

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DO TRIPTOFANO DIETÉTICO
SOBRE A PREFERÊNCIA NA ESCOLHA DO MACHO
PELA FÊMEA, AUTO-BALANCEAMENTO DA DIETA E
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM TILÁPIA-DO- NILO E
PIRAPITINGA**

Ana María Carolina Quintero Pardo

Jaboticabal, SP

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DO TRIPTOFANO DIETÉTICO
SOBRE A PREFERÊNCIA NA ESCOLHA DO MACHO
PELA FÊMEA, AUTO-BALANCEAMENTO DA DIETA E
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM TILÁPIA-DO- NILO E
PIRAPITINGA**

Ana María Carolina Quintero Pardo

Orientadora: Dra. Percília Cardoso Giaquinto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre

Jaboticabal, SP
2014

viii Quintero-Pardo, Ana María Carolina.
Influência da ingestão do Triptofano dietético sobre preferência na
escolha do macho pela fêmea, auto-balanceamento da dieta e
desempenho zootécnico em Tilápia-do-Nilo e Pirapitinga / Ana María
Carolina Quintero Pardo. – – Jaboticabal, 2014
61 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
de Aquicultura, 2014

Orientadora: Percília Cardoso Giaquinto

Banca examinadora: Carla Wolkers, Eliane Gonçalves de Freitas
Bibliografia

1. Peixes. 2. Tilápia. 3. Pirapitinga. 4. Triptofano. 5. Serotonina. 6.
Desempenho produtivo. 7. Auto-balanceamento de ração. 8.
Comunicação química. I. Influência da ingestão do Triptofano dietético
sobre preferência na escolha do macho pela fêmea, auto-
balanceamento da dieta e desempenho zootécnico em Tilápia-do-Nilo
e Pirapitinga. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura

CDU



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

REITORIA

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

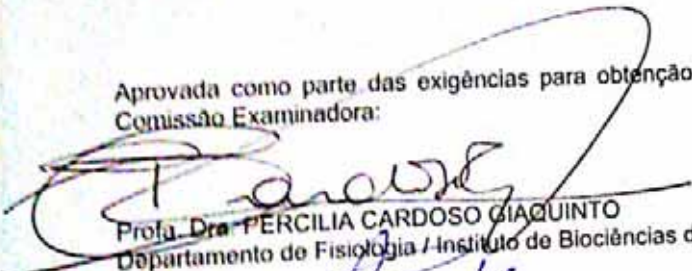
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

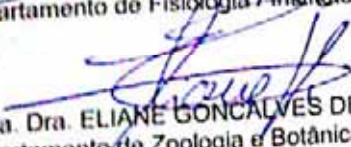
TÍTULO: INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DO TRIPTOFANO DIETÉTICO SOBRE A PREFERÊNCIA DA ESCOLHA DO MACHO PELA FÊMEA, AUTO-BALANCEAMENTO DA DIETA E DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM TILÁPIA-DO-NILO E PIRAPITINGA

AUTORA: ANA MARIA CAROLINA QUINTERO PARDO

ORIENTADORA: Profa. Dra. PERCILIA CARDOSO GIAQUINTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Aquicultura, pela
Comissão Examinadora:


Profa. Dra. PERCILIA CARDOSO GIAQUINTO
Departamento de Fisiologia / Instituto de Biociências de Botucatu


Profa. Dra. ELIANE GONÇALVES DE FREITAS
Departamento de Zoologia e Botânica / Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São
José do Rio Preto


Profa. Dra. CARLA PATRÍCIA BEJO WOLKERS
Departamento de Fisiologia / Universidade de São Paulo/Ribeirão Preto

Data da realização: 31 de julho de 2014.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, especialmente a minha mãe Blanca Stella, meu pai Luis Gabriel, meu namorado Anderson, minha avó Estrella e meu irmão Camilo Andrés, pois eles tem sido o meu motivo coragem frente às grandes dificuldades e me acompanharam no processo da realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me norteado no caminho, e por me dar forças nos momentos difíceis, para que eu pudesse desenvolver e concluir este trabalho.

Aos meus pais Blanca Stella e Luis Gabriel pela sua amizade e apoio incondicional prestado ao longo de minha formação de mestre acadêmica, econômica e pessoalmente.

À minha avó Estrella por sempre me ajudar e apoiar em tudo, e porque sempre com suas orações tem contribuído para que minha formação como mestre desse certo.

Ao meu irmão Camilo Andrés pelo seu carinho, amizade e coragem que contribuíram para que este grande passo desse certo.

Ao meu namorado Anderson pela sua companhia, disposição, força e amor incondicional todos os dias dessa fase tão importante na minha vida.

À minha orientadora, Profa. Dra. Percília Cardoso Giaquinto pela oportunidade e confiança depositada em mim, pelas orientações e ensinamentos na realização deste trabalho.

À fábrica de rações Nutreco – Fri-Ribe e ao meu amigo Flávio Gonçalves, Gerente de Qualidade da mesma na sede de Pitangueiras – SP pelo fornecimento de alguns ingredientes e aditivos para a fabricação das rações usadas no presente trabalho.

