopos estáveis do carbono, a mensuração da relação entre eles na maioria das amostras gera valores muito pequenos.

Com intuito de facilitar o trabalho com os cálculos, os valores de carbono-13 são expressos na terminologia dos isótopos estáveis em delta per mil da razão isotópica  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  do produto, em relação a um padrão internacional definido ( $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$ ). Para os isótopos de carbono, o padrão adotado é o *Peedee Belemnite* (PDB), composto pelo fósfil carbonatado sólido do cretáceo, denominado *Belemnitela americana*, da formação *PeeDee* da Carolina do Sul, Estados Unidos. Este padrão foi empregado inicialmente por Craig (1957), e é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono (Friedman & O'Neill, 1977; Ducatti et al., 1979)

A medida da relação entre isótopos estáveis é realizada por espectrometria de massa, que detecta a concentração dos diferentes isótopos de um elemento. Este valor isotópico é obtido pela Expressão (1):

$$\delta\text{‰ } i \text{ (amostra, padrão)} = [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3 \quad (1)$$

1 Na Expressão (1) a terminologia empregada significa:

2  $i$  : isótopo pesado do elemento químico em consideração;

3  $R$  : razão entre o isótopo pesado e o leve;

4  $\delta\text{‰}$  (amostra, padrão): enriquecimento relativo da razão isotópica da amostra,  
5 comparativamente a razão isotópica do padrão internacional. Valores negativos indicam  
6 que a amostra contém menos  $^{13}\text{C}$  que o padrão internacional.

7 A fonte primária do carbono para as plantas terrestres é o  $\text{CO}_2$  atmosférico, o  
8 qual possui valor de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  de aproximadamente  $-7,7\text{‰}$  (Kennedy & Krouse, 1990). De  
9 acordo com seu ciclo fotossintético, as plantas podem ser classificadas, na sua maioria,  
10 em dois grupos principais: plantas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , onde o primeiro composto orgânico a ser  
11 sintetizado é um ácido carboxílico, com três e quatro átomos de carbono,  
12 respectivamente.

13 Durante a assimilação fotossintética, as plantas do ciclo fotossintético  $\text{C}_3$  fixam  
14 o  $\text{CO}_2$  atmosférico por meio do ciclo de *Calvin-Benson* e apresentam para si e seus  
15 subprodutos valores de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  entre  $-22$  e  $-34\text{‰}$ . As plantas  $\text{C}_4$  fixam o  $\text{CO}_2$  por meio  
16 do ciclo de *Hatch-Slack* e apresentam valores compreendidos entre  $-9$  e  $-16\text{‰}$  (valor  
17 modal =  $-12,6\text{‰}$ ). Portanto, as plantas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  possuem assinaturas isotópicas distintas  
18 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), devido ao fracionamento que ocorre durante a fixação fotossintética do  
19 carbono (Smith & Epstein, 1971; O' Leary, 1981; Kennedy & Krouse, 1990; Vogel,  
20 1993; Ducatti, 2004).

21 No ciclo fotossintetizante  $\text{C}_3$  o  $\text{CO}_2$  atmosférico é reduzido em fosfoglicerato,  
22 molécula formada por três átomos de carbono por meio da enzima RuBP carboxilase.  
23 Tal enzima apresenta “preferência” na captura do  $^{12}\text{CO}_2$  se comparado ao seu isótopo  
24 mais pesado, caracterizando os vegetais deste ciclo com enriquecimento relativo de  
25 carbono  $-27\text{‰}$ , em média. No ciclo fotossintetizante  $\text{C}_4$  a enzima PEP carboxilase reduz  
26 o  $\text{CO}_2$  da atmosfera em ácido málico ou aspártico (quatro carbonos). Neste processo, a  
27 enzima somada a solubilidade deste gás nas células do mesófilo leva à menor  
28 discriminação do  $^{13}\text{CO}_2$  tornando o carbono dos seus tecidos mais pesado ( $-16\text{‰}$ ) se  
29 comparado aos tecidos dos vegetais do ciclo  $\text{C}_3$ . Adicionalmente, em ambos os ciclos  
30 fotossintéticos, o processo de discriminação do carbono atmosférico sofre influência da  
31 dinâmica de abertura e fechamento dos estômatos (Gannes et al., 1998).

1 A discriminação entre o isótopo mais leve e o mais pesado ocorre em fenômenos  
2 físicos e químicos nos sistemas biológicos, possibilitando sua utilização como traçadores  
3 naturais (Boutton, 1991). Assim, os alimentos, ingeridos e metabolizados pelos animais,  
4 refletem características da sua composição isotópica nos tecidos dos indivíduos que os  
5 consumiram. A composição isotópica do tecido animal, ou das fezes, reflete as  
6 contribuições das fontes alimentares e sua determinação fornece informações sobre a  
7 proporção da contribuição das fontes na formação dos diferentes tecidos e órgãos  
8 (DeNiro & Epstein, 1978).

9 A diferença na razão isotópica de carbono que ocorre em processos biológicos  
10 naturais nas espécies de plantas, torna possível sua utilização como traçadores em  
11 animais, pois a composição isotópica de um tecido é obtida por meio da razão isotópica  
12 da matéria orgânica que o compõe. A via fotossintética  $C_3$  inclui a maioria das árvores,  
13 arbustos, assim como vegetais de importância comercial como a soja, arroz, trigo, cevada  
14 entre outros. A via  $C_4$  é encontrada no milho, sorgo, cana-de-açúcar e diversas gramíneas  
15 tropicais ou subtropicais. Nas últimas décadas os isótopos estáveis têm sido aplicados de  
16 forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas e ecológicas (Gannes et al., 1998) e se  
17 apresentam como alternativa promissora para estudar processos relacionados à fisiologia  
18 e metabolismo de humanos e animais.

19 Então, a avaliação da composição isotópica do  $^{13}C$  dos tecidos pode indicar suas  
20 fontes de alimento. Porém, a condição fundamental é que as fontes alimentares possuam  
21 sinais isotópicos diferentes. Isto é possível, pois plantas de mecanismos  
22 fotossintetizantes distintos, ciclos fotossintetizantes  $C_3$  e  $C_4$ , discriminam o carbono  
23 proveniente do  $CO_2$  atmosférico de maneira distinta, refletindo diferentes sinais  
24 isotópicos para carbono nestes vegetais (Ehlering et al., 1993).

25 A utilização de isótopos estáveis ambientais permite estudos nesta área, sem a  
26 necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, evitando problemas de  
27 saúde humana e segurança ambiental associado ao uso de isótopos radioativos (Jones et  
28 al., 1979; Tieszen et al., 1983; Tyrrell et al., 1984; Boutton et al., 1988; Metges et al.,  
29 1990). Esses traçadores vêm sendo utilizados com muita eficácia em estudos com aves  
30 de postura (Carrijo et al., 2000; Denadai, 2004), frangos de corte (Cruz, 2002; Carrijo,  
31 2003), peixes (Zuanon et al., 2006), ovinos (Silva, 2003) e outras espécies animais.

1           Qualquer alteração da composição isotópica no tecido depende da velocidade que  
2 os constituintes da dieta serão incorporados. Tecidos com rápido *turnover* refletem dietas  
3 mais recentes, enquanto aqueles com taxas de *turnover* mais lentas refletem dietas de  
4 períodos anteriores. De modo geral, os tecidos mais ativos metabolicamente (fígado,  
5 pâncreas e tecido adiposo) apresentam taxas de *turnover* mais rápidas que os menos  
6 ativos, como o colágeno dos ossos (Hobson & Clark, 1992). De acordo com Tieszen et  
7 al., (1983), a meia-vida do carbono corporal em roedores da espécie *Meriones*  
8 *unguiculatus* variou de 6,4 dias para o fígado a 47,5 dias para o pêlo, apresentando  
9 valores intermediários para gordura, músculo e cérebro. Hobson & Clark (1993)  
10 observaram maiores taxas de *turnover* do carbono para a fração plasma comparado a  
11 fração de células sanguíneas em corvos americanos.

12           A utilização de isótopos estáveis ambientais, bastante comum em estudos de  
13 ecologia, além de poder determinar fontes alimentares dos animais proporciona medida  
14 da localização de espécies em sua cadeia trófica composta pela assimilação de energia e  
15 fluxo de massa entre diferentes vias de um organismo (Post, 2002).

16           Grande parte dos estudos de *turnover* que utilizaram variação natural do  $\delta\%^{13}\text{C}$   
17 dos alimentos apresentam questões ecológicas, enfocando a velocidade de troca do  
18 carbono tecidual a partir da ingestão de alimentos com razões isotópicas distintas, em  
19 função de migrações ou mudanças de níveis tróficos. Entretanto, a técnica de isótopos  
20 estáveis pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal, uma vez que as taxas de  
21 substituição do carbono tecidual podem ser influenciadas por fatores ambientais,  
22 nutricionais e sanitários (Carrizo et al., 2000).

23           Bearhop et al. (2002) encontraram valores de meia-vida semelhantes para  
24 carbono-13 (15,7 dias) e nitrogênio-15 (14,4 dias) no sangue de aves selvagens. Esta  
25 sincronia entre as taxas de *turnover* de carbono e nitrogênio também foram observadas  
26 por Ogden et al. (2004) avaliando o sangue de aves da espécie *Calidris alpina pacífica*.  
27 Dessa forma, o uso da variação natural da abundância isotópica de carbono apresenta-se  
28 como alternativa às metodologias empregadas para avaliar *turnover* de proteínas  
29 teciduais ou corporais. Para Patterson (1997), qualquer processo envolvendo o  
30 metabolismo de proteína, lipídio ou carboidrato pode ser estudado usando as razões dos  
31 isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), hidrogênio ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ), nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) ou  
32 oxigênio ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ).



1 O modelo teórico que exprime resultados de enriquecimento relativo de carbono-  
 2 <sup>13</sup>C em delta per mil ( $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$ ) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas de  
 3  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  contrastantes (formuladas com grãos de vegetais com ciclos fotossintéticos C<sub>3</sub> e  
 4 C<sub>4</sub>) a animais adultos foi proposto por Ducatti et al. (2002). O princípio de que o  
 5 metabolismo de um determinado tecido animal depende da taxa de entrada de compostos  
 6 de carbono provenientes da dieta e da taxa de substituição dos compostos preexistentes,  
 7 os autores chegaram à Expressão (2):

8

$$9 \quad \delta\text{‰}^{13}\text{C}(t) = \delta\text{‰}^{13}\text{C}(f) + [\delta\text{‰}^{13}\text{C}(i) - \delta\text{‰}^{13}\text{C}(f)]e^{-kt} \quad (2)$$

10

11 Na expressão (2) a terminologia empregada significa:

12  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}(t)$ : enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

13  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}(f)$ : enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição  
 14 final;

15  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}(i)$ : enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial;

16 k: constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

17 t: unidades de tempo, desde a substituição da dieta.

18 Neste modelo, Ducatti et al. (2002) definem meia-vida (T) em unidades de  
 19 tempo, por meio da equação  $T = \ln 2 / k$ .

20 Zuanon et al. (2006), ao avaliarem *turnover* do carbono muscular de tilápias do  
 21 Nilo em crescimento, verificaram que o modelo matemático proposto por Ducatti et al.  
 22 (2002), para substituição do carbono tecidual em animais adultos, mostrou-se adequado  
 23 para animais em crescimento, uma vez que a constante (k), de diluição isotópica de  
 24 carbono obtida integra o efeito da adição de novo tecido (crescimento) e do *turnover*  
 25 metabólico. Segundo este autor, o acréscimo de massa tecidual decorrente do  
 26 crescimento é o principal fator na determinação da velocidade de diluição isotópica do  
 27 carbono tecidual, em relação ao *turnover* metabólico, em animais jovens.

28 Carrijo et al. (2000) avaliaram o *turnover* de carbono por meio da variação  
 29 natural dos isótopos de carbono, em fígado e ovos de galinhas alimentadas com dietas  
 30 formuladas exclusivamente com grãos de plantas dos ciclos fotossintéticos C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub>. Os  
 31 autores observaram diferenças na velocidade de substituição do carbono, tanto entre  
 32 tecidos avaliados, como entre dietas fornecidas, mostrando a influência do próprio

1 metabolismo tecidual bem como da qualidade do alimento sobre o processo de  
2 renovação dos tecidos corporais. Resultados semelhantes foram obtidos por Denadai  
3 (2004), avaliando o *turnover* do carbono no sangue e nas diferentes frações de ovos de  
4 poedeiras (gema e albúmen).

5 Hobson & Clark (1992), utilizando a variação natural dos isótopos de carbono  
6 existente entre as plantas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, avaliaram as taxas de *turnover* de diferentes tecidos de  
7 codornas adultas, obtendo os seguintes valores de meia-vida do carbono: sangue (11,4  
8 dias), músculo peitoral (12,4 dias), fígado (2,6 dias) e colágeno ósseo (173,3 dias). Estes  
9 resultados tornam clara a influência da atividade metabólica do tecido para o processo de  
10 renovação de seus componentes. Em estudo similar Duggins et al. (1989) mensuraram o  
11 *turnover* do carbono e nitrogênio no urso negro americano (*Ursus americanus*) e  
12 encontraram valores de meia-vida para plasma e células sanguíneas de 4 e 28 dias,  
13 respectivamente.

14 Gaye-Siessenger et al. (2003), em ensaio realizado com a tilápia do Nilo,  
15 estudaram a velocidade de troca de assinatura isotópica para carbono e nitrogênio, e  
16 concluíram que esta velocidade está relacionada à quantidade e qualidade de alimento  
17 fornecida. Gannes et al. (1998), em revisão sobre o uso potencial da variação natural dos  
18 isótopos estáveis, destacaram o papel dos fisiologistas no uso dessa ferramenta para  
19 esclarecer questões fisiológicas e ecológicas, bem como assegurar os fundamentos  
20 teóricos e experimentais para aplicação dos isótopos estáveis em outras áreas. Dentre as  
21 diretrizes para futuras pesquisas com isótopos estáveis destacadas por esses autores,  
22 receberam ênfase o balanço protéico, a alocação de nutrientes e o *turnover* tecidual.

23 Contudo, para o rastreamento da fonte alimentar pelo tecido animal utilizando o  
24 enriquecimento isotópico relativo é necessário considerar o fracionamento isotópico  
25 causado no processo de digestão, assimilação, metabolismo e excreção de nutrientes  
26 (DeNiro & Epstein, 1978; De Niro & Epstein, 1985), fazendo-se necessária a avaliação  
27 isolada de uma fonte em relação ao tecido a ser analisado.

28 Um exemplo claro do efeito do fracionamento foi estudado por Piasentier et al.  
29 (2003), que afirmaram que a parte lipídica proporciona diferenças isotópicas de cerca de  
30 5‰ para o carbono-13, e para que diferentes porcentagens de gordura em tecidos a  
31 serem analisados não interfiram na interpretação dos dados é comum adotar-se o  
32 procedimento de desengordurar as amostras antes da realização das análises isotópicas.

1 Segundo DeNiro & Epstein (1977), essa diferença isotópica deve-se ao fracionamento  
 2 enzimático causado pela enzima piruvato desidrogenase, que produz lipídeos em plantas  
 3 e animais que tendem a ser mais ricos em carbono-12.

4 Herzka & Holt (2000) em estudo com larvas de *Sciaenops ocellatus* não  
 5 encontraram influência de restrição alimentar no fracionamento isotópico para esta  
 6 espécie de peixe, contudo na ocasião da troca da dieta os valores do fracionamento para  
 7 o carbono (valor do  $\delta^{13}\text{C}_{\text{dieta}}$  subtraído do valor  $\delta^{13}\text{C}_{\text{tecido}}$ ) foi de + 1‰.

8 A preferência alimentar dos animais pode ser estudada utilizando os isótopos  
 9 estáveis, como nos trabalhos com bovinos de Jones et al. (1979) e Lourenço et al.  
 10 (1981), os quais avaliaram o sinal isotópico das fezes destes animais para estimar o  
 11 consumo de forrageiras. Em estudos nos quais se buscam obter duas fontes alimentares  
 12 por meio de apenas um isótopo, pode-se utilizar a seguinte expressão de diluição  
 13 isotópica simples (3):

14

$$15 \quad \text{Fonte 1 (\%)} = [(\delta_{\text{fonte 2}} - \delta_{\text{amostra}}) / (\delta_{\text{fonte 2}} - \delta_{\text{fonte 1}})] \times 100 \quad (3)$$

16

17 Na expressão (3) a terminologia empregada significa:

18 Fonte 1 (%): percentagem de contribuição da fonte 1;

19  $\delta_{\text{fonte 1}}$ : enriquecimento isotópico relativo da fonte 1;

20  $\delta_{\text{fonte 2}}$ : enriquecimento isotópico relativo da fonte 2;

21  $\delta_{\text{amostra}}$ : enriquecimento isotópico relativo da amostra.

22

23 Nos capítulos subseqüentes foram descritos trabalhos de pesquisa que tiveram como  
 24 objetivo estudar o comportamento alimentar da tilápia do Nilo quando em sistema de  
 25 livre escolha. No Capítulo 2, formatado de acordo com as normas da revista *Physiology*  
 26 *and Behavior*, a preferência alimentar desta espécie foi descrita com base nas análises  
 27 isotópicas de seus tecidos com intuito de obter a contribuição de cada fonte alimentar na  
 28 construção dos próprios tecidos, utilizando-se a equação de diluição isotópica simples.

29 O Capítulo 3, também formatado de acordo com as normas da revista *Physiology*  
 30 *and Behavior*, aborda a mesma temática, porém utiliza os resultados obtidos na  
 31 observação do consumo, com base em matéria seca, e a variação da ingestão de  
 32 alimento pelos animais ao longo do dia.

- 1 Tentar entender como esta espécie regula sua própria ingestão de alimento, pode
- 2 trazer informações importantes para a escolha de níveis de proteína e energia a serem
- 3 testados em estudos que busquem o desenvolvimento de dietas que promovam
- 4 crescimento ótimo para a espécie, quando criada em cativeiro.
- 5

#### 1 **4. Referências Bibliográficas**

- 2
- 3 Ackroff K, Vigorito M, Sclafani A., 1990. Fat appetite in rats: the response of infant and  
4 adult rats to nutritive and nonnutritive oil emulsions. Appetite15, 171– 88.
- 5 Alanärä, A. 1996. The use of self-feeders in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*)  
6 production. Aquaculture 145, 1-20.
- 7 Aranda, A., Sanchez – Vázquez, F. A., Madris, J. A., 2003. Effect of short-term fasting  
8 on macronutrient self-selection in sea bass. Physiology and Behavior 73, 105-109.
- 9 Bearhop, S. M., Waldron, S., Votier, S. C., Furness, R.W. 2002. Factors that influence  
10 assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian  
11 blood and feathers. Physiological and Biochemical Zoology 74, 451-458.
- 12 Berthoud HR, Seeley R. J., 2000. Neural and metabolic control of macronutrient intake.  
13 Boca Raton: CRC Press.
- 14 Boujard, T., Dugy, X., Genner, D., Gosset, C., Grig, G. 1992. Description of a modular,  
15 low cost, eater meter for the study of feeding behavior and food preferences in fish.  
16 Physiology and Behavior 52, 1102-1106.
- 17 Boutton, T.W., 1991. Stable carbon ratios of natural materials: II. Atmospheric,  
18 terrestrial, marine and freshwater environments. In: Coleman, D. C.; Fry, B. (Ed.)  
19 Carbon Isotope Techniques. New York: Academic Press.173-185.
- 20 Boutton, T.W., Tyrrell, H.F., Patterson, B.W., 1988. Carbon kinetics of milk formation  
21 in holstein cows in late lactation. Journal of Animal Science 66, 2636-2645.
- 22 Brännäs, E., Alanärä, A., 1993. Monitoring the feeding activity of individual fish with a  
23 demand feeding system. Journal of Fish Biology 42, 209-215.
- 24 Carrijo, A.S. Técnica dos Isótopos Estáveis do Carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e Nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )  
25 em frangos de corte. 2003. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de  
26 Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP. p.  
27 76
- 28 Carrijo, A.S.; Pezzato, A.C.; Ducatti, C., 2000.Avaliação do metabolismo nutricional em  
29 poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ). Revista Brasileira  
30 de Ciência Avícola 2, 209-218.

- 1 Craig, H., 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for  
2 mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. Geochimica et Cosmochimica Acta  
3 12, 133-149.
- 4 Cruz, V.C., 2002. Livre escolha de alimentos dos ciclos fotossintéticos C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>,  
5 fracionamento e *turnover* dos isótopos estáveis do carbono nos tecidos de frango de  
6 corte. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e  
7 Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu – SP. p. 65.
- 8 Cuenca, E. M., de la Higuera, M. A., 1994. A microcomputer controlled demand feeder  
9 for the study of feeding behavior in fish. Physiology and Behavior 55, 1135-1136.
- 10 De Niro, M.J., Epstein, S., 1977. Mechanism of carbon isotope fractionation associated  
11 with lipid synthesis. Science 197, 261-263.
- 12 De Niro, M. J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes  
13 in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 42,. 495-506.
- 14 De Niro, M.J.; Epstein, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in  
15 animals. 1985. Geochimica et Cosmochimica Acta 45, 341-351.
- 16 Deutsch J. A. , Moore B. O. , Heinrichs S. C., 1989. Unlearned specific appetite for  
17 protein. Physiology and Behavior 46, 619– 24.
- 18 Denadai, J.C., 2004. Avaliação metabólica de dietas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> na formação do ovo (gema e  
19 albúmen), pelo uso da técnica dos isótopos estáveis do carbono. 2004. Dissertação  
20 (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,  
21 Universidade Estadual Paulista, Botucatu – SP. p.58.
- 22 Ducatti, C.; Carrijo, A.S.; Pezzato, A.C.; Mancera P.F.A., 2002. Modelo teórico e  
23 experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. Scientia  
24 Agrícola 59, 29-33.
- 25 Ducatti, C., 2004. Isótopos estáveis ambientais. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade  
26 Estadual Paulista, Botucatu – SP, p.138.
- 27 Ducatti, C.; Salati, E.; Matsui, E., 1979. Método de análise da razão <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C e <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O em  
28 carbonatos. Anais da Academia Brasileira de Ciências 51, 275-286.

- 1 Duggins, D. O., Simenstad, C. A., Estes, J. A., 1989. Magnification of secondary  
2 production by kelp detritus in coastal marine ecosystems. Science 245, 170 – 173.
- 3 Ehlering, J.R.; Hall, A. E.; Farquhar, G.D. 1993. Stable isotopes and plant carbon –  
4 water relations. Academic Press. New York, p.555.
- 5 Friedman I., O'Neill J.R. 1977. Compilation of stable isotope fractionation factors of  
6 geochemical interest. U.S. Geological Survey Professional Papers 440, 1-12.
- 7 Gannes, L. Z., Del-Rio, C. M.; Koch, P.,1998. Natural abundance variations in stable  
8 isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. Comparative  
9 Biochemistry and Physiology A 119, 725-737.
- 10 Gaye-Siessegger, J., Focken, U., Abel, H.J., Becker, K. 2003. Feeding level and diet  
11 quality influence trophic shift of C and N isotopes in Nile tilapia (*Oreochromis*  
12 *niloticus*). Isotopes in Environmental and Health Studies 39, 125–134.
- 13 Grant, J. W. A., Girard, I. L., Breau, C., Weir, L., 2002. Influence of food abundance on  
14 competitive aggression juvenile convict cichlids. Animal Behavior 63, 323-330.
- 15 Herzka, S.Z., Holt, G.J., 2000.Changes in isotopic composition of red drum (*Scianops*  
16 *ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to dettlement  
17 studies. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 265, 49-74.
- 18 Hobson, K. A., Clark, R. G., 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I:  
19 *turnover* of  $^{13}\text{C}$  in tissues. The Condor 94, 181-188.
- 20 Hobson, K.A.; Clark, R.G., 1993. *Turnover* of  $^{13}\text{C}$  in cellular and plasma fractions of  
21 blood: implications for nondestructive sampling in avian dietary studies. Auk 110,  
22 638-641.
- 23 Jones , R. J., Ludlow, M. M., Troughton, J. H., Blunt, C.G.,1979. Estimation of the  
24 proportion of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plant species in the diet of animals from the ration of natural  
25  $^{12}\text{C}$  and  $^{13}\text{C}$  isotopes in the feces. Cambridge Journal of Agricultural Science 92, 91-  
26 100.
- 27 Kennedy, B.V., Krouse, H.R., 1990. Isotope fractionation by plants and animals:  
28 implications for nutrition research. Canadian Journal Physiology and Pharmacology  
29 68, 960-972.

- 1 Laure-Achagiotis, C.; Martin, C.; Verger, P.; Louis-Sylvestre, J. 1992. Dietary self-  
2 selection vs. complete diet : body weight gain and meal pattern in rats. Physiology  
3 and Behavior 51, 995-999.
- 4 Leibowitz SF., 2000. Macronutrients and brain peptides: what they do and how they  
5 respond. In: Berthoud HR, Seeley RJ, editors. Neural and metabolic control of  
6 macronutrient intake. Boca Raton: CRC Press, 389– 406.
- 7 Lourenço, A. J., Matsui, E.; Delistoianov, J., 1981. Avaliação de forragem selecionada  
8 por bovinos e pastagem consorciada com diferentes lotações utilizando-se dados de  
9  $\delta^{13}\text{C}$ . Boletim de Industria Animal 38, 145-153.
- 10 Metges, C., Kempe, K., Schimidt, H.L., 1990. Dependence of the carbon isotope  
11 contents of breath carbon dioxide, milk, serum and rumen fermentation products on  
12 de delta  $^{13}\text{C}$  value of food in dairy cows. British Journal of Nutrition 63, 187-196.
- 13 O’Leary, M.H., 1981. Carbon isotope fractionation in plants. Phytochemistry 20, 553-  
14 567.
- 15 Ogden L. J. E., Hobson, K. A., Lank D. B., 2004. Blood isotopic ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ )  
16 *turnover* and diet-tissue fractionation factors in captive dunlin (*Caladris alpine*  
17 *pacifica*). The Auk 121, 170-177.
- 18 Patterson, B.W., 1997. Use of stable isotopically labeled tracers studies of metabolic  
19 kinetics: an overview. Metabolism 46, 322-329.
- 20 Pereira da Silva, E. M.; Pezzato, L.E. 1999. Comportamento alimentar da tilápia do Nilo  
21 (*Oreochromis niloticus*) frente a diferentes ingredientes alimentares. Acta  
22 scientiarum 21, 297-301.
- 23 Pereira da Silva, E. M.; Pezzato, L.E. 2000. Respostas da tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
24 *niloticus*) à atratividade e palatabilidade de ingredientes na alimentação de peixes.  
25 Revista Brasileira de Zootecnia 29, 1273-1280.
- 26 Pereira da Silva, E., Orsoli D. N., Araújo, F. L., Cantelmo A. L., Merighe, G. K. F.,  
27 2004. Regulação da ingestão protéica da tilápia do Nilo. Revista Brasileira de  
28 Zootecnia 33, 1921-1927.
- 29 Piasentier, E.; Valusso, R.; Carmin, F.; Versini, G., 2003. Stable Isotope Ratio Analysis  
30 for Authentication of Lamb Meat. Meat Science 64, 239-247.



- 1 Post, D.M. 1992. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods  
2 and assumptions. Ecology 83, 703-718.
- 3 Rubio, V. C., Sánchez-Vázquez, F. J., Madrid, J. A., 2003. Macronutrient selection  
4 through postingestive signals in sea bass fed on gelatin capsules. Physiology and  
5 Behavior 78, 795-803.
- 6 Sánchez-Vázquez, F. J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J.A., Tabata, M., 1998.  
7 Selection of macronutrients by goldfish operating self-feeders. Physiology and  
8 Behavior 65, 211-218.
- 9 Sánchez-Vázquez, F. J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J. A., Tabata, M., 1999.  
10 Macronutrient self-selection through demand feeders in rainbow trout. Physiology  
11 and Behavior 66, 45-51.
- 12 Schimdt-Nielsen, K. 2002. Alimento e energia In: Fisiologia Animal: Adaptação e Meio  
13 Ambiente. Editora Santos. Rio de Janeiro. p. 129-164.
- 14 Sclafani A., 1991. Starch and sugar tastes in rodents: an update. Brain Res Bull 27,  
15 383– 86.
- 16 Sclafani A., 2000. Macronutrient-conditioned flavor preferences. In: Berthoud HR,  
17 Seeley RJ, editors. Neural and metabolic control of macronutrient intake. Boca  
18 Raton: CRC Press; 2000. p. 93–106.
- 19 Silva, J.J., 2003. Determinação da fase lactente - ruminante em cordeiros pelas técnicas  
20 do  $\delta^{13}\text{C}$  e micro - histologia fecal. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade  
21 de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu –  
22 SP. p. 43
- 23 Smith, B.N., Epstein, S., 1971. Two categories of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios of higher plants. Plant  
24 Physiology .47, 380-384.
- 25 Tieszen, L.L., Boutton, T.W., Tesdahl, K.G., Slade, N.A., 1983. Fractionation and  
26 *turnover* of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis  
27 of diet. Oecologia 57, 32-37.
- 28 Toguyeni, A., Fauconneau, B., Boujard, T., Fostier, A., Kuhn, E.R., Mol, K.A.,  
29 Baroiller, J.F., 1997. Feeding behavior and food utilization in tilapia, *Oreochromis*  
30 *niloticus*: effects of sex ratio and relationship with the endocrine status. Physiology  
31 and Behavior 62, 273–279.

- 1 Tyrrell, H.F.; Pelletier, G.; Chevalier, R.; Hillaire-Marcell, C.; Gagnon, M., 1984. Use of  
2 carbon 13 as tracer in metabolism studies. Canadian Journal of Animal Science.  
3 127-129.
- 4 Vogel, J.C. 1993. Variability of carbon isotope fractioning during photosynthesis. In:  
5 Stable Isotopes and plant carbon water relations. Eds: Ehleringer, J. R., Hall, A. E.,  
6 Farquhar, G. E., Saugier, B. 29-38.
- 7 Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., 2002. Influence of feeding diets with  
8 and without fish meal by hand and by self-feeders on feed intake, growth and  
9 nutrient utilization of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture  
10 214, 289-305.
- 11 Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., 2003. Effect of water temperature  
12 and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus*  
13 *carpio*). Aquaculture 220,655-666.
- 14 Zuanon, J. A. S., Pezzato A.C., Pezzato, L. E., Passos, J. R. S., Barros, M. M., Ducatti,  
15 C., 2006. Muscle  $\delta^{13}\text{C}$  change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Effects of  
16 growth and carbon turnover. Comparative Biochemistry and Physiology B 145, 101-  
17 107.