À fábrica de rações Alimentos Concentrados Raza em Facatativá – Cundinamarca – Colombia pelo fornecimento de alguns ingredientes usados na fabricação das rações.

Ao Laboratorio de Ictiologia e Peces Ornamentales – Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá – Colombia pelo fornecimento dos ingredientes faltantes para fabricação das rações, assim como pelo empréstimo da Fábrica de Rações e ajuda com mão-de-obra qualificada para elaboração das rações.

À empresa La Primavera em Acacías – Meta – Colombia pelo fornecimento dos reprodutores de Tilápia-do-Nilo para realização de dois experimentos do presente trabalho.

À empresa Agualinda em Cumaral – Meta – Colombia pelo fornecimento das Pirapitingas para realização do experimento 3 do presente trabalho.

À técnico de laboratório Amanda Reyes do Laboratorio de Ictiologia e Peces Ornamentales pela força braçal para realização dos experimentos com reprodutores de Tilápia-do-Nilo e com juvenis de Pirapitinga.

À minha amiga Carolina Toledo Santos pela sua ajuda e dedicação de tempo para me apoiar emocionalmente e ajudar com força braçal em alguns dias em que estive doente.

À todos que foram omitidos de maneira injusta, meus sinceros agradecimentos.

APOIO FINANCEIRO

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela Bolsa do programa de Mestrado.

À Pro-PG pelo apoio financeiro para assistir e apresentar um dos meus trabalhos na Conferencia Latinoamericana de Peces Nativos em Villavicencio – Colombia.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUÇÃO.....	1
Escolha sexual e Comunicação química.....	2
Desempenho productivo.....	3
Seleção e auto-balanceamento de alimento.....	3
Espécies estudadas.....	4
II. OBJETIVOS.....	7
III. CAPÍTULO I.....	8
Influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em exemplares juvenis e adultos de Tilápia-do-Nilo.....	8
INTRODUÇÃO.....	8
Experimento 1. Auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Tilápia-do-Nilo.....	10
OBJETIVO.....	10
MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE.....	10
B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS.....	11
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	13

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
CONCLUSÃO.....	15
Experimento 2. Auto-balanceamento e consumo alimentar em exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo.....	16
OBJETIVO.....	16
MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE.....	16
B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS.....	16
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
IV. CAPÍTULO II.....	22
Influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Pirapitinga.....	22
Experimento 3. Auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Pirapitinga.....	22
INTRODUÇÃO.....	22
OBJETIVO.....	23
MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE.....	24
B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS.....	24
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	25

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
V. CAPÍTULO III.....	31
Influência de dietas suplementadas com Triptofano sobre a escolha do macho pela fêmea em Tilápia-do-Nilo nas fases juvenil e reprodutiva.....	31
INTRODUÇÃO.....	31
Experimento 4. Preferência de fêmeas de juvenis de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com Triptofano ou dieta convencional.....	32
OBJETIVO.....	32
MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE.....	32
B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS.....	32
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
CONCLUSÃO.....	40
Experimento 5. Preferência de fêmeas adultas de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com Triptofano ou dieta convencional.....	41
OBJETIVO.....	41
MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE.....	41
B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS.....	41

ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	43
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
VI. CONCLUSÃO GERAL.....	50
VII. IMPLICAÇÕES.....	51
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
IX. APÊNDICE.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Consumo de Triptofano e desempenho zootécnico e alimentar em juvenis de Tilápia-do-Nilo.....	14
Tabela 2.	Consumo de Triptofano e desempenho zootécnico e alimentar em exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo.....	18
Tabela 3.	Consumo de Triptofano e desempenho zootécnico e alimentar em juvenis de Pirapitinga.....	26
Tabela 4.	Teste de escolha do macho pela fêmea da Tilápia-do-Nilo na fase juvenil, por machos arraçoados com diferentes doses de Triptofano.....	37
Tabela 5.	Teste de escolha do macho pela fêmea da Tilápia-do-Nilo na fase reprodutiva, por machos arraçoados com diferentes doses de Triptofano.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Preparo das rações: Separação dos ingredientes das dietas (A), Mistura e homogeneização dos ingredientes (B), Peletização dos ingredientes (C), Tamisagem da ração (D)..	11
Figura 2.	Aparato experimental dos juvenis de Tilápia-do-Nilo.....	12
Figura 3.	Biometria realizada nos exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo (A) Ictiometro e (B) Balança de precisão.....	17
Figura 4.	Biometria realizada em Pirapitinga: (A) Balança de precisão e (B) Ictiometro.....	25
Figura 5.	Esquema do aparato experimental da escolha do macho pela fêmea: Machos em aquários doadores (A), Fêmea no aquário de escolha (B) – Juvenis.....	34
Figura 6.	Tempo de latência dos 10 testes de escolha em juvenis de Tilápia-do-Nilo.....	38
Figura 7.	Esquema do aparato experimental da escolha do macho pela fêmea: Macho em aquário doador (A), Fêmea no aquário de escolha (B) – Exemplares adultos.....	43
Figura 8.	Tempo de latência dos 6 testes de escolha em adultos de Tilápia-do-Nilo.....	46