## **CAPÍTULO II**

**Regulação do consumo de proteína e energia pela tilápia do Nilo, avaliada pelo enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ )**

1 **Regulação do consumo de proteína e energia pela tilápia do Nilo, avaliada pelo**  
2 **enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ )**

3  
4 **Resumo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade da tilápia do Nilo em  
5 balancear sua dieta, quando fornecidas duas misturas de ingredientes, utilizando os  
6 isótopos estáveis de carbono. Foram utilizados 225 juvenis de tilápia (peso:  $5,0 \pm 0,5$  g),  
7 distribuídos em cinco tanques. Os indivíduos alocados em um dos tanques eram  
8 alimentados com uma mistura de alta proteína (MAP;  $\delta^{13}\text{C} = -22,62\text{‰}$ ), os alocados em  
9 um segundo tanque eram alimentados com uma mistura de baixa proteína (MBP;  $\delta^{13}\text{C} =$   
10  $-14,34\text{‰}$ ) e os animais dos outros tanques tinham acesso livre a ambas, quatro vezes ao  
11 dia. Foram realizadas coletas de músculo, fígado e sangue a cada cinco dias por 86 dias,  
12 exceto para o grupo alimentado com MBP (alimentado por 120 dias). As amostras  
13 foram analisadas em espectrômetro de massa e as proporções consumidas das misturas  
14 foram estimadas a partir do enriquecimento isotópico do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ). O  
15 balanceamento realizado indicou redução no consumo relativo de proteína. Contudo,  
16 esta relação não apresentou padrão definido em relação ao peso dos indivíduos, ou seja:  
17 o balanceamento de proteína e energia para tilápia do Nilo está relacionado  
18 principalmente à idade dos animais e não é claro se este processo está relacionado  
19 também ao seu peso. As estimativas de consumo de um grupo animais desta espécie por  
20 meio dos isótopos estáveis de carbono são semelhantes aos obtidos por outras técnicas,  
21 portanto este método permite observação da diversidade deste comportamento no  
22 autobalanceamento entre os indivíduos que compõe tal grupo.

23 **Palavras-chave:** isótopos estáveis de carbono, livre escolha, tilápia do Nilo.

24

1

2       **The ability of Nile tilapia to regulate protein and energy intake, evaluated by**  
3                                   **carbon relative enrichment ( $\delta^{13}\text{C}$ )**

4

5       **Abstract:** This study aimed to assess the Nile tilapia ability to balance its own diet,  
6 when two ingredient mixes were offered, using carbon stable isotopes. In order to  
7 accomplish that, 225 Nile tilapia juveniles (average initial weight  $5.0\text{g} \pm 0.5\text{g}$ ) were  
8 distributed in five tanks, each containing a group of 45 fish. One group of fish were fed  
9 exclusively a high protein mix (HPM;  $\delta^{13}\text{C} = -22.62\text{‰}$ ), a second one fed only a low  
10 protein mix (LPM;  $\delta^{13}\text{C} = -14.34\text{‰}$ ). The other groups had free access to both mixes  
11 (free choice system). The fish from all tanks were fed four times a day. Muscle, liver  
12 and blood samples were collected at each five days (from 2 fish/tank/collection) for 86  
13 days, except for the fish fed with MBP (fed for a 120 days period). The samples were  
14 analyzed in a mass spectrometer and proportions of the mixes consumed were estimated  
15 through its carbon isotope enrichment ( $\delta^{13}\text{C}$ ). The fish diminished their protein intake  
16 along the time. However, consumption did not present a clear pattern in relation to the  
17 individual weight, i.e.: protein consumption patterns are mainly related to the age of the  
18 individuals and it is not clear if it is also correlated to their weight. The consumption  
19 estimative through stable isotopes of carbon did not conflict other studies reported in the  
20 literature. Additionally this technique allowed observation of consumption among the  
21 individuals from an experimental group.

22       **Key words:** carbon stable isotopes, diet self-selection, Nile tilapia.

23

## 1 **1. Introdução**

2 A maioria dos animais obtêm os nutrientes necessários ao seu metabolismo em  
3 diversas fontes de alimento (Schmidt-Nielsen, 2002). Além disso, a disponibilidade de  
4 itens alimentares no ambiente nem sempre coincide com as necessidades fisiológicas  
5 dos animais nas variadas fases de desenvolvimento. Por isto, a composição de sua dieta  
6 raramente corresponde apenas a uma amostra proporcional à disponibilidade dos  
7 alimentos que os cercam (Kaiser & Hughes, 1993). Portanto, animais podem  
8 apresentar preferências quando diferentes opções de alimento são oferecidas.

9 Estudos de seleção de proteína, lipídeos e carboidratos realizados com ‘goldfish’  
10 *Carassius auratus* (Sánchez-Vázquez et al, 1998), truta-arco-íris *Oncorhynchus mykiss*  
11 (Sánchez-Vázquez et al, 1999) e ‘sea bass’ *Dicentrarchus labrax* (Rubio et al., 2003;  
12 Aranda et al., 2003) indicaram alta capacidade destes peixes em balancear sua dieta  
13 quando fornecidos diferentes alimentos. A escolha dos itens alimentares pode depender  
14 de outros fatores que não somente características organolépticas, mas também a cor do  
15 alimento (Rubio et al., 2003) e variar segundo as condições ambientais (Yamamoto et  
16 al., 2003). Os estudos de escolha voluntária não são conduzidos apenas com  
17 macronutrientes, de maneira isolada, disponibilizando carboidratos, proteínas e lipídeos,  
18 mas também com misturas de composições diferenciadas, de maneira que os peixes  
19 possam balancear sua dieta escolhendo os alimentos disponíveis (Yamamoto et al.,  
20 2002).

21 A preferência alimentar dos animais pode ser estudada utilizando os isótopos  
22 estáveis, como nos trabalhos com bovinos de Jones et al. (1979) e Lourenço et al.  
23 (1981), os quais avaliaram o sinal isotópico das fezes destes animais para estimar o  
24 consumo de forrageiras. A utilização desta técnica está baseada na razão entre o isótopo  
25 mais pesado e o mais leve (razão isotópica), os quais são discriminados em fenômenos  
26 físicos e químicos nos sistemas biológicos, possibilitando sua utilização como  
27 traçadores naturais (Boutton, 1991).

28 A composição isotópica do tecido animal, ou de suas fezes, reflete as  
29 contribuições de suas fontes alimentares. Então, a avaliação da composição isotópica do  
30  $^{13}\text{C}$  dos tecidos dos peixes pode indicar suas fontes de alimento. Porém, a condição  
31 fundamental para indicar a contribuição de cada uma das fontes de alimento é que as  
32 mesmas possuam sinais isotópicos diferentes. Isto é possível, pois plantas de  
33 mecanismos fotossintetizantes distintos, ciclos  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , discriminam o carbono

1 proveniente do CO<sub>2</sub> atmosférico de maneira distinta, refletindo diferentes sinais  
2 isotópicos para carbono nestes vegetais (Ehlering et al., 1993).

3 Contudo, para o rastreamento do <sup>13</sup>C proveniente da fonte alimentar, nos tecidos  
4 dos animais, utilizando o enriquecimento isotópico relativo é necessário considerar o  
5 fracionamento isotópico causado no processo de digestão, assimilação, metabolismo e  
6 excreção de nutrientes (DeNiro & Epstein, 1978), fazendo-se necessária a avaliação  
7 isolada de uma fonte em relação ao tecido a ser analisado.

8 O estudo do comportamento alimentar, avaliando a capacidade da tilápia do Nilo  
9 em balancear sua própria dieta, por meio da livre escolha, pode trazer informações  
10 adicionais quanto às exigências nutricionais desta espécie, assim como, a correlação  
11 entre as fontes protéicas e energéticas provenientes da sua alimentação. Com intuito de  
12 alcançar estas informações este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade da  
13 tilápia do Nilo de balancear sua dieta, quando fornecidas duas misturas de ingredientes.

## 14 15 **2. Material e Métodos**

### 16 17 **2.1. Instalações, animais experimentais e procedimentos para coleta**

18 Neste ensaio foram utilizados 225 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
19 *niloticus*), com peso médio inicial de 5,0 g ± 0,23 g, distribuídos em cinco tanques de  
20 fibra de 1000L (45 indivíduos por tanque), com sistema de aeração, em sistema fechado  
21 de recirculação de água, com tratamento por meio de filtro físico-biológico. A  
22 temperatura da água foi mantida constante (25,5°C – 26,5°C) por meio de aquecedores e  
23 termostato. Previamente ao período experimental, os animais passaram por adaptação às  
24 condições ambientais dos aquários por 25 dias. Neste período, os peixes foram  
25 alimentados com dieta inicial balanceada, a fim de homogeneizar o enriquecimento  
26 isotópico relativo ( $\delta^{13}\text{C}$ ) de seus tecidos.

27 Após o período de adaptação, um destes grupos de peixes recebeu como  
28 alimentação exclusiva uma mistura peletizada, com baixo teor de proteína (MPB) e  
29 enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) igual a -14,34‰, por 120 dias, devido  
30 principalmente ao desbalanceamento nutricional desta mistura com quantidade de  
31 proteína abaixo da exigência da espécie. Um segundo grupo recebeu mistura peletizada,  
32 com elevado teor de proteína (MAP) e com  $\delta^{13}\text{C}$  igual a -22,62‰ (Tabela 1), por 86  
33 dias. Este procedimento teve como intuito principal tornar possível os cálculos de  
34 consumo de nutrientes por meio da utilização da equação de diluição simples, com duas

1 fontes e um produto, utilizando valores de  $\delta^{13}\text{C}$  do mesmo tecido, evitando o  
2 fracionamento isotópico entre a dieta e o tecido e diferentes relações de carbono e  
3 nitrogênio.

4 Nos grupos restantes (R1, R2 e R3) os animais tiveram à sua disposição ambas  
5 as misturas, podendo escolher entre estas, durante o período de 86 dias. Para propiciar o  
6 processo de livre escolha, estes três grupos foram alimentados com auxílio de  
7 comedouros confeccionados com tela de PVC sob armação arredondada confeccionada  
8 de tubos plásticos. No processo de alimentação, dois comedouros por tanque eram  
9 submersos e as misturas colocadas sobre estes com auxílio de um tubo de PVC. Em  
10 todos os grupos os animais foram alimentados até a saciedade por quatro vezes ao dia.

11 No início e ao longo do período experimental (no primeiro, 5°, 10°, 15°, 21°,  
12 25°, 31°, 35°, 40°, 45°, 50°, 56°, 61°, 66°, 71°, 76°, 86° dias) foram coletadas amostras  
13 de tecidos (sangue, músculo e fígado). Nestas coletas os animais foram escolhidos  
14 aleatoriamente em cada tanque, inicialmente retirando-se dois animais por tanque a cada  
15 coleta e a partir da 14ª coleta (66° dia) apenas um indivíduo por tanque, até a penúltima  
16 coleta. Os animais foram anestesiados (benzocaína 1,0g /15,0L de água) e sua veia  
17 caudal era puncionada para coleta de sangue. Após este processo, os animais foram  
18 sacrificados e coletou-se uma secção do músculo da região dorsal e outra do fígado, em  
19 um volume de aproximadamente 0,5cm<sup>3</sup> cada. Todas as amostras foram congeladas (-  
20 18°C) até a realização das análises. Adicionalmente, coletou-se amostra de tecidos dos  
21 animais submetidos à alimentação exclusiva com MBP, com intuito de atingir o patamar  
22 isotópico de <sup>13</sup>C no *turnover* dos seus tecidos.

23

## 24 **2.2. Análises isotópicas**

25 As amostras de músculos, fígado e sangue foram secas em estufa a 55°C até a  
26 obtenção da massa constante (24 h). O fígado, após secagem, foi desengordurado em  
27 éter etílico em Soxhlet, conforme recomendado por Hobson & Clark (1992). As  
28 amostras de músculo foram trituradas em moinho criogênico (-195°C) e as amostras de  
29 sangue e fígado maceradas manualmente com ajuda de pistilo, devido a reduzida  
30 quantidade pós-secagem, de modo que se evitasse perda de material com a utilização do  
31 moinho.

32 A razão <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C foi determinada utilizando-se um espectrômetro de massa de  
33 baixa resolução, tipo DELTA S (FinniganMat), acoplado a analisador elemental (EA  
34 1108 CHN). Os valores expressos em  $\delta^{13}\text{C}$  e calculados de acordo com a equação



1  $\delta^{13}\text{C} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3$ , onde  $\delta^{13}\text{C}$  representa o enriquecimento de carbono da  
 2 amostra em relação ao padrão internacional, representado pelo fósfil carbonatado de  
 3 *Bellemnitella americana*, da formação Peede do sul da Califórnia – EUA (PDB) e R  
 4 representa a razão isotópica ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) da amostra e do padrão. A precisão analítica do  
 5 equipamento era de 0,2 ‰.

6

### 7 **2.3. Estimativa do balanceamento de proteína e energia por meio dos isótopos** 8 **estáveis de carbono**

9 Os resultados das preferências alimentares foram obtidos por meio da expressão  
 10 de diluição isotópica simples entre duas fontes alimentares:

11

$$12 \text{ **Proporção MAP (\%)} = [(\delta_{\text{ fonte MBP}} - \delta_{\text{ amostra}}) / (\delta_{\text{ fonte MBP}} - \delta_{\text{ fonte MAP}})] \times 100 \quad (1)**$$

13

$$14 \text{ **Proporção MBP (\%)} = [(\delta_{\text{ fonte MAP}} - \delta_{\text{ amostra}}) / (\delta_{\text{ fonte MAP}} - \delta_{\text{ fonte MBP}})] \times 100 \quad (2)**$$

15

16 Nestas expressões a simbologia empregada significa:

17 Proporção consumida MAP (%): contribuição da fonte alimentar MAP em relação ao  
 18 tecido analisado, segundo o enriquecimento relativo de carbono do tecido analisado  
 19 (músculo, fígado ou sangue);

20 Proporção consumida MBP (%): contribuição da fonte alimentar MBP em relação ao  
 21 tecido analisado, segundo o enriquecimento relativo de carbono do tecido analisado  
 22 (músculo, fígado ou sangue);

23  $\delta_{\text{ fonte MBP}}$ : enriquecimento isotópico do tecido analisado dos animais os quais  
 24 receberam dieta exclusiva MBP ao final do período experimental;

25  $\delta_{\text{ amostra}}$ : enriquecimento isotópica do tecido estudado;

26  $\delta_{\text{ fonte MAP}}$ : enriquecimento isotópico do tecido analisado dos animais os quais  
 27 receberam dieta exclusiva MAP ao final do período experimental.

28 Com os resultados obtidos nas expressões 1 e 2 partiu-se para o cálculo da  
 29 obtenção do balanceamento em proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) e os  
 30 valores baseiam-se nos resultados das análises bromatológicas (Tabela 1) das misturas,  
 31 propondo as seguintes expressões:

32

$$33 \text{ **PD (\%)} = [(\text{Proporção de MAP (\%)} \times \text{PD MAP}) + (\text{Proporção MBP} \times \% \text{ PD MBP})] \quad (3)**$$

34

1 **ED (kcal/kg) = [(Proporção de MAP(%) x ED MAP)+(Proporção MBP (%)x ED MBP)] ( 4 )**

2

3 Nas expressões ( 3 ) e ( 4 ) a simbologia empregada significa:

4 PD (%): Estimativa do balanceamento de proteína digestível, com base na assinatura  
5 isotópica de carbono;

6 ED (kcal/kg): Estimativa de balanceamento de energia digestível, com base na  
7 assinatura isotópica de carbono;

8 Proporção de MAP (%): contribuição da fonte alimentar MAP em relação ao tecido  
9 analisado, segundo o enriquecimento relativo de carbono do tecido analisado (músculo,  
10 fígado ou sangue);

11 Proporção de MBP (%): contribuição da fonte alimentar MBP em relação ao tecido  
12 analisado, segundo o enriquecimento relativo de carbono do tecido analisado (músculo,  
13 fígado ou sangue);

14 % PD MAP: conteúdo de proteína digestível estimado para tilápia do Nilo da mistura de  
15 alta proteína (MAP);

16 % PD MBP: conteúdo percentual de proteína digestível estimado para tilápia do Nilo da  
17 mistura de baixa proteína (MBP);

18 ED MAP: conteúdo de energia digestível, em kcal/kg, estimado para tilápia do Nilo da  
19 mistura de alta proteína (MAP);

20 ED MBP: conteúdo de energia digestível, em kcal/kg, estimado para tilápia do Nilo da  
21 mistura de alta proteína (MBP).

22

23

### 24 **3. Resultados**

25

#### 26 **3.1. Mudança no enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ )**

27 A Figura 1 representa a troca de assinatura isotópica dos diferentes tecidos dos  
28 indivíduos que receberam exclusivamente as misturas de alto teor protéico (MAP) ou de  
29 baixo teor proteína (MBP). Os valores utilizados nos cálculos de diluição simples ( $\delta$   
30 fonte MBP e  $\delta$  fonte MAP) foram obtidos a partir de valores reais de enriquecimento  
31 isotópico relativo dos tecidos dos animais (Tabela 2), submetidos às misturas  
32 experimentais por 120 dias de alimentação para MBP (músculo e sangue) e 86 dias dias  
33 para MAP (fígado, músculo e sangue) e MBP no fígado.

1 A estabilização do sinal de  $^{13}\text{C}$  na troca do carbono nos animais (patamar  
2 isotópico) apresentou-se em tempo diferente para cada tecido. O fornecimento das  
3 diferentes misturas a estes animais acarretou na diferença de tempo necessário para os  
4 tecidos analisados atingirem seus patamares isotópicos. A MAP demandou menos  
5 tempo para levar os tecidos dos indivíduos ao patamar isotópico, pois apresentava  
6 enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) próximo ao inicial dos animais (ciclo  
7 fotossintético  $\text{C}_3$ ) e maior quantidade de proteína (Tabela 1).

8 A mistura MBP possuía sinal isotópico próximo aos vegetais de ciclo  
9 fotossintético  $\text{C}_4$ , mais distante do sinal inicial dos animais experimentais e com  
10 agravante de possuir quantidade de proteína aquém da necessidade dos indivíduos desta  
11 espécie. Isto exigiu maior tempo para que o sinal dos tecidos se aproximasse do sinal da  
12 dieta. Somente o fígado destes animais, que se alimentaram desta mistura, apresentou-se  
13 como exceção, mostrando rápido *turnover* de carbono, mesmo sob restrição protéica  
14 ocasionada pela dieta fornecida.

### 16 **3.2. Balanceamento de proteína e energia estimado por $\delta^{13}\text{C}$**

17 As curvas de teóricas de estimativa do balanceamento de proteína e energia  
18 estimado pelo enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) apresentaram forma  
19 exponencial crescente no caso de energia e decrescente para o balanceamento de  
20 proteína (Figura 2). As curvas de balanceamento são originárias dos valores dos  $\delta^{13}\text{C}$   
21 dos tecidos e sua representação gráfica reproduzem apenas a mudança da assinatura  
22 respectiva de cada tecido ao longo dos dias do ensaio experimental. Isto não significa  
23 necessariamente um comportamento exponencial no balanceamento de energia e  
24 proteína, pois no período inicial de coleta, os tecidos não haviam substituído seus  
25 átomos de carbono, pelos átomos provenientes da ingestão de MAP e MBP e dos  
26 produtos de seu metabolismo.

27 Entretanto, a Tabela 3 apresenta valores do balanceamento de proteína e energia  
28 a partir do 50° dia de experimentação. Neste período, os animais estavam submetidos ao  
29 regime alimentar de auto-escolha por período suficiente para realizarem troca dos  
30 átomos de carbono, em especial das células hepáticas. Nos valores das estimativas do  
31 balanceamento é possível observar uma tendência de redução no consumo relativo de  
32 PD de aumento de no consumo de ED.

33 A relação do balanceamento de proteína e energia em função do tamanho dos  
34 indivíduos não apresentou padrão definido. As relações de consumo destes nutrientes

1 (PD e ED) estão aparentemente mais atreladas à idade dos animais se comparado ao seu  
2 peso (Figura 3). Isto reflete a ausência de homogeneidade de peso dos grupos de  
3 animais neste experimento de livre-escolha, indicando que as relações de dominância e  
4 submissão exerceram papel importante no balanceamento protéico e energético.

5

6

## 7 **4. Discussão**

8

### 9 **4.1. Turnover de carbono nos tecidos**

10 Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  dos animais que receberam exclusivamente uma das misturas  
11 (Figura 1) indicaram diferença de tempo para atingirem o patamar isotópico entre os  
12 tecidos analisados. Consequentemente, diferentes valores de meia vida (T). Contudo,  
13 era esperado que o tempo de troca de carbono nos tecidos dos animais que se  
14 alimentaram somente da mistura MBP, com sinal próximo dos vegetais de ciclo  
15 fotossintético  $\text{C}_4$ , apresentassem maiores valores de meia vida. Isto se deve a quantidade  
16 de proteína desta mistura, a qual era aquém da demanda deste nutriente para obtenção  
17 do crescimento adequado. Portanto, o metabolismo dos animais submetidos a este  
18 regime alimentar necessitou de mais tempo para realizar a troca (*turnover*) do carbono  
19 de seus tecidos, em comparação aos animais que se alimentaram com mistura MAP,  
20 com teor protéico acima da exigência diária de proteína.

21 Entretanto, os diferentes valores de meia vida apresentado por cada tecido se  
22 deve às características metabólicas destes. O tecido de maior velocidade de troca, o  
23 fígado, possui alta taxa de troca de carbono em suas células. A velocidade de troca de  
24 carbono nos tecidos avaliados neste ensaio não difere dos resultados encontrados por  
25 Gaston & Suthers (2004) e Hobson & Clark (1992). Estes autores trabalharam com  
26 diferentes espécies animais e também encontraram maior taxa de *turnover* para fígado,  
27 seguido do sangue e finalmente o músculo, o último apresentando maior valor de meia  
28 vida entre eles.

29 Para possibilitar as estimativas de consumo das misturas pelos peixes neste  
30 experimento foi necessário conhecer a influência das dietas nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  dos  
31 tecidos. Este procedimento permite que se considere a influência do fracionamento  
32 isotópico, realizado durante metabolismo dos diferentes tecidos dos animais, na  
33 conversão da matéria da dieta em tecido animal (Ogden et al., 2004).

## 1 **4.2. Balanceamento de proteína e energia**

2 A tendência na redução do consumo relativo de proteína e o aumento do  
3 consumo de energia ao longo do tempo observados neste trabalho (Tabela 3)  
4 apresentaram relação direta com resultados obtidos por Hafedh (1999). Este autor  
5 encontrou decréscimo na eficiência de utilização de proteína conforme o crescimento  
6 dos animais, apesar de seus resultados apontarem melhor desempenho conforme o  
7 aumento da quantidade de proteína na dieta. Ou seja, a avaliação econômica da  
8 utilização de proteína indica para confecção de uma dieta de 40% para indivíduos com  
9 0,51g P.V. e 30% de proteína para indivíduos maiores (96-264g).

10 Para De Silva et al. (1989) a exigência de proteína para indivíduos (tilápia) de 1  
11 a 5g P.V. estaria em torno de 28% de proteína na dieta, contudo, para obtenção de  
12 melhores resultados de crescimento, a exigência protéica dos animais nesta faixa de  
13 peso seria de 34%. Segundo o NRC (1993), a exigência de proteína digestível para  
14 indivíduos pesando cerca de 50g P.V. está em torno de 30% de proteína digestível. O  
15 balanceamento de PD neste estudo apresentou valores inferiores quando estimados por  
16 meio do enriquecimento relativo de carbono do fígado e músculo. Contudo, o  
17 autobalanceamento de proteína neste ensaio tem em comum com os trabalhos citados, a  
18 redução da ingestão de proteína ao longo do tempo, conseqüentemente com o maior  
19 peso médio do grupo.

20 Entretanto, os resultados aqui apresentados conflitam com os obtidos por El-  
21 Sayed & Teshima (1991) que concluíram que a tilápia do Nilo necessita de 45% de  
22 proteína e 4000kcal/kg de energia bruta para explorar o máximo potencial de  
23 crescimento da espécie. Seus resultados, porém, consideraram a composição de  
24 aminoácidos que compunham a proteína da dieta e as conclusões relativas à exigência  
25 de energia não consideraram a variação da demanda deste nutriente em função do  
26 crescimento dos indivíduos.

27 Segundo Meyer-Burgdorff et al. (1989), que avaliaram o metabolismo  
28 energético da mesma espécie de peixe em crescimento, a utilização de energia  
29 permanece constante mesmo com excesso de alimento. Seus resultados levam a  
30 acreditar que, assim como para outras espécies, o balanceamento de energia possui  
31 papel importante na regulação de consumo de alimento para esta espécie.

32 Nos trabalhos de exigência nutricional a avaliação da utilização de uma dieta  
33 está unicamente ligada a critérios de seu desempenho zootécnico, sem considerar a  
34 variabilidade fisiológica e comportamental dos indivíduos que compõe o grupo

1 experimental. As estimativas de exigência de proteína para peixes podem ser facilmente  
2 superestimadas devido a maior facilidade por estes organismos de utilizar proteína  
3 como fonte de energia, se comparado a mamíferos e aves (Schmidt-Nielsen, 2002).  
4 Além disso, para obtenção de valores otimizados de nutrientes, os níveis destes são  
5 estabelecidos previamente à realização do ensaio, limitando os resultados ao nível mais  
6 próximo do ideal dos níveis testados em cada experimento.

7         Diversos estudos (Sánchez-Vázquez et al., 1999; Sánchez-Vázquez et al., 1998 ;  
8 Aranda et al., 2003) avaliaram a capacidade de diferentes espécies em regular o seu  
9 consumo de alimento e concluíram que estas espécies são capazes de realizar esta  
10 regulação com base na ingestão de energia e proteína. Rubio et al. (2003) num  
11 experimento com ‘sea bass’, ao avaliarem a capacidade desta espécie em escolher entre  
12 macronutrientes, concluíram que a mesma foi perfeitamente capaz de selecionar e  
13 balancear seu consumo diário de energia. Adicionalmente, os mesmos autores  
14 afirmaram que esta capacidade estava relacionada à associação de informações  
15 sensoriais e conseqüências pós-ingestão dos alimentos. No presente trabalho, os  
16 resultados indicaram que a tilápia também é capaz de fazer esta regulação, porém alguns  
17 fatores contribuem para a alta variação individual nos processos de escolha de alimento,  
18 principalmente as relações de dominância e territorialidade características desta espécie.

19         Pereira da Silva et al. (2004) também concluíram que a tilápia do Nilo é capaz  
20 de balancear a ingestão de proteína por meio de livre-escolha, utilizando alimentadores  
21 de demanda. Apesar de seu estudo apresentar apenas a média de consumo relativo de  
22 alimento dos animais experimentais, ou seja, sem observação de diferenças nas escolhas entre  
23 os indivíduos, seus resultados indicaram que esta espécie ajusta seu consumo relativo  
24 para o nível de 24% de proteína bruta. Este nível foi inferior aos níveis encontrados em  
25 trabalhos convencionais de exigência, porém muito similar aos valores obtidos no  
26 presente estudo (Tabela 3), principalmente se comparados aos resultados obtidos a partir  
27 do enriquecimento relativo de carbono do fígado e músculo.

28         Em experimentos de exigência nutricional a partir de valores pré-determinados  
29 busca-se o melhor desempenho dos indivíduos, submetidos a dietas com diferentes  
30 quantidades de determinado nutriente. Em experimentos de autobalanceamento, por  
31 meio de livre escolha, os animais determinam os níveis de ingestão de um nutriente  
32 (neste caso: energia e proteína), mas não necessariamente para obter maior taxa de  
33 crescimento, apesar de vários resultados apontarem para desempenho compatível de

1 desempenho de animais submetidos a este sistema de regime alimentar se comparados a  
2 animais recebendo alimentação com dieta balanceada.

3 A variação individual na escolha entre os alimentos fornecidos sofreram  
4 influência das relações de dominância e submissão que estão presentes em estudos de  
5 comportamento de ciclídeos, grupo de peixes no qual a tilápia do Nilo está inserida.  
6 Para Grant et al. (2002), este grupo apresenta comportamento de maior agressividade  
7 em situação de disponibilidade intermediária de alimento; em casos de restrição  
8 alimentar ou de excesso de alimento os conflitos intra-específicos são reduzidos.  
9 Adicionalmente, pouco se sabe sobre variabilidade individual no funcionamento  
10 metabólico das espécies de peixes, tornando avaliações com utilização de médias de  
11 consumo de mais fácil interpretação.

12 O balanceamento de proteína e energia observadas neste experimento em relação  
13 ao peso dos animais, sem considerar a idade, não apresentou tendência de redução ou  
14 aumento de consumo. Estes resultados divergem dos trabalhos de exigência (De Silva et  
15 al., 1989; De Silva & Gunasekera, 1989) para as espécies de peixes. Nestes trabalhos a  
16 exigência nutricional dos peixes está sempre relacionada ao peso dos animais.

17 Como os peixes deste experimento necessitavam escolher adequadamente entre  
18 duas misturas para obtenção da dieta balanceada, pode-se acreditar que estes possuem  
19 diferente capacidade de escolher apropriadamente alimentos sob condições de cultivo.  
20 Assim, estas escolhas têm grande influência das características comportamentais de  
21 territorialidade da espécie estudada. Observou-se na média de escolha de alimento do  
22 grupo, que a tilápia do Nilo poderia ser considerada capaz de obter por si só a dieta que  
23 se ajuste as suas necessidades de crescimento, porém existe considerável variabilidade  
24 individual nesta capacidade.

25 Em trabalhos de livre escolha realizados com outras espécies (Rubio et al., 2003;  
26 Aranda et al., 2003; Yamamoto et al., 2003; Sánchez-Vázquez et al., 1999) e com a  
27 tilápia do Nilo (Pereira da Silva et al., 2004), as estimativas de consumo são baseadas  
28 na média de consumo aparente observado por meio de comedouros de demanda. Desta  
29 maneira, estes autores encontraram alta capacidade das espécies em balancear sua  
30 própria alimentação. Os resultados obtidos aqui não divergiram destes trabalhos  
31 anteriores, porém, foi possível observar que esta capacidade de balancear a dieta não foi  
32 de mesma intensidade e comum a todos os indivíduos componentes do grupo  
33 experimental.