RESUMO

Este estudo avaliou a habilidade dos peixes em discriminar alimentos com diferente qualidade nutricional (conteúdo de triptofano), seja diretamente, utilizando informações vindas da fonte alimentar ou indiretamente, através da dieta dos coespecíficos. Para forragear efetivamente, animais usam informações vindas diretamente da fonte alimentar e portanto, da qualidade do recurso, e indiretamente de coespecíficos. Neste último caso, forrageadores podem ser atraídos tanto em um contexto sexual, indicando parceiros de qualidade, como também em contexto social. O Triptofano (Trp), aminoácido essencial e precursor da serotonina, afeta o consumo de alimento, melhora a conversão alimentar, a taxa de crescimento, a homogeneidade do grupo e influencia na reprodução dos peixes. Peixes fêmeas e machos podem escolher seus parceiros por meio de vários canais sensoriais: comunicação química, visual, sonora e elétrica. Na Tilápia-do-Nilo, as fêmeas reconhecem quimicamente o estado nutricional dos machos, preferindo os mais bem nutridos. Partindo dessas premissas, testamos as hipóteses de que a suplementação com Trp na ração afeta o desempenho produtivo, o auto-balanceamento do Trp e o comportamento das fêmeas na escolha sexual através da comunicação química.

Para os testes de desempenho produtivo foram utilizados peixes das espécies Tilápia-do-Nilo e Pirapitinga fornecendo rações suplementadas com Trp, sendo: 0,32% de Trp (ração controle - Rc), R2 - 0,64%, R4 - 1,28%, R6 - 1,96% e R8 - 2,56%. Obteve-se como resultados que a Tilápia-do-Nilo e a pirapitinga auto-balancearam o consumo diário de Trp, beneficiando o consumo de alimento, o ganho de peso e comprimento padrão e a conversão alimentar (ração consumida/ganho de peso). Assim, o consumo de Trp próximo de 0,80% da ração, melhorou a conversão alimentar. Nos testes de escolha do macho pela fêmea em Tilápia-do-Nilo, tanto em juvenis como em reprodutores, os machos foram tratados de forma individual com rações contendo níveis crescentes de Trp e as fêmeas com (Rc). Obteve-se como resultado que fêmeas de Tilápia-do-Nilo, tanto juvenis como sexualmente maduras, preferiram machos arraçoados com dietas contendo 1,28% (4x) de Triptofano.

Conclusões Gerais: A Tilápia-do-Nilo e a Pirapitinga regulam o consumo de Triptofano quando ofertado em rações com diferentes níveis. Também, fêmeas juvenis e sexualmente maduras de Tilápia-do-Nilo selecionam machos tratados com alimentos suplementados com Triptofano.

Palavras chave: *peixes, tilápia, pirapitinga, triptofano, serotonina, desempenho produtivo, auto-balanceamento de ração, comunicação química.*

ABSTRACT

This study evaluated the ability of fish to discriminate foods with different nutritional quality (content of tryptophan), either directly, using information coming from the food source, or indirectly, through diet of conspecifics. To forage effectively, animals use information coming directly from the food source and therefore the quality of the resource, and indirectly from conspecifics. In the latter case, foragers can be attracted either in a sexual context, indicating quality partners, as well as in social context. Tryptophan (Trp), an essential amino acid and precursor of serotonin (5-HT), affects food intake, improves feed conversion, growth rate, group homogeneity and influences fish reproduction. Female and male fish may choose the sexual partner through multiple sensory channels such as chemical, visual, sound and electric communication. Nile Tilapia females recognize chemically male nutritional status and select the best-nourished individuals. Based on these assumptions, we evaluate the hypothesis that Trp supplementation in the diet affects the productive performance, self-balancing the amino acid given a particular experimental condition and the behavior of females to choose the sex partner through chemical communication.

For testing productive performance of Nile Tilapia and Pirapitinga fishes, were supplied rations supplemented with Trp, being used: 0.32% Trp (control diet - Rc), R2 - 0.64%, R4 - 1.28%, R6 - 1.96% and R8 - 2.56%. Obtained results indicated that of the Nile Tilapia and Pirapitinga fishes self-balanced daily consumption of Trp, benefiting food consumption, weight gain and standard length and feed conversion. Thus, the Trp consumption improved feed conversion. In the choice of the male by the female in Nile Tilapia, both as both juveniles and sexually mature males were treated individually with diets containing increasing levels of Trp (Rc, R2, R4, R6 and R8) and females with (Rc). Obtained results in Nile Tilapia female, both juveniles and sexually mature, preferred males fed diets containing 1.28% (4x) of Tryptophan.

General Conclusions: The Nile Tilapia and Pirapitinga fishes regulate tryptophan consumption when offered in diets with different levels. Also, juveniles and sexually mature females of Nile tilapia selected males treated with food supplemented with tryptophan.

Keywords: *fish, tilapia, pirapitinga, tryptophan, serotonin, productive performance, balanced feed, chemical communication.*

I. INTRODUÇÃO

As proteínas são os constituintes orgânicos fundamentais dos tecidos dos peixes, totalizando 65-75% da matéria seca corporal, correspondendo ao nutriente mais importante, pois é responsável pela formação de enzimas e hormônios. As proteínas são constituídas fundamentalmente por aminoácidos, os quais devem estar em composição e quantidade balanceadas para manter o crescimento dos peixes (Furuya et al., 2013). Existem aminoácidos essenciais e não essenciais, sendo iguais os requerimentos para peixes e mamíferos (Guillaume et al., 2004). Os aminoácidos essenciais não são produzidos pelo organismo devendo ser ingeridos e a sua ausência impede o crescimento do animal (Andriguetto et al., 1999, Berchielli, 2006). Estes são: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina (Guillaume et al., 2004).

O triptofano (Trp), é um aminoácido essencial para os animais. Ele tem uma importante contribuição no crescimento normal, na síntese proteica e em mecanismos fisiológicos fundamentais em peixes e mamíferos, como liberação de alguns hormônios, regulação do sono, temperatura corporal, atividade motora, funções cognitivas, interações nos peixes como dominância, submissão, agressão, estresse e hierarquia, assim como busca, seleção e consumo de alimento, e reprodução, entre outros (Lepage et al., 2003; Rossi & Tirapegui, 2004; Feijó, et al., 2011; Lillesaar, 2011). Também é precursor da serotonina (neurotransmissor 5-hidroxitriptamina: 5-HT), da niacina (vitamina B3) e é um dos aminoácidos que estimula a secreção de insulina e do hormônio do crescimento. O Trp não pode ser produzido pelo organismo e é obtido através da ingestão dietética normal ou degradação proteica corporal (Rossi & Tirapegui, 2004; Lillesaar, 2011). De acordo com o National Research Council - NRC (2011), o requerimento de Trp para Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é de 0,32% na dieta ou 1% da Proteína Bruta - PB.

Em peixes, a síntese de serotonina e seus níveis em algumas regiões do encéfalo dependem dos níveis de Trp na ração e do tempo de alimentação, entre outros, com a consequente melhora na conversão alimentar, homogeneidade do grupo e taxa de crescimento (Lepage et al., 2003; Rossi & Tirapegui, 2004; Feijó

et al., 2011). Experimentos de suplementação com Trp foram feitos em diversas espécies, por exemplo, em larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*), aumentou a sobrevivência e o crescimento e diminuiu o canibalismo (Hoshiba, 2011) e em juvenis diminuiu a agressividade (Wolkers et al., 2012). Em truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) a suplementação com Trp aumentou a atividade serotoninérgica, diminuiu o comportamento agressivo e os níveis plasmáticos de cortisol pós-estresse (Wimberg et al., 2001; Lepage, 2004). Além disso, segundo Höglund et al. (2005), o Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) é altamente agressivo e ao suplementar a sua dieta com Trp a sinalização do sistema serotoninérgico é afetada, diminuindo a agressividade, que se encontra mais presente na fase juvenil. Em caranguejos, o Trp adicionado à dieta diminuiu a mortalidade e a agressividade, mas nesta espécie a taxa de crescimento também foi diminuída (Laranja Jr. et al., 2010). O Trp é um aminoácido que pode ter uma aplicabilidade na piscicultura, não só no desempenho produtivo, como reprodutivo, se acontecer uma resposta aos sinais químicos emitidos pelos machos arraçoados com diferentes doses de Trp.

Assim, o objetivo deste estudo foi testar o efeito da ingestão de Trp na preferência na escolha do macho pela fêmea, auto-balanceamento da ração e desempenho produtivo.

Escolha Sexual e Comunicação química

Peixes fêmeas e machos podem realizar a escolha do seu parceiro por meio de vários canais sensoriais, como comunicação química, visual, sonora e elétrica (Gonçalves-de-Freitas et al., 2009; Giaquinto, 2010). Segundo Castro et al. (2009), para a Tilápia-do-Nilo, a visão é uma via importante de transferência de informação entre machos e fêmeas na fase de reprodução. No entanto, esta espécie utiliza também a comunicação química com a finalidade de informar a posição social (Giaquinto & Volpato, 1997) através de substâncias químicas liberadas na água (Gonçalves-de-Freitas et al., 2008). De acordo com Giaquinto, et al. (2010), as fêmeas de Tilápia-do-Nilo reconhecem quimicamente o estado nutricional do macho, escolhendo os mais bem nutridos. Todos estes estudos demonstram a capacidade desta espécie em fazer distinções “finas” através da comunicação química.

Tratando-se especificamente da sinalização química em peixes, exemplos são encontrados para as seguintes funções: alerta (Jordão & Volpato, 2000; Wyatt, 2003; Giaquinto & Hoffmann, 2010), informação do tamanho (Giaquinto & Volpato, 2005), risco de predação (Mirza & Chivers, 2001), seleção de parceiros sexuais (Giaquinto et al. 2010), discriminação de indivíduos parentais e não parentais (Brown & Brown, 1996; Giaquinto & Volpato, 1997; Frade et al., 2002; Sisler & Sorensen, 2008), estado nutricional (Fisher & Rosenthal, 2006a; Giaquinto, 2010; Giaquinto et al., 2010), percepção do estado reprodutivo (Miranda et al., 2005) e posição social na hierarquia (Almeida et al., 2005).