34

## 1 **5. Conclusões**

2 Num grupo de indivíduos de tilápia do Nilo há redução do consumo relativo de  
3 proteína ao longo do tempo acompanhado de simultâneo aumento do consumo de  
4 energia;

5 O autobalanceamento de proteína e energia para tilápia do Nilo está relacionado  
6 principalmente à idade dos animais e não é claro se este processo está relacionado  
7 também ao seu peso;

8 As estimativas de autobalanceamento da ingestão de energia e proteína de um  
9 grupo animais desta espécie por meio dos isótopos estáveis de carbono são semelhantes  
10 aos obtidos por outras técnicas, contudo este método permite observação da diversidade  
11 deste comportamento entre os indivíduos que compõe tal grupo.



**Tabela 1.** Ingredientes, composição percentual e enriquecimento isotópico das misturas de alta e baixa proteína utilizadas como alimento para tilápia do Nilo para obtenção de valores de consumo auto-regulado de proteína e energia

Ingrediente (%)	Mistura	
	MPB <sup>2</sup>	MAP <sup>1</sup>
Farinha de peixe	8,22	51,76
Farelo de soja	-	36,00
Farelo de algodão	-	8,70
Fubá de milho	65,17	-
Amido de milho	3,96	-
Alginato	1,00	1,00
Celulose	4,25	1,42
Óleo de milho	11,00	-
Fosfato bicálcico	4,58	-
Calcário	1,01	-
DL-Metionina	-	0,31
Vitamina C	0,09	0,09
Sal	0,20	0,2
Suplemento vitamínico e mineral <sup>3</sup>	0,50	0,50
BHT <sup>4</sup>	0,02	0,02
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Valores Nutricionais</b>		
Proteína Bruta (%)	12,19	52,69
Proteína Digestível <sup>5</sup> (%)	11,25	46,71
Energia Bruta (kcal/kg)	4400	4217
Energia Digestível <sup>5</sup> (kcal/kg)	3331	2851
Extrato Etéreo (%)	12,57	7,66
<b>Enriquecimento relativo de carbono</b>		
( $\delta^{13}\text{C}$ )	-	-
	14,34‰	22,62‰

<sup>1</sup> MAP = mistura alta proteína;

<sup>2</sup> MBP = mistura baixa proteína;

<sup>3</sup> Suplemento vitamínico e mineral – *Supre Mais*: níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas: A=1.200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ácido fólico=1.200 mg; pantotenato Ca=12.000 mg; C=48.000 mg; biotina=48 mg; colina=65.000 mg; =24.000 mg; minerais: Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=0 mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se=20 mg;

<sup>4</sup> BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante.

<sup>5</sup> Valores estimados de acordo com Pezzato et al (2002).

**Tabela 2.** Valores analisados de enriquecimento isotópico relativo ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e equações de *turnover* de carbono de músculo, sangue e fígado de tilápia do Nilo, alimentadas exclusivamente com a mistura de alta proteína (MAP) e mistura de baixa proteína (MBP)

Tecido	Regime Alimentar	Equação <sup>1</sup>	$\delta^{13}\text{C}_{\text{fonte}}$ <sup>2</sup>	Meia-vida (dias) <sup>3</sup>
Músculo	MBP	$\delta^{13}\text{C}(t) = \left\{ -18,28\% + \left[ \frac{-8,87\%}{1 + e^{(-470,66t/22,4462)}} \right] \right\}$	-17,38‰	47
	MAP	$\delta^{13}\text{C}(t) = -20,99 - 0,60 e^{(-0,0366t)}$	-21,17‰	19
Sangue	MBP	$\delta^{13}\text{C}(t) = -16,39 - 5,64 e^{(-0,0230t)}$	-15,91‰	30
	MAP	$\delta^{13}\text{C}(t) = -21,18 - 1,53 e^{(-0,0230t)}$	-21,32‰	17
Fígado	MBP	$\delta^{13}\text{C}(t) = -12,96 - 8,89 e^{(-0,0741t)}$	-12,86‰	9
	MAP	$\delta^{13}\text{C}(t) = -20,95 - 2,97 e^{(-0,1294t)}$	-21,34‰	5

<sup>1</sup> Nas equações a simbologia significa:  $\delta^{13}\text{C}(t)$  = enriquecimento isotópico relativo em função do tempo, t = tempo;

<sup>2</sup>  $\delta^{13}\text{C}_{\text{fonte}}$  : enriquecimento isotópico do tecido analisado dos animais os quais receberam dieta exclusiva MBP ou MAP ao final do período experimental;

<sup>3</sup> Meia-vida (T) : tempo necessário para da metade dos átomos de carbono, de acordo com a equação  $T = \ln 2/k$ , sendo k, uma constante de troca isotópica em unidades de tempo<sup>-1</sup>.

**Tabela 3.** Balanceamento de proteína e energia baseado no enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) carbono em diferentes tecidos da tilápia do Nilo

Tempo (dias)	Peso (g)	Tecido	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) <sup>1</sup>	MAP (%) <sup>2</sup>	MBP (%) <sup>3</sup>	PD (%) <sup>4</sup>	ED (kcal/kg) <sup>5</sup>
50	112,5 ± 41,0	Músculo	-19,47 ± 0,42	55,1 ± 11,2	44,9 ± 11,2	30,8 ± 4,0	3067 ± 54
		Sangue	-19,33 ± 0,86	63,1 ± 15,9	36,9 ± 15,9	37,8 ± 6,5	3028 ± 77
		Fígado	-16,24 ± 1,8	39,9 ± 21,2	60,1 ± 21,2	25,4 ± 7,5	3139 ± 102
56	123,4 ± 30,1	Músculo	-19,33 ± 0,74	51,4 ± 19,4	48,6 ± 19,4	29,5 ± 6,9	3084 ± 93
		Sangue	-19,41 ± 0,72	64,8 ± 13,3	35,2 ± 13,3	38,4 ± 5,4	3020 ± 64
		Fígado	-17,27 ± 1,60	51,9 ± 18,8	48,1 ± 18,8	29,7 ± 6,7	3082 ± 90
61	161,2 ± 50,1	Músculo	-19,23 ± 0,61	48,7 ± 16,1	51,3 ± 16,1	28,5 ± 5,7	3097 ± 77
		Sangue	-19,14 ± 0,94	59,8 ± 17,4	40,2 ± 17,4	36,4 ± 7,1	3044 ± 84
		Fígado	-16,68 ± 1,65	45,0 ± 19,4	55,0 ± 19,4	27,2 ± 6,9	3115 ± 93
66	194,5 ± 18,8	Músculo	-19,09 ± 0,29	45,0 ± 7,6	55,0 ± 7,6	27,2 ± 2,7	3115 ± 37
		Sangue	-19,47 ± 0,35	65,8 ± 6,4	34,2 ± 6,4	38,8 ± 2,6	3015 ± 31
		Fígado	-17,08 ± 0,53	49,8 ± 6,3	50,2 ± 6,3	28,9 ± 2,2	3092 ± 30
71	191,6 ± 12,1	Músculo	-18,89 ± 0,29	39,8 ± 7,7	60,2 ± 7,7	25,4 ± 2,7	3140 ± 37
		Sangue	-19,17 ± 0,67	60,2 ± 12,4	30,8 ± 12,4	36,6 ± 5,0	3042 ± 59
		Fígado	-16,02 ± 2,04	37,29 ± 24,1	62,7 ± 24,1	24,5 ± 8,5	3152 ± 115
76	177,5 ± 40,5	Músculo	-18,76 ± 0,43	36,5 ± 11,4	63,5 ± 11,4	24,2 ± 4,0	3156 ± 55
		Sangue	-18,55 ± 0,70	48,7 ± 13,0	51,3 ± 13,0	31,9 ± 5,2	3097 ± 62
		Fígado	-15,42 ± 0,30	30,2 ± 3,5	69,8 ± 3,5	22,0 ± 1,2	3185 ± 17
86	251,8 ± 64,3	Músculo	-18,74 ± 0,70	35,8 ± 18,5	64,2 ± 18,5	24,0 ± 6,6	3159 ± 93
		Sangue	-18,75 ± 0,82	52,5 ± 15,1	47,5 ± 15,1	33,5 ± 6,1	3079 ± 72
		Fígado	-15,76 ± 1,54	34,2 ± 18,1	65,8 ± 18,1	23,4 ± 6,4	3167 ± 87

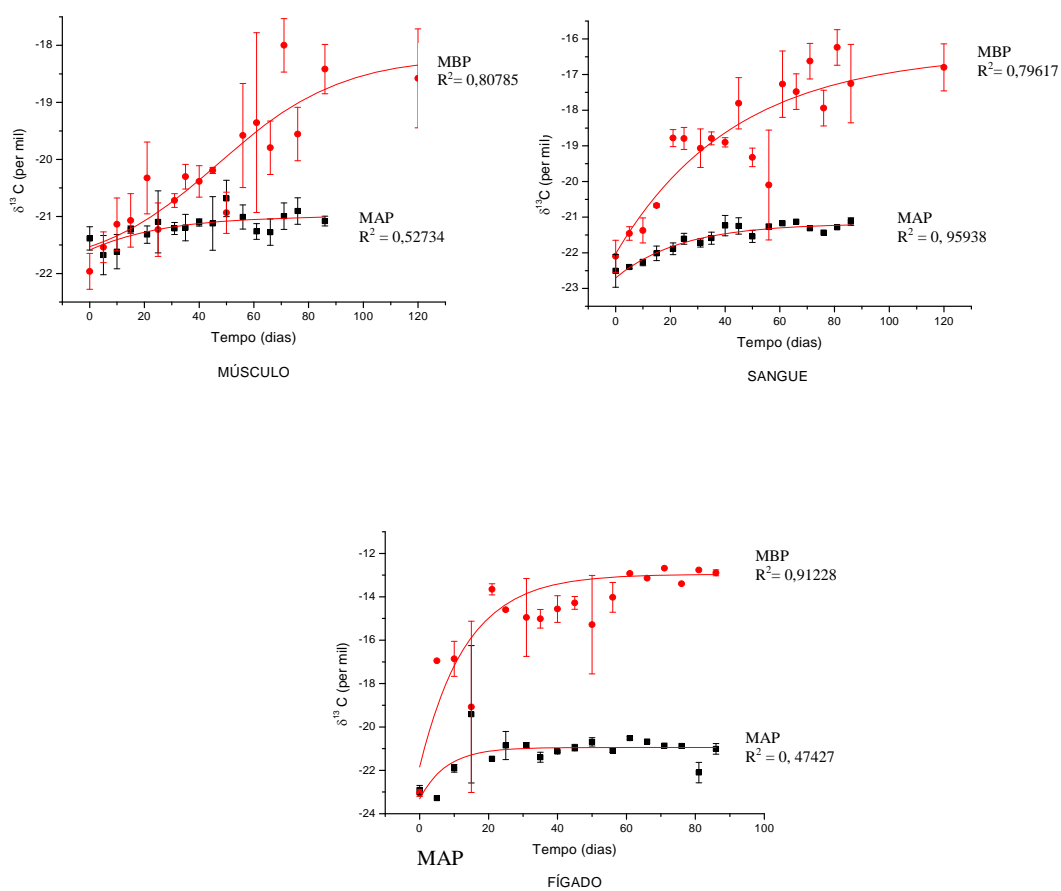
<sup>1</sup>  $\delta^{13}\text{C}$  (‰): Enriquecimento isotópico relativo;

<sup>2</sup> MAP (%): Balanceamento da ingestão de mistura alta proteína (MAP) estimada pela equação de diluição isotópica simples por meio do enriquecimento isotópico dos tecidos músculo, sangue e fígado;

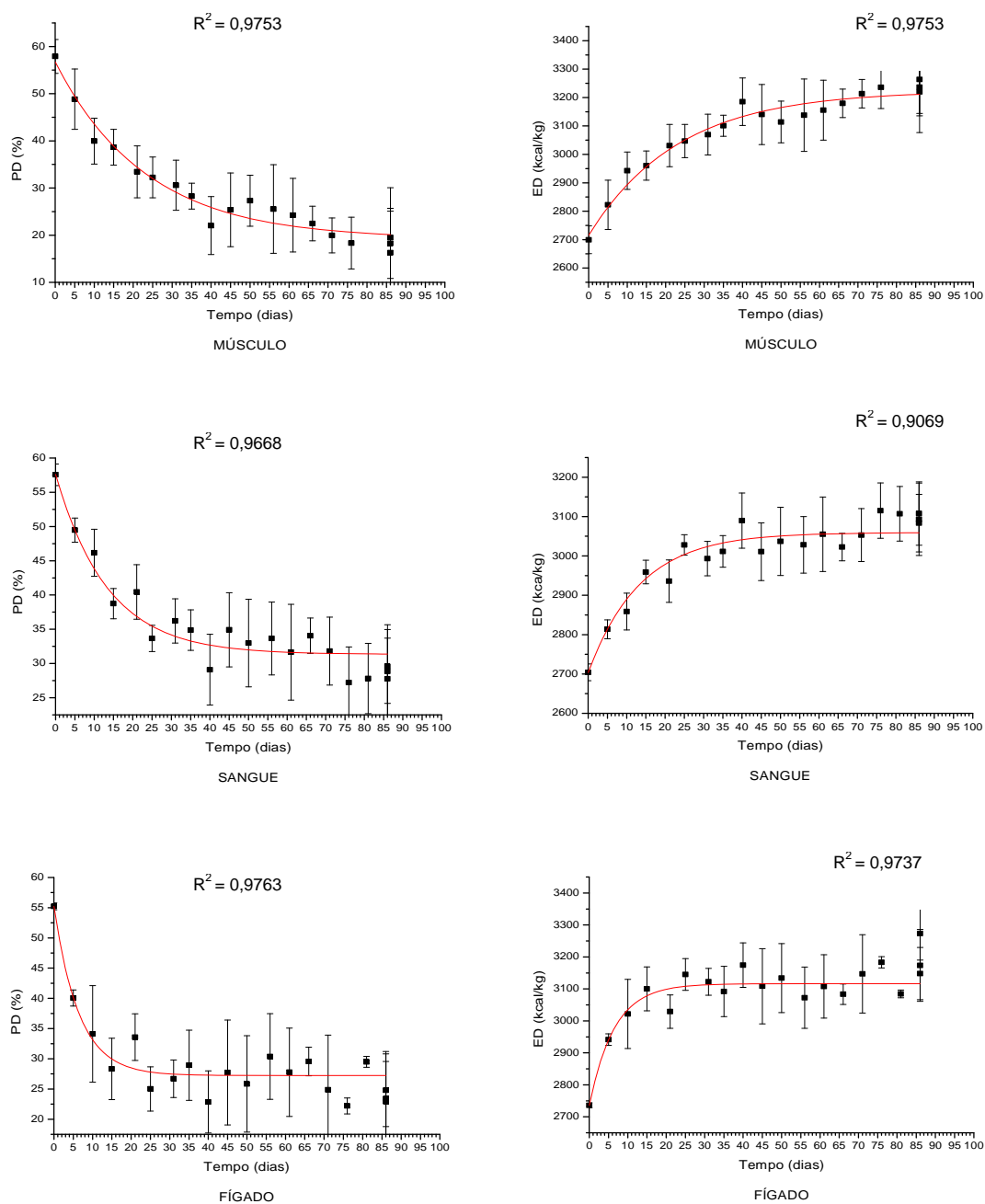
<sup>3</sup> MBP (%): Balanceamento da ingestão de mistura baixa proteína (MAP) estimada pela equação de diluição isotópica simples por meio do enriquecimento isotópico dos tecidos músculo, sangue e fígado;

<sup>4</sup> PD (%): Balanceamento estimado da ingestão proteína digestível estimada a partir dos valores de MBP (%) e MAP (%) e seus respectivos valores percentuais de proteína digestível, com base na matéria seca;