Ao analisar as espécies de peixes utilizadas como modelos experimentais, a Tilápia-do-Nilo apresenta-se com um forte potencial para estudo da comunicação química e seleção sexual devido ao seu comportamento reprodutivo, apresentando hierarquia de dominância, onde machos dominantes defendem território, constroem ninhos, cortejam as fêmeas e possuem prioridade de acesso ao acasalamento.

Desempenho produtivo

As anteriores evidencias permitem afirmar que havendo uma resposta na sinalização química causada pelo incremento de Trp na ração, as respostas de exemplares juvenis e adultos de Tilápia-do-Nilo no seu desempenho produtivo segundo a suplementação com Trp podem ser testados. Como ainda não foi evidenciado um valor recomendado de Trp para Pirapitinga, pode ser feito o teste com rações suplementadas com Trp para obtenção de um valor estimado que melhore o comportamento alimentar e o desempenho produtivo da espécie.

Seleção e auto-balanceamento de alimento

De acordo com Botero (2004), a resposta do comportamento alimentar em peixes está associada à condição de hierarquia, à produção de feromônios, presença de depredadores, entre outros, e isto influencia na busca, localização e captura do alimento. Na saciedade e conduta alimentar dos peixes, provavelmente estão envolvidos os centros hipotalâmicos, podendo ser estimulados pela saciedade do intestino ou por fatores metabólicos como níveis de metabolitos no sangue ou mudanças na temperatura (Botero, 2004).

Estudos tem demonstrado que os peixes fazem seleção de alimento, tendo preferência por certos formatos de pellets, algumas texturas, cheiros e sabores (Botero, 2004) conseguindo também regular a ingestão de alguns ingredientes, o que nos aproxima cada vez mais ao seu comportamento, preferência alimentar e requerimentos nutricionais (Pereira-da-Silva & Pezzato, 1999; Pereira-da-Silva & Pezzato, 2000; Pereira-da-Silva et al., 2004; Bordinhon, 2008).

O teste mais comumente usado para conhecer a regulação da ingestão de alimentos pelos peixes é a oferta de uma ração controle versus uma ração suplementada com o nutriente a ser testado, podendo este ser um aminoácido, energia ou proteína, entre outros. Observa-se o consumo de cada uma das dietas durante vários dias e então se faz a análise da quantidade ingerida do nutriente nas duas rações e se avalia o ganho de peso, ou o parâmetro a ser testado, geralmente o desempenho produtivo (Pereira-da-Silva et al., 2004; Bordinhon, 2008).

Espécies estudadas

1. Tilápia-do-Nilo:

Esta espécie conforma o grupo de peixes com maior desenvolvimento na piscicultura mundial apresentando um ótimo crescimento em pouco tempo de cultivo, sendo o segundo mais produzido no mundo depois das carpas (Quintero et al., 2011; Coldevella et al., 2012). Pertence à família Cichlidae e é originária da África, Israel e Jordão. As tilápias possuem cuidado parental e são incubadoras bucais maternas. O macho constrói o ninho para postura e a fêmea incuba e protege os ovos na boca, assim como as larvas dependentes (Quintero et al., 2011). Os machos são territorialistas. De acordo com Quintero, et al. (2011), a maturação sexual acontece por volta dos 3-4 meses de idade, se reproduzindo com uma alta frequência (8-12 vezes/ano) porém, com poucos ovos por desova (80-200/fêmea). O seu requerimento de proteína é 32% da dieta, o de Triptofano em 1% da PB e o de energia em 3200kcal de Energia Digestível (ED)/kg de dieta (NRC, 2011). A temperatura ideal para seu desenvolvimento está de 26 a 32°C, sendo inferior a 15°C e superior a 40°C letal, e o pH entre 6,5-8,5, sendo abaixo de 4 ou acima de 11 letal para a espécie (Kubitza, 2000; Rossi & Vidal, 2008; NRC 2011; Coldevella et al., 2012).

2. Pirapitinga:

A Pirapitinga (*Piaractus brachipomus*) é uma espécie originária da América do Sul, mais exatamente dos Rio Amazonas e Orinoco (é encontrada em rios brancos, negros e claros), é o terceiro maior peixe de escamas depois do Pirarucu (*Arapaima gigas*) e do Tambaqui (*Colossoma macropomum*), podendo atingir 80cm e mais de 20kg (Vasquez-Torres, 2005; Quintero et al., 2011). É onívora, facilitando o seu cultivo. Possui um ótimo desempenho produtivo e tem boa aceitação no mercado. De acordo com Vasquez-Torres (2005), a Pirapitinga atinge o peso de comercialização entre 180 e 365 dias, chegando a produzir entre 12 e 30 quilos/Ha. A temperatura ideal para seu cultivo está entre 24-30°C e o pH de 7 (Galvis et al., 2006; Quintero et al., 2011). De acordo com Quintero et al. (2011), a alimentação balanceada para a Pirapitinga na fase juvenil exige 32% PB e 3200 kcal de ED/kg de dieta, e de acordo com NRC (2011) as exigências de Trp para peixes de águas quentes de 0,3 a 0,4%. Não possui cuidado parental e a sua reprodução é sincrônica, sendo feita por grupos e em baixas frequências, desovando um grande número de ovos (Quintero et al., 2011). A maturação sexual ocorre por volta de 2,5 a 3 anos e os reprodutores são usados para desova em cativeiro até atingir 8 anos de idade (Quintero et al., 2011).

A Tilápia-do-Nilo apresenta características que a tornam uma espécie apta como modelo experimental para pesquisas na área de nutrição e comportamento, enquanto que a Pirapitinga se torna interessante para realização de pesquisas na área de nutrição devido ao seu alto desempenho produtivo e fácil manejo.

De acordo com o exposto, observa-se que os peixes auto-balanceiam o consumo de alguns nutrientes na ração, proporcionando melhor crescimento, seleção sexual, comportamento, e bem-estar, entre outros. Entre tanto, poucos são os relatos na literatura sobre a influência da suplementação de diferentes nutrientes na dieta de peixes, especialmente dos aminoácidos, fato este que suscitou a realização do presente estudo, apresentado em três capítulos:

Capítulo I. Influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em exemplares juvenis e adultos de Tilápia-do-Nilo.

Capítulo II. Influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Pirapitinga.

Capítulo III. Influência de dietas suplementadas com Triptofano sobre a escolha do macho pela fêmea em Tilápia-do-Nilo nas fases juvenil e reprodutiva.

II. OBJETIVOS

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo de juvenis e adultos da Tilápia-do-Nilo.

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo de juvenis de Pirapitinga.

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano na preferência de fêmeas de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com o aminoácido nas fases juvenil e reprodutiva.

III. CAPÍTULO I

Influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em exemplares juvenis e adultos de Tilápia-do-Nilo.

INTRODUÇÃO

Este estudo avaliou a habilidade dos peixes em discriminar alimentos com diferente qualidade nutricional (conteúdo de Triptofano), utilizando informações vindas da fonte alimentar. Para forragear efetivamente, os animais usam informações vindas diretamente da fonte alimentar e portanto, da qualidade do recurso, ou indiretamente através de coespecíficos.

O Triptofano (Trp), principal objeto do presente estudo é um aminoácido essencial e precursor da serotonina, contribui no crescimento normal, na síntese proteica e em mecanismos fisiológicos fundamentais em peixes e mamíferos, como liberação de alguns hormônios, regulação do sono, e interações nos peixes, entre outros. De acordo com o nível suplementado, afeta o consumo de alimento, melhora a conversão alimentar, a taxa de crescimento, a homogeneidade do grupo e influencia na reprodução dos peixes (Lepage et al., 2003; Rossi & Tirapegui, 2004; Feijó, et al., 2011; Lillesaar, 2011).

A respeito do consumo de alimento, Schimdt-Nielsen (2002), sugere que a maioria dos animais obtêm os nutrientes necessários ao seu metabolismo em diversas fontes de alimento e que a disponibilidade de itens alimentares no ambiente nem sempre coincide com as necessidades fisiológicas dos animais nas variadas fases de desenvolvimento. Devido a isto, a composição de sua dieta raramente corresponde apenas a uma amostra proporcional à disponibilidade dos alimentos que os cercam (Kaiser & Hughnes, 1993).

De acordo com o anterior e com pesquisas feitas relacionadas ao consumo, auto-balanceamento e seleção de alimento, tem sido demonstrado que os peixes são capazes selecionar seu alimento, tendo preferência por alguns formatos de pellets, texturas, cheiros e sabores (Botero, 2004) conseguindo

também regular a ingestão de alguns ingredientes, nos aproximando cada vez mais ao seu comportamento, preferência alimentar e requerimentos nutricionais (Pereira-da-Silva & Pezzato, 1999; Pereira-da-Silva & Pezzato, 2000; Pereira-da-Silva et al., 2004; Bordinhon, 2008).

Atualmente, os estudos de escolha voluntária não são conduzidos apenas com macro nutrientes, de maneira isolada, disponibilizando carboidratos, proteínas e lipídeos, mas também com misturas de composições diferenciadas, de maneira que os peixes possam balancear sua dieta escolhendo os alimentos disponíveis (Yamamoto et al., 2002). O teste geralmente usado para conhecer a regulação da ingestão de alimentos pelos peixes é a oferta de uma ração controle versus uma ração suplementada com o nutriente a ser testado. Observa-se o consumo de cada uma das dietas durante vários dias, se faz a análise da quantidade ingerida do nutriente nas duas rações e se avalia o ganho de peso, ou o parâmetro a ser testado, geralmente o desempenho produtivo (Pereira-da-Silva et al., 2004; Bordinhon, 2008).