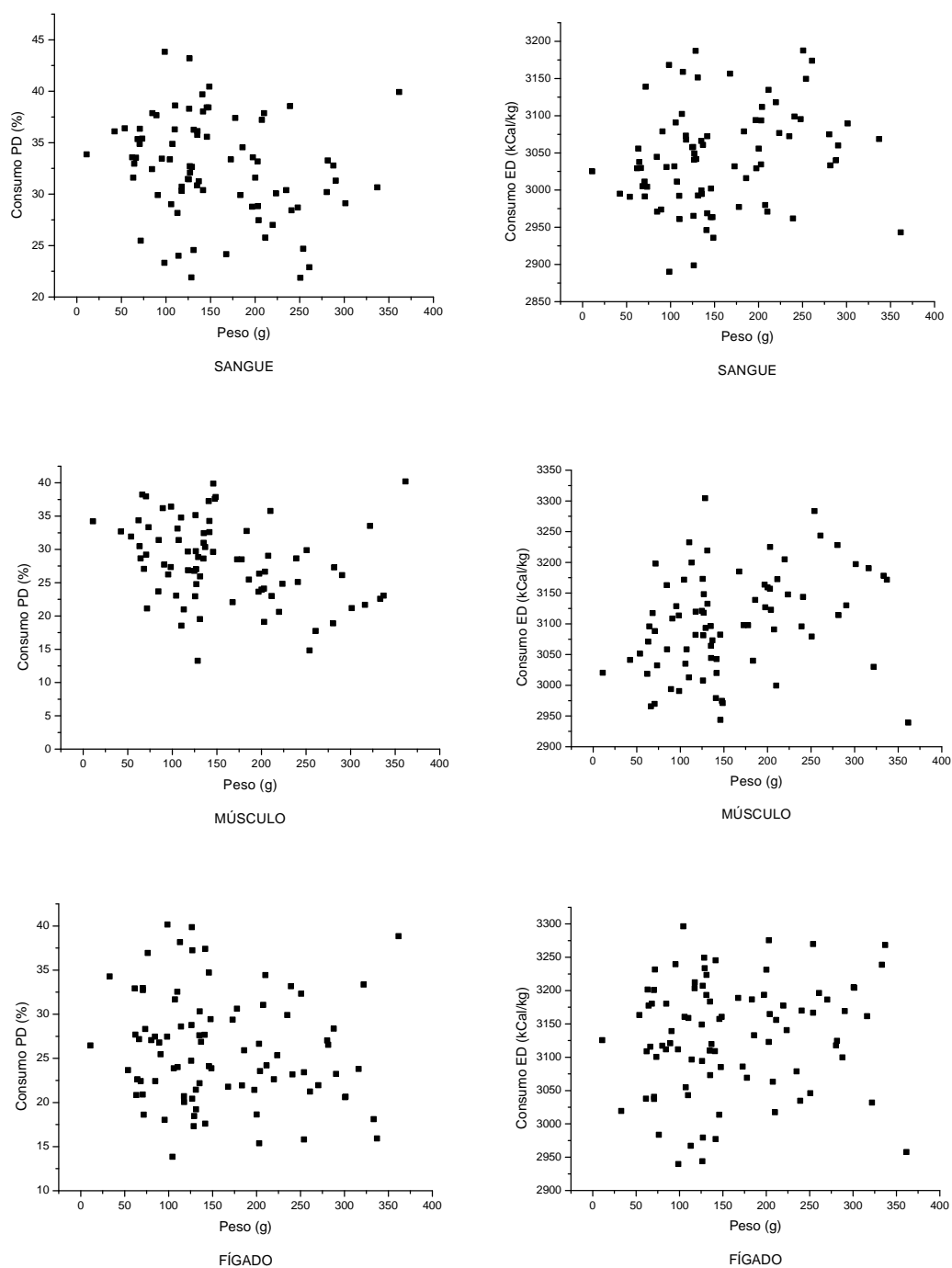
<sup>5</sup> ED (kcal/kg): Balanceamento estimado da ingestão proteína digestível estimada a partir dos valores de MBP (%) e MAP (%) e seus respectivos valores de energia digestível em kcal/kg, com base na matéria seca.



**Figura 1.** Troca de assinatura isotópica - enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) - dos tecidos (fígado, músculo e sangue) de tilápia do Nilo submetida as misturas com baixo e alto teor de proteína em função do período experimental



**Figura 2.** Balançamento de proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) estimado pelo enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) no sangue, músculo e fígado da tilápia do Nilo em função do tempo.



**Figura 3.** Balanceamento de proteína digestível (PD) e energia digestível (ED) estimado pelo enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) no sangue, músculo e fígado da tilápia do Nilo em função do peso dos indivíduos.

## 6. Referências Bibliográficas

- Aranda, A., Sanchez – Vázquez, F. A., Madris, J. A., 2003. Effect of short-term fasting on macronutrient self-selection in sea bass. *Physiology and Behavior* 73, 105-109.
- Boutton, T.W., 1991. Stable carbon ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine and freshwater environments. In: Coleman, D. C.; Fry, B. (Ed.) *Carbon Isotope Techniques*. New York: Academic Press.173-185.
- De Niro, M. J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42., 495-506.
- De Silva, S. S., Gunasekera, R. M., Atapattu, D., 1989. The dietary protein requirements of young tilapia and an evaluation of the least cost dietary protein levels. *Aquaculture* 80, 271-284.
- De Silva, S. S., Gunasekera, R. M., 1989. Effect of dietary protein level and amount of plant ingredient (*Phaseolus aureus*) incorporated into the diets on consumption, growth performance and carcass composition in *Oreochromis niloticus* (L.) fry. *Aquaculture* 80, 121-133.
- Ehlering, J.R.; Hall, A. E.; Farquhar, G.D. 1993. Stable isotopes and plant carbon – water relations. Academic Press. New York, 555pp.
- El-Sayed , A. F. M., Teshima, S., 1991. Protein and energy requirements of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, fry. *Aquaculture* 103. 55-63.
- Gaston T. F., Suthers, I. M., 2004. Spatial variation in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of liver, muscle and bone in a rocky reef palanktivorous fish: the relative contribution of sewage. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 304, 17-33.
- Grant, J. W. A., Girard, I. L., Breau, C., Weir, L., 2002. Influence of food abundance on competitive aggression juvenile convict cichlids. *Animal Behavior* 63, 323-330.
- Hafedh, Y. S. A., 1999.Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 30, 385-393.
- Hobson, K. A., Clark, R. G., 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. *The Condor* 94, 181-188.
- Jones , R. J., Ludlow, M. M., Troughton, J. H., Blunt, C.G.,1979. Estimation of the proportion of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plant species in the diet of animals from the ration of natural  $^{12}\text{C}$  and  $^{13}\text{C}$  isotopes in the feces. *Cambridge Journal of Agricultural Science* 92, 91-100.

- 1 Kaiser, M. J., Hughnes, R. N., 1993. Factors affecting the behavioral mechanisms of  
2 diet selection in fishes. *Marine Behavioral Physiology* 23, 105-118.
- 3 Lourenço, A. J., Matsui, E.; Delistoianov, J., 1981. Avaliação de forragem selecionada  
4 por bovinos e pastagem consorciada com diferentes lotações utilizando-se dados de  
5  $\delta^{13}\text{C}$ . *Boletim da Indústria Animal* 38, 145-153.
- 6 Meyer-Burgdorff, K H., Osman, M. F., Günther, K. D., 1989. Energy, metabolism in  
7 *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 79, 283-291.
- 8 N.R.C. 1993. Nutrient Requirement of fish. National Research Council. National  
9 Academy press. Washington, D.C.,113pp.
- 10 Ogden L. J. E., Hobson, K. A., Lank D. B., 2004. Blood isotopic ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ )  
11 turnover and diet-tissue fractionation factors in captive dunlin (*Caladris alpine*  
12 *pacifica*). *The Auk* 121, 170-177.
- 13 Pereira da Silva, E., Orsoli D. N., Araújo, F. L., Cantelmo A. L., Merighe, G. K. F.,  
14 2004. Regulação da Ingestão protéica da tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de*  
15 *Zootecnia* 33, 1921-1927.
- 16 Pezzato, L. E., Miranda, E. C., Barros, M. M., Quintero-Pinto, L. G., Furuya, W. M.,  
17 Pezzato, A. C., 2002. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela tilápia do Nilo  
18 (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 31, 1595 – 1604.
- 19 Rubio, V. C., Sánchez-Vázquez, F. J., Madrid, J. A., 2003. Macronutrient selection  
20 through post-ingestive signals in sea bass fed on gelatin capsules. *Physiology and*  
21 *Behavior* 78, 795-803.
- 22 Sánchez-Vázquez, F. J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J.A., Tabata, M., 1998.  
23 Selection of macronutrients by goldfish operating self-feeders. *Physiology and*  
24 *Behavior* 65, 211-218.
- 25 Sánchez-Vázquez, F. J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J. A., Tabata, M., 1999.  
26 Macronutrient self-selection through demand feeders in rainbow trout. *Physiology*  
27 *and Behavior* 66, 45-51.
- 28 Schimdt-Nielsen, K. 2002. Alimento e energia In: *Fisiologia Animal: Adaptação e Meio*  
29 *Ambiente*. Editora Santos. Rio de Janeiro. P. 129-164.
- 30 Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., 2002. Influence of feeding diets with  
31 and without fish meal by hand and by self-feeders on feed intake, growth and  
32 nutrient utilization of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*  
33 214, 289-305.



- 1 Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., 2003. Effect of water temperature
- 2 and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus*
- 3 *carpio*). *Aquaculture* 220,655-666.

### **CAPÍTULO III**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18

Regulação do consumo de proteína e energia da dieta pela tilápia do

Nilo

## 1 **Regulação do consumo de proteína e energia da dieta pela tilápia do Nilo**

2

3 **Resumo:** Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade da tilápia do Nilo de  
4 balancear sua dieta, quando fornecidas duas misturas de ingredientes. Foram utilizados  
5 135 juvenis de tilápia do Nilo (peso médio 5,0 g  $\pm$ 0,5g), distribuídos em três tanques.  
6 Os animais tiveram, simultaneamente, à sua disposição duas misturas de ingredientes:  
7 mistura de alta proteína (MAP) e mistura de baixa proteína (MBP), podendo escolher  
8 entre estas, em quatro horários diários de alimentação, durante 86 dias. As estimativas  
9 de consumo foram realizadas com base no consumo de matéria seca, a partir do  
10 recolhimento, secagem e pesagem das sobras. Para determinação do consumo relativo  
11 de proteína digestível utilizou-se a proporção de MAP e MBP consumida pelos peixes.  
12 Os peixes regularam sua ingestão em 31,0 % de proteína digestível e 3070 kCal energia  
13 digestível/kg.) e a estabilização dos valores do autobalanceamento de proteína ocorreu  
14 apenas a partir do 31º dia de experimentação. Não se observou diferença no  
15 balanceamento de ED ou PD nos diferentes horários de alimentação. A tilápia do Nilo é  
16 capaz de regular o consumo de alimento não somente pela ingestão de energia,  
17 indicando que a proteína da dieta desempenha papel importante nesta regulação. Para  
18 esta espécie ser capaz de regular o consumo diário de proteína e energia é necessário  
19 período de adaptação às fontes alimentares fornecidas.

20

21 **Palavras chave:** livre escolha, tilápia do Nilo, ingestão de proteína, ingestão de energia.

22

23

## Dietary protein and energy intake regulation by Nile tilapia

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19

**Abstract:** The aim of this paper was to evaluate the ability of Nile tilapia to balance its diet, when two mixes were offered. In this trial 135 Nile tilapia (average weight 5.0 g  $\pm$ 0.5g) were allocated in three tanks. The fish had access to a high protein mix (MAP) and a low protein mix (MBP) simultaneously four times a day through 86 days. The consumption estimative was determined based on the intake of dry matter obtained from the drying and weight of the mixes surplus. The fish regulate its consumption around 31% of digestible protein and 3070 kcal/kg of digestible energy, reaching a plateau at the 31<sup>st</sup> day. There were no differences on consumption among the feeding times. Nile tilapia is able to regulate its intake not only based on consumption of energy indicating that the dietary protein had an important role on the intake regulation.

**Key words:** food free choice, Nile tilapia, protein intake, energy intake.

## 1 **1. Introdução**

2

3 A maioria dos animais obtém os nutrientes necessários ao seu metabolismo em  
4 diversas fontes de alimento (Schmidt-Nielsen, 2002). Além disso, a disponibilidade de  
5 itens alimentares no ambiente nem sempre coincide com as necessidades fisiológicas  
6 dos animais nas diferentes fases de desenvolvimento. Por isto, a composição de sua  
7 dieta raramente corresponde apenas a uma amostra proporcional à disponibilidade dos  
8 alimentos que os cercam (Kaiser & Hughes, 1993). Portanto, animais podem  
9 apresentar preferências quando oferecidas diferentes opções de alimento.

10 Experimentos de auto-seleção de alimentos (autobalanceamento) com animais  
11 terrestres foram conduzidos em laboratório, de maneira que estes podiam selecionar  
12 livremente as fontes alimentares de proteína, gordura e carboidratos e suas escolhas  
13 levaram a uma dieta com excelente resposta no desempenho (Laure-Achagiotis et al.,  
14 1992).

15 Estudos de seleção de macronutrientes realizados com algumas espécies de  
16 peixes ‘goldfish’ *Carassius auratus* (Sánchez-Vázquez et al., 1998), truta-arco-íris  
17 *Oncorhynchus mykiss* (Sánchez-Vázquez et al., 1999) e ‘sea bass’ *Dicentrarchus labrax*  
18 (Rubio et al., 2003; Aranda et al., 2003) indicaram alta capacidade destes animais em  
19 balancear sua dieta quando foram fornecidos diferentes alimentos. A escolha dos itens  
20 alimentares pode depender de outros fatores que não somente características  
21 organolépticas, mas também a cor do alimento (Rubio et al., 2003) e variar segundo as  
22 condições ambientais (Yamamoto et al., 2003). Os estudos de escolha voluntária não  
23 são conduzidos apenas com macronutrientes, de maneira isolada, disponibilizando  
24 carboidratos, proteínas e lipídeos, mas também com misturas de composições  
25 diferenciadas, de maneira que os peixes possam balancear sua dieta escolhendo os  
26 alimentos disponíveis (Yamamoto et al., 2002).

27 A observação visual e quantificação de sobras, como ferramenta para estudos de  
28 consumo foi utilizada em diversas pesquisas com espécies de peixe. Pereira da Silva et  
29 al. (2004) estudaram a capacidade da tilápia do Nilo de balancear sua dieta, utilizando  
30 comedouros de demanda, e estimaram o consumo desta espécie pela quantificação de  
31 sobras nos comedouros. A observação visual do consumo também foi utilizada em  
32 estudos de preferência alimentar de atraco-palatabilidade (Pereira da Silva & Pezzato,  
33 1999) e comportamento alimentar (Pereira da Silva & Pezzato, 2000).

1 O estudo do comportamento alimentar, avaliando a capacidade da tilápia do Nilo  
2 em balancear sua própria dieta, por meio da livre escolha, pode trazer informações  
3 adicionais quanto às exigências nutricionais desta espécie, assim como, a correlação  
4 entre as fontes protéicas e energéticas provenientes da sua alimentação. Com intuito de  
5 alcançar estas informações este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade da  
6 tilápia do Nilo de balancear sua dieta, quando fornecidas duas misturas de ingredientes.