As anteriores evidencias permitem afirmar que havendo uma resposta na sinalização química causada pelo incremento de Trp na ração, as respostas de exemplares juvenis e adultos de Tilápia-do-Nilo no seu desempenho produtivo segundo a suplementação com Trp podem ser testados.

Experimento 1. Auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Tilápia-do-Nilo.

OBJETIVO

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo de juvenis de Tilápia-do-Nilo

MATERIAIS E MÉTODOS

A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE

Foram obtidos 80 juvenis de Tilápia-do-Nilo entre 30 e 80g, aproximadamente, em piscicultura comercial local, aclimatados durante 15 dias antes de começar os testes e mantidos em tanques plásticos de 500L, contendo 20 peixes (25L de água/peixe). A água foi mantida em temperaturas entre 26-28°C e o pH entre 7-8. Os tanques foram equipados com aeração continua, biofiltros e renovação constante de água objetivando manter a qualidade da mesma.

Os peixes foram expostos a fotoperíodo de 12h/L e 12h/E, controlado com timer, começando às 8h e alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia com ração convencional peletizada com 32% PB, 3200 kcal ED/kg de dieta e 0,32% de Triptofano, atendendo as exigências nutricionais segundo as recomendações do NRC (2011). A ração foi fabricada no Laboratorio de Ictiologia y peces ornamentales, da Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (FMVZ-UN-Bogotá-Colombia). Durante o tempo de aclimatação foi feito o uso de comedouros com a finalidade de acostumar os peixes aos mesmos.

Tanto a ração convencional, como as rações suplementadas para todo o estudo foram fabricadas no Laboratorio de Ictiologia y peces ornamentales. Lembrando que as mesmas foram isoprotéicas e isoenergéticas (mesmo teor de proteína e energia respectivamente). As tabelas de composição percentual e formulação, assim como de composição das rações encontram-se no Apêndice.

O procedimento para fabricação das rações foi: Formulação das rações, obtenção, seleção, tamisado e pesagem dos ingredientes separando os macro dos micro ingredientes. Mistura, homogeneização e peletização dos mesmos. Após a peletização, as rações foram colocadas em bandejas e levadas ao forno durante 16 horas a 55°C para cocção. Posteriormente as mesmas foram tamisadas para homogeneização dos pellets e colocadas em potes individuais de acordo com o teor de Trp de cada uma delas (Figura 1).



Figura 1. Preparo das rações: Separação dos ingredientes das dietas (A), Mistura e homogeneização dos ingredientes (B), Peletização dos ingredientes (C), Tamisagem da ração (D).

B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS

O delineamento experimental foi completamente casualizado com 2 (dois) tratamentos (RcXR4 e RcXR8) e 15 réplicas, totalizando 30 peixes. As dietas experimentais foram: Rc: ração controle (convencional 0,32% Trp), R4: 1,28% Trp, R8: 2,56% Trp. Para atingir os níveis de Trp as rações R4 e R8 foram suplementadas com L-triptofano (98%) da Ajinomoto. O tempo de exposição às dietas e coleta de dados foi de 17 dias.

Ao iniciar o experimento os peixes foram anestesiados para realização da biometria com o anestésico MS222 (100ppm), selecionados, medidos com ictiómetro, pesados em balança de precisão e colocados em aquários individuais, nos quais receberam as dietas. A seleção do anestésico foi feita de acordo com a

sua menor toxicidade para humanos (p.e a Benzocaina é cancerígena segundo o Food and Drug Administration - FDA) e menor resposta de reação ao seu contato, não estressando os peixes. O volume dos aquários foi de 23 litros e os mesmos foram equipados com biofiltros de espuma (Figura 2).



Figura 2. Aparato experimental dos juvenis de Tilápia-do-Nilo

O teste de consumo e auto-balanceamento da dieta foi feito durante 17 dias, no qual metade dos aquários e dos animais foram arraçoados com ração RcXR4 (tratamento 1) e a outra metade com ração RcXR8 (tratamento 2). A ração era fornecida em comedouros artesanais de fundo, contendo 2% de peso vivo (PV) em gramas, cada uma das rações equivalente a 1% PV. Foi contabilizada a quantidade de pellets por grama de ração com a finalidade de determinar as unidades tanto ofertadas como consumidas.

Após 20 minutos do arraçoamento os comedouros foram retirados e posteriormente contada a quantidade de pellets restantes de cada ração, sendo a diferença entre o total fornecido e o total que ficou no comedouro, a quantidade ingerida de alimento e de Trp na ração para cada peixe. Ao finalizar os 17 dias, os animais foram anestesiados, medidos e pesados novamente para avaliar o seu desempenho zootécnico.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise estatística dos resultados, foi utilizado o programa SAS versão 9.2 (SAS, 2008). As respostas das diferentes variáveis foram submetidas a análise de variância ($p < 0,05$) e, quando significativas, aplicou-se o teste t pareado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase experimental os parâmetros da água se mantiveram estáveis e de acordo com o indicado para ótimo desenvolvimento e conforto da espécie (Kubitza, 2000; Galvis et al., 2006; Rossi & Vidal, 2008; NRC, 2011; Quintero et al., 2011; Coldevella et al., 2012). Registraram-se as medias de temperatura em $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e o pH entre $7,5 \pm 0,5$.