## 7 8 **2. Material e Métodos**

9 Neste ensaio foram utilizados 135 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
10 *niloticus*) com peso médio inicial de 5,0 g  $\pm$  0,5g distribuídos em três tanques de fibra  
11 de 1000L (45 indivíduos por tanque), com sistema de aeração, em sistema fechado de  
12 recirculação de água com tratamento por meio de filtro físico-biológico. A temperatura  
13 da água foi mantida constante (26,0  $\pm$  0,5 °C) por meio de aquecedores e termostato.

14 Os peixes de todos os grupos foram submetidos a um período de adaptação às  
15 condições experimentais (25 dias). Ao início do experimento os animais tiveram,  
16 simultaneamente, à sua disposição duas misturas de ingredientes: mistura de alta  
17 proteína (MAP) e mistura de baixa proteína (MBP), podendo escolher entre estas,  
18 durante o período de 86 dias.

19 O alimento era fornecido com auxílio de comedouros circulares confeccionados  
20 com tela de PVC sob armação de tubos plásticos. No processo de alimentação, dois  
21 comedouros por tanque eram submersos e as misturas colocadas sobre estes com  
22 auxílio de um tubo de PVC, com quantidade conhecida de alimento fornecido por  
23 comedouro. As misturas, MAP e MBP, eram dispostas de maneira alternada nos  
24 comedouros, entre os horários de alimentação (8h30min; 11h30min; 14h30min;  
25 17h30min), para diminuir os efeitos de territorialismo na escolha entre os alimentos.

26 As sobras de alimento nos comedouros eram recolhidas, separadas, secas (em  
27 estufa por 24 horas até obtenção de peso constante) e pesadas. O consumo das misturas  
28 foi estimado a partir da diferença entre a matéria seca da quantidade fornecida e a  
29 matéria seca das sobras. Para determinação do consumo relativo de proteína digestível  
30 utilizou-se a proporção de MAP e MBP consumida pelos peixes. A composição e a  
31 formulação destas misturas estão apresentadas na Tabela 1.

32

33

### 1 3. Resultados

#### 2 3.1. Regulação da ingestão de proteína e energia

3 Os peixes regularam sua ingestão em 31% de proteína digestível (Figura 1) e  
 4 3070 kcal ED/kg (Figura 2). A estabilização dos valores de consumo relativo de  
 5 proteína ocorreu apenas a partir do 36° dia de experimentação (patamar do  
 6 balanceamento da proteína), ou seja, a observação do consumo por este método  
 7 apresentou resultados passíveis de conclusão somente com os valores obtidos a partir  
 8 deste dia. A fase inicial (1° ao 35° dia) representa uma fase de adaptação dos animais  
 9 ao processo de livre escolha entre as misturas. Este fato não nos permitiu afirmar que o  
 10 balanceamento de ingestão de proteína foi crescente ou decrescente, ao longo do  
 11 período. Entretanto, a ingestão de energia foi constante ao longo de todo o tempo de  
 12 realização do experimento (Figura 2).

13 O modelo da curva utilizada para as estimativas do autobalanceamento de PD  
 14 (Figura 1) no tempo e foi:

$$15 \quad y = y_0 + Ae^{-kt} \quad (1)$$

16 Nesta expressão a simbologia empregada significa:

17  $y$  = balanceamento de proteína digestível (%);

18  $y_0$  = balanceamento de proteína digestível (%) no patamar de estabilização;

19  $A$  = amplitude dos valores de proteína digestível;

20  $k$  = constante, equivale  $t$  (tempo)<sup>-1</sup>;

21  $t$  = tempo (em dias).

22 De acordo com o modelo descrito, os valores de proteína digestível correspondem a  
 23 seguinte expressão:  $y = 31,41 - 4,40e^{-0,0667t}$

24 O modelo da reta (Figura 2) utilizada para as estimativas do balanceamento de ED  
 25 no tempo e foi:

$$26 \quad y = y_0 + bt \quad (2)$$

27 Nesta expressão a simbologia empregada significa:

28  $y$  = balanceamento de energia digestível (kcal/kg);

29  $y_0$  = balanceamento de energia no tempo 0 (zero) em kcal/kg;

30  $b$  = inclinação da reta;

31  $t$  = tempo.

32 De acordo com o modelo descrito, os valores de energia digestível  
 33 correspondem a seguinte expressão:  $y = 3081 - 0,3 t$ .

34

### 1 **3.2. Preferência alimentar ao longo do dia**

2 A média do balanceamento de PD e ED nos diferentes horários de alimentação  
3 (8:30h, 11:30h, 14:30h, 17:30h) entre o 31° e 86° dia de experimentação estão  
4 apresentados na Tabela 2. Não se observou diferença no balanceamento de ED ou PD  
5 nos diferentes horários de alimentação, levando a crer que a tilápia do Nilo não  
6 apresenta preferência em consumir mais energia ou proteína em função de seu ciclo  
7 circadiano.

8

## 9 **4. Discussão**

10

### 11 **4.1. Regulação da ingestão de proteína na fase inicial do experimento**

12 Surpreendentemente, o comportamento da curva de ingestão de proteína (Figura  
13 1) apresenta comportamento exponencial positivo. Contudo, isto não significa  
14 necessariamente que a tilápia do Nilo aumenta sua ingestão de proteína em relação ao  
15 tempo, o que seria extremamente improvável, pois os animais necessitam de mais  
16 proteína na sua fase inicial devido ao crescimento e síntese intensa de novos tecidos (El-  
17 Sayed & Teshima, 1991).

18 Nos primeiros dias de experimentação, a ingestão de proteína e energia oscilou  
19 consideravelmente. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos realizados  
20 com outras espécies, em que os animais apresentaram maiores dificuldades em  
21 balancear sua ingestão de proteína e energia no início do período experimental (Aranda  
22 et al., 2003; Sánchez-Vázquez et al., 1999).

23 Como provável razão para isto pode-se apontar a dificuldade dos animais em  
24 reconhecer as misturas ao iniciar o processo de relacionar as características  
25 organolépticas destas com seus efeitos pós-prandiais. Baseando-se nas conclusões  
26 obtidas por Rubio et al. (2003), isto pode significar que provavelmente no início do  
27 período experimental os animais ainda estão em processo de reconhecimento do  
28 alimento fornecido, e concomitantemente, ainda estão associando as características de  
29 cor, sabor etc. das misturas aos seus efeitos após sua digestão.

30 A reorganização das relações de dominância e submissão, característica desta  
31 espécie de peixe, pode ter sido fator importante para o comportamento alimentar inicial.  
32 A competição por determinada mistura, gerando disputas entre os indivíduos e  
33 territorialidade no ambiente, pode ter sido somente reorganizada somente após este  
34 período inicial.



## 1 **4.2. Regulação da ingestão de proteína e energia**

2 Após o período inicial, os peixes foram capazes de realizar a regulação eficiente  
3 da sua ingestão de proteína. No período entre o 36° e 86° foram observados em alguns  
4 dias desvios maiores se comparados a outros dias do mesmo período. Provavelmente os  
5 resultados destes dias estejam relacionados movimentos bruscos na água realizados  
6 pelos animais no momento da alimentação, entretanto este tipo de desvio nesta fase foi  
7 considerado exceção, pois ao longo de todo o período a regulação da ingestão de  
8 proteína digestível em 31,0 % foi estável.

9 Este resultado confronta os obtidos por Pereira da Silva et al. (2004) que  
10 encontram ingestão de proteína digestível em torno de 24%, num experimento para a  
11 mesma espécie utilizando comedouros de demanda. Contudo, os valores de consumo  
12 obtidos no presente estudo são semelhantes aos obtidos em trabalhos de exigência para  
13 tilápia do Nilo, que afirmaram que esta espécie necessita em torno de 28% P.D.  
14 (N.R.C., 1993; De Silva et al., 1989).

15 A modesta inclinação na reta do autobalanceamento de energia indica que não  
16 houve grande variação em sua ingestão ao longo do tempo, ou seja os animais  
17 consumiram energia de maneira relativamente constante durante o período  
18 experimental. Diferentemente ao apresentado por outros autores (N.R.C. 1993; Meyer-  
19 Burgdorff et al., 1989) não foi possível observar por meio deste método, aumento na  
20 ingestão de energia em relação ao tempo, conseqüentemente em relação a idade dos  
21 animais. Contudo, foi possível segundo os resultados que a ingestão de energia foi  
22 regulada mesmo em condições de excesso de alimento.

23 De acordo com modelo utilizado para estimar o balanceamento, proveniente da  
24 reta composta pelos valores de ED consumida pelos animais ao longo dos dias, a  
25 redução no consumo de ED foi pouco expressiva (Figura 2). A expressão obtida indica  
26 redução gradual do consumo de energia em apenas 0,3 kcal ED/kg/dia, o que em termos  
27 de consumo de energia pode ser ignorado.

28 A avaliação da regulação do consumo por observação e por quantificação de  
29 sobras, assim como a utilização de comedouros de demanda utilizados por Rubio et al.  
30 (2003), Aranda et al. (2003), Yamamoto et al. (2003) e Sánchez-Vázquez et al. (1999),  
31 avaliaram somente as médias de consumo de um grupo de peixes, não sendo possível  
32 obter dados relacionados a regulação individual de consumo e escolha de misturas ou  
33 alimentos. As diferenças no comportamento alimentar dos indivíduos de um mesmo  
34 grupo podem ser importantes, principalmente se a espécie estudada pertence ao grupo

1 dos ciclídeos, nos quais características de hierarquia entre os indivíduos têm papel  
2 importante na divisão de recursos disponíveis no ambiente, principalmente no que diz  
3 respeito a alimentos (Grant et al., 2002).

4

5

## 6 **5. Conclusão**

7 A tilápia do Nilo é capaz de autobalancear a ingestão de alimento não somente  
8 pela ingestão de energia, indicando que a proteína da dieta desempenha papel  
9 importante nesta regulação;

10 Para esta espécie ser capaz de regular o consumo diário de proteína e energia é  
11 necessário um período de adaptação às fontes alimentares fornecidas.

12

1 **Tabela 1.** Ingredientes e composição percentual das misturas de alta e baixa proteína  
 2 utilizadas como alimento para tilápia do Nilo para obtenção de valores do  
 3 balanceamento auto-regulado da ingestão de proteína e energia

Ingredientes (%)	Misturas	
	MPB <sup>2</sup>	MAP <sup>1</sup>
Farinha de peixe	8,22	51,76
Farelo de soja	-	36,00
Farelo de algodão	-	8,70
Fubá de milho	65,17	-
Amido de milho	3,96	-
Alginato	1,00	1,00
Celulose	4,25	1,42
Óleo de milho	11,00	-
Fosfato bicálcico	4,58	-
Calcário	1,01	-
DL-metionina		0,31
Vitamina C	0,09	0,09
Sal	0,20	0,20
Suplemento vitamínico e mineral <sup>3</sup>	0,50	0,50
BHT <sup>4</sup>	0,02	0,02
Total	100,00	100,00
Valores Nutricionais		
Proteína Bruta (%)	12,19	52,69
Proteína Digestível <sup>5</sup> (%)	11,25	46,71
Energia Bruta (kcal/kg)	4400	4217
Energia Digestível <sup>5</sup> (kcal/kg)	3331	2851
Extrato Etéreo (%)	12,57	7,66

4 <sup>1</sup> MAP = mistura alta proteína;

5 <sup>2</sup> MBP = mistura baixa proteína;

6 <sup>3</sup> Suplemento vitamínico e mineral – *Supre Mais*: níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas:  
 7 A=1.200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg;  
 8 B12=4.800 mg; ácido fólico=1.200 mg; pantotenato Ca=12.000 mg; C=48.000 mg; biotina=48 mg;  
 9 colina=65.000 mg; =24.000 mg; minerais: Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=0 mg; I=20 mg;  
 10 Co=2 mg e Se=20 mg;

11 <sup>4</sup> BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante;

12 <sup>5</sup> Valores estimados de acordo com Pezzato et al. (2002).

13

1 **Tabela 2.** Autobalanceamento de proteína digestível (PD) e energia digestível (ED)  
2 realizado pela tilápia do Nilo em diferentes horários de alimentação, nos últimos 49 dias  
3 de um total de 86 dias de experimentação, no qual os indivíduos possuíam acesso a duas  
4 misturas com quantidades diferentes de ED e PD  
5

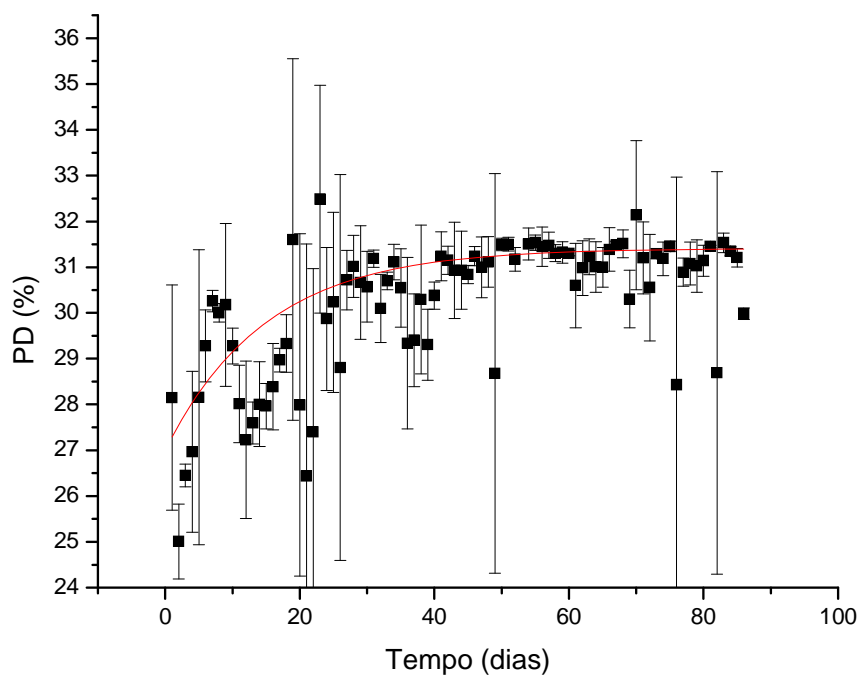
	Horário de alimentação			
	8 h 30 min	11 h 30 min	14 h 30 min	17 h 30 min
PD (%)	31,29 ± 0,13	30,89 ± 0,19	30,97 ± 0,25	31,21 ± 0,14
ED (kcal/kg)	3059 ± 1,83	3065 ± 2,51	3063 ± 3,38	3061 ± 2,62

6

7

8

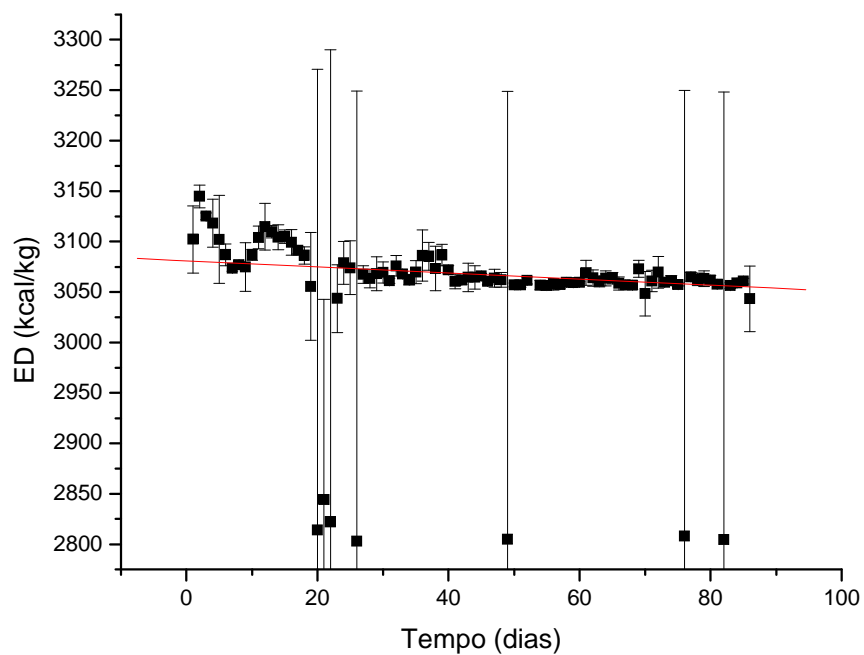
1



2

3 **Figura 1.** Balanceamento de proteína digestível (PD) realizado pela tilápia do Nilo,  
4 estimado pela observação e pesagem de sobras de alimento em função do tempo em  
5 experimento no qual os indivíduos possuíam acesso a duas misturas com quantidades  
6 diferentes de ED e PD.

7



1

2 **Figura 2.** Balançamento de energia digestível (ED) realizado pela tilápia do Nilo,  
3 estimado pela observação e pesagem de sobras de alimento em função do tempo em  
4 experimento no qual os indivíduos possuíam acesso a duas misturas com quantidades  
5 diferentes de ED e PD.

6

## 1 6. Referências Bibliográficas

2

3 Aranda, A., Sanchez – Vázquez, F. A., Madris, J. A., 2003. Effect of short-term fasting  
4 on macronutrient self-selection in sea bass. *Physiology and Behavior* 73, 105-109.

5 De Silva, S. S., Gunasekera, R. M., Atapattu, D., 1989. The dietary protein requirements  
6 of young tilapia and an evaluation of the least cost dietary protein levels.  
7 *Aquaculture* 80, 271-284.

8 El-Sayed , A. F. M., Teshima, S., 1991. Protein and energy requirements of Nile tilapia  
9 *Oreochromis niloticus*, fry. *Aquaculture* 103. 55-63.

10 Grant, J. W. A., Girard, I. L., Breau, C., Weir, L., 2002. Influence of food abundance on  
11 competitive aggression juvenile convict cichlids. *Animal Behavior* 63, 323-330.

12 Kaiser, M. J., Hughnes, R. N., 1993. Factors affecting the behavioral mechanisms of  
13 diet selection in fishes. *Marine Behavioral Physiology* 23, 105-118.

14 Laure-Achagiotis, C.; Martin, C.; Verger, P.; Louis-Sylvestre, J. 1992. Dietary self-  
15 selection vs. complete diet : body weight gain and meal pattern in rats. *Physiology*  
16 *and Behavior* 51, 995-999.

17 Meyer-Burgdorff, K H., Osman, M. F., Günther, K. D., 1989. Energy, metabolism in  
18 *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 79, 283-291.

19 N.R.C. 1993. Nutrient Requirement of fish. National Research Council. National  
20 Academy press. Washington, D.C.,113pp.

21 Pereira da Silva, E. M.; Pezzato, L.E. 1999. Comportamento alimentar da tilápia do  
22 Nilo (*Oreochromis niloticus*) frente a diferentes ingredientes alimentares. *Acta*  
23 *scientiarum* 21, 297-301.

24 Pereira da Silva, E. M.; Pezzato, L.E. 2000. Respostas da tilápia do Nilo (*Oreochromis*  
25 *niloticus*) à atratividade e palatabilidade de ingredientes na alimentação de peixes.  
26 *Revista Brasileira de Zootecnia* 29, 1273-1280.

27 Pereira da Silva, E., Orsoli D. N., Araújo, F. L., Cantelmo A. L., Merighe, G. K. F.,  
28 2004. Regulação da ingestão protéica da tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de*  
29 *Zootecnia* 33, 1921-1927.

30 Pezzato, L. E., Miranda, E. C., Barros, M. M., Quintero-Pinto, L. G., Furuya, W. M.,  
31 Pezzato, A. C., 2002. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela tilapia do Nilo  
32 (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 31, 1595 – 1604.

- 1 Rubio, V.C.; Vivas. M.; Sánchez-Mut, A.; Sánchez-Vázquez, F. J.; Covès, D.; Dutto,  
2 G.; Madrid, J. A. 2003. Self-feeding of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)  
3 under laboratory conditions using a string sensor. *Aquaculture* 233, 393-403.
- 4 Sánchez-Vázquez, F. J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J. A., Tabata, M., 1998.  
5 Selection of macronutrients by goldfish operating self-feeders. *Physiology and*  
6 *Behavior* 65, 211-218.
- 7 Sánchez-Vázquez, F. J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J. A., Tabata, M., 1999.  
8 Macronutrient self-selection through demand feeders in rainbow trout. *Physiology*  
9 *and Behavior* 66, 45-51.
- 10 Schimdt-Nielsen, K. 2002. Alimento e energia In: *Fisiologia Animal: Adaptação e Meio*  
11 *Ambiente*. Editora Santos. Rio de Janeiro. p. 129-164.
- 12 Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., 2003. Effect of water temperature  
13 and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus*  
14 *carpio*). *Aquaculture* 220,655-666.
- 15 Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., 2002. Influence of feeding diets with  
16 and without fish meal by hand and by self-feeders on feed intake, growth and  
17 nutrient utilization of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*  
18 214, 289-305.



## **CAPÍTULO IV**

### **Considerações Finais**

## 1 **Considerações Finais**

2

3           Pode-se obter informações para a elaboração de um alimento adequado para as  
4 espécies de interesse comercial de diversas maneiras. Grande parte dos trabalhos,  
5 realizados com esse intuito, buscam informações sobre exigências nutricionais com base  
6 principalmente em resultados de desempenho produtivo. Contudo, nem sempre as  
7 rações que refletem melhor ganho de peso apresentam-se como a melhor alternativa  
8 para obtenção de maior eficiência na criação de animais;

9

10           Sob este mesmo prisma, encontra-se a nutrição de peixes, e em especial a tilápia,  
11 a qual atualmente uma espécie altamente difundida na atividade aquícola em regiões  
12 tropicais e subtropicais no planeta. Os ensaios experimentais que originaram os  
13 trabalhos que compõem esta tese tiveram como intuito obter resultados que  
14 corroborassem ou não com os ensaios de exigência nutricional apresentado pela  
15 literatura, com base na formulação da dieta realizada pelos próprios peixes. A grande  
16 maioria dos animais necessita escolher alimentos em ambiente natural para sobreviver e  
17 a partir deste princípio, achamos que seria importante buscar informações sobre esta  
18 capacidade com a tilápia do Nilo;

19

20           A utilização dos isótopos estáveis de carbono nos possibilitou obter dados de  
21 incorporação da matéria, contornando os principais problemas de estimativas de  
22 autobalanceamento alimentar. Estas estimativas para peixes são complicadas, pois as  
23 observações necessitam ser realizadas em ambiente aquático. No trabalho onde as  
24 estimativas de consumo foram obtidas por retirada de sobras, os resultados não  
25 apresentaram divergências dos obtidos por meio dos isótopos de carbono, contudo,  
26 existiu a possibilidade de sobreestimar ou subestimar as sobras de alimento;

27

28           Acredita-se que o sistema de alimentação utilizado teve importância  
29 fundamental nos resultados obtidos. Grande parte das pesquisas descritas na literatura  
30 no que diz respeito à regulação da ingestão de nutrientes por peixes, com base na livre  
31 escolha, são baseadas em observações feitas em sistemas de alimentação por demanda.  
32 Isto significaria para a tilápia, que possui fortes relações de dominância e submissão  
33 para com seus conspecíficos, que os indivíduos dominantes seriam os únicos a fazerem

1 escolhas entre as misturas disponíveis para os outros indivíduos do grupo. No sistema  
2 utilizado aqui, todos os animais possuíam acesso às misturas;

3

4         Contudo, isto não significa que o comportamento da tilápia teve efeitos menos  
5 significativos nos experimentos realizados neste trabalho. Porém, foi possível apreciar  
6 que os indivíduos componentes de um grupo apresentam diferenças em suas  
7 preferências alimentares, e estas diferenças somente podem ser observadas no trabalho  
8 em que a técnica dos isótopos estáveis de carbono foi utilizada como ferramenta de  
9 avaliação. A média do autobalanceamento de proteína e energia, não apresenta grandes  
10 diferenças da exigência nutricional da espécie apresentada pela literatura. Entretanto, os  
11 valores individuais de consumo apresentaram variação considerável, o que leva a  
12 imaginar que os animais não fazem sua escolha de alimentos de maneira uniforme,  
13 principalmente dentro de um grupo confinado;

14

15         Relacionar estas diferenças com o peso dos animais foi o passo subsequente.  
16 Mas não encontrar nenhuma relação entre o peso dos animais com sua ingestão de  
17 proteína e energia, trouxe mais dúvidas que esclarecimentos. Provavelmente há mais  
18 variáveis envolvidas para ajuste da relação energia-proteína destes animais, que  
19 puramente a mudança da necessidade de ingestão de nutrientes na fase de crescimento;

20

21         A expectativa em relação aos trabalhos apresentados é que estes possam ter  
22 trazido informações para serem utilizadas no planejamento de ensaios que busquem  
23 resultados de exigência nutricional desta espécie.

## **ANEXO**

**Obtenção dos valores estimados de balanceamento de proteína e energia, pela tilápia do Nilo, por meio do enriquecimento relativo de carbono  $\delta^{13}\text{C}$**

Este anexo tem como objetivo exemplificar a obtenção de valores estimados de balanceamento de proteína e energia, realizado pela tilápia do Nilo, por meio dos valores de enriquecimento relativo de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) dos tecidos dos animais submetidos a um sistema alimentar de livre escolha, relacionado ao Capítulo II desta tese. Neste anexo, foram utilizados os valores do enriquecimento isotópico relativo do fígado para exemplificar os cálculos da estimativa do consumo relativo de proteína e energia (Capítulo II; Tabela 3).

Com intuito de obter os valores estimados da contribuição da mistura de alta proteína (MAP), utilizou-se a equação de diluição isotópica simples ( 1 ):

$$\text{Proporção MAP (\%)} = [(\delta_{\text{fonte MBP}} - \delta_{\text{amostra}}) / (\delta_{\text{fonte MBP}} - \delta_{\text{fonte MAP}})] \times 100 \quad ( 1 )$$

Ao utilizar os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  dos animais alimentados exclusivamente com a mistura MAP, ou MBP ( Capítulo II; Tabela 2), correspondentes às variáveis  $\delta_{\text{fonte MBP}}$  e  $\delta_{\text{fonte MAP}}$ , para o fígado foi obtida a expressão:

$$\text{Proporção MAP (\%)} = \{(-12,86 - \delta_{\text{amostra}}) / [-12,86 - (- 21,34)]\} \times 100$$

$$\text{Proporção MAP (\%)} = [(-12,86 - \delta_{\text{amostra}}) / (8,48)] \times 100$$

No caso, o valor de  $\delta_{\text{amostra}}$  foi com a média das amostras obtidas no 86° dia de experimentação, igual a - 15, 76‰, obteve-se:

$$\text{Proporção MAP (\%)} = \{[-12,86 - (- 15,76)] / (8,48)\} \times 100$$

$$\text{Proporção MAP (\%)} = [(2,90) / (8,48)] \times 100$$

$$\text{Proporção MAP (\%)} = 0,3423 \times 100 = 34,20$$

Para obter o valor estimado de MBP, foi utilizada a expressão ( 2 ):

$$\text{Proporção MBP (\%)} = [(\delta_{\text{fonte MAP}} - \delta_{\text{amostra}}) / (\delta_{\text{fonte MAP}} - \delta_{\text{fonte MBP}})] \times 100 \quad ( 2 )$$

Ao utilizar os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  dos animais alimentados exclusivamente com a mistura MAP, ou MBP (Capítulo II; Tabela 2), correspondentes às variáveis  $\delta_{\text{fonte MBP}}$  e  $\delta_{\text{fonte MAP}}$ , para o fígado foi obtida a expressão:

$$\text{Proporção MBP (\%)} = \{(-21,34 - \delta_{\text{amostra}}) / [-21,34 - (-12,86)]\} \times 100$$

$$\text{Proporção MBP (\%)} = [(-21,34 - \delta_{\text{amostra}}) / (-8,48)] \times 100$$

No caso, o valor de  $\delta_{\text{amostra}}$  foi com a média das amostras obtidas no 86° dia de experimentação, igual a - 15, 76‰, obteve-se:

$$\text{Proporção MBP (\%)} = \{[(-21,34 - (-15,76)) / (-8,48)]\} \times 100$$

$$\text{Proporção MBP (\%)} = \{[(-21,34 - (-15,76)) / (-8,48)]\} \times 100$$

$$\text{Proporção MBP (\%)} = [(-5,58) / (-8,48)] \times 100$$

$$\text{Proporção MBP (\%)} = 0,6580 \times 100 = 65,80$$

Com os valores obtidos das estimativas de balanceamento das misturas, partiu-se para o cálculo das estimativas de balanceamento de proteína digestível utilizando os valores correspondentes à proporção de proteína digestível das misturas: % PD MAP e % PD MBP (Capítulo II; Tabela 1), de acordo com a expressão ( 3 ):

$$\text{PD (\%)} = [(\text{Proporção de MAP} \times \% \text{ PD MAP}) + (\text{Proporção MBP} \times \% \text{ PD MBP})] \quad ( 3 )$$

Neste caso, os valores de **Proporção de MAP** e **Proporção MBP** obtiveram-se:

$$\text{PD (\%)} = [(34,20\% \times 46,71\%) + (65,80\% \times 11,25\%)]$$

$$\text{PD (\%)} = [(15,97\%) + (7,40\%)]$$

$$\text{PD (\%)} = 23,39 \cong 23,4\%$$

Com os valores obtidos das estimativas de balanceamento das misturas, partiu-se para o cálculo das estimativas de balanceamento de energia digestível utilizando os valores correspondentes à quantidade de energia digestível das misturas: **ED MAP** e **ED MBP** (Capítulo II; Tabela 1), de acordo com a expressão 4:

$$\text{ED (kcal/kg)} = [\text{Proporção de MAP(\%)} \times \text{ED MAP}] + [\text{Proporção MBP (\%)} \times \text{ED MBP}] \quad (4)$$

$$\text{ED (kcal/kg)} = [(34,20\% \times 2851 \text{ kcal/kg}) + (65,80\% \times 3331 \text{ kcal/kg})]$$

$$\text{ED (kcal/kg)} = [(975 \text{ kcal/kg}) + (2192 \text{ kcal/kg})] = 3167 \text{ kcal/kg}$$

Desta mesma forma foram calculadas todas as estimativas de balanceamento de PD e ED, com base no  $\delta^{13}\text{C}$  dos tecidos dos animais submetidos ao sistema de livre-escolha alimentar ( $\delta_{\text{amostra}}$ ), e utilizando os valores obtidos dos animais alimentados exclusivamente com MAP ( $\delta_{\text{fonte MAP}}$ ) e MBP ( $\delta_{\text{fonte MBP}}$ ).