No tratamento 1, os peixes consumiram em média 5,09g de Rc e 6,04g de R4. No tratamento 2 a média consumida de Rc foi 6,93g e de 5,93g para R8, não apresentado diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Porém, o consumo diário de Trp mostrou diferença significativa, sendo 5,51mg para o tratamento 1 e 10,24mg para o tratamento 2 ($p = 0,0047$), equivalente a 0,84% e 1,35% de Trp total da ração consumida respectivamente. O ganho de peso também apresentou diferença significativa ($p = 0,0059$) sendo melhor para o tratamento 1; assim como a conversão alimentar ($p = 0,0024$) apresentando o melhor valor para o mesmo tratamento (Tabela 1).

Tabela 1. Consumo de Triptofano e desempenho zootécnico e alimentar em juvenis de Tilápia-do-Nilo.

Variável/Tratamento	Tratamento 1: Rc (0,32%Trp) X R4 (1,28%Trp)		Tratamento 2: Rc (0,32%Trp) X R8 (2,56%Trp)		Significância Estatística
	Média	Dp	Média	Dp	p<0.05
Peso Inicial (g)	39,69	6,88	40,96	9,16	
Ganho de peso (g)	8,25	2,24	7,66	3,02	0,0204 *
Ganho Comp. Padrão (cm)	1,03	0,52	0,65	0,42	0,0059 *
Consumo Controle (g)	5,09	1,95	6,93	2,06	0,2037
Consumo Teste (g)	6,04	1,60	5,93	2,44	0,7191
Consumo total (g)	11,13	2,58	12,86	4,20	0,5559
Conversão Alimentar	1,47	0,63	1,89	1,07	0,0024 *
Consumo Trp (mg/dia)	5,51	1,28	10,24	3,98	0,0047 *

*p < 0.05 indica diferença significativa entre os tratamentos – Teste t pareado

De acordo com os resultados, juvenis de Tilápia-do-Nilo apresentaram a capacidade de regular o consumo de Trp a partir da ingestão de duas dietas com diferentes níveis do aminoácido por meio de livre escolha. Isto concorda com Pereira-da-Silva, et al. (2004) e Bordinhon (2008) para regulação da ingestão de proteína em juvenis de Tilápia-do-Nilo. Foi evidenciado que os peixes apresentaram a capacidade de selecionar o alimento a ser consumido como demonstrado por Pereira-da-Silva (1999), Pereira-da-Silva (2000) para seleção e consumo de ração com diferentes ingredientes na Tilápia-do-Nilo e de acordo com Almada Pagan, et al. (2006) para auto-balanceamento e regulação de consumo de proteínas, carboidratos e lipídeos em Sargo-bicudo (*Diplodus puntazol*) e por Fortes-Silva et al. (2010) para preferência por dietas com diferentes tipos de óleo em Tilápia-do-Nilo.

Comparando o consumo das rações suplementadas com Triptofano, pode-se observar que na ração R8 do tratamento 2 os peixes diminuíram levemente o consumo da mesma, quando comparado com o consumo de R4 no tratamento 1, e aumentaram sutilmente o consumo de ração controle para auto-balancear a ingestão do aminoácido. Isto sem diferença estatística, porém, sugere e concorda com a literatura em relação à diminuição do consumo de alimento quando há suplementação com Trp, pois, este aumenta os níveis de serotonina no encéfalo, sinalizando saciedade nos peixes (Rossi & Tirapegui, 2004; Feijó et al., 2011; e Lillesaar, 2011). Resposta que se relaciona também com o menor ganho de peso

e de comprimento padrão para o tratamento 2 o qual teve maior teor de Trp na ração R8.

Devido a isto a suplementação com Trp nas rações não deve ser excessiva, pois, os peixes passam a diminuir o ganho de peso. Existe um nível desejável de cada nutriente para o melhor desempenho dos peixes e em este trabalho, dentre as opções ofertadas o valor ideal, ou recomendado é de 0,84% de Trp na ração.

Estudos em suínos (Dapoza, 2011) na fase de lactação mostraram efeitos positivos sobre a suplementação com Trp no consumo de alimento, traduzindo em maior consumo de ração, maior crescimento, melhora na conversão alimentar e menor perda de peso. Já em codornas, Freitas-Pinheiro, et al. (2008), demonstraram que aumentar os níveis de Trp na ração em 0,21% ao dia, produz sensação de bem-estar e aumenta o consumo de ração, determinando também que para cada 1% de Trp adicional na dieta até o nível máximo de 0,21%, a produção de ovos aumentou em 21,16%. A suplementação com Trp teve um efeito significativo sobre o consumo de ração em galinhas poedeiras, aumentando este quando os níveis do aminoácido foram proporcionalmente aumentados em doses não excessivas (Peganova, et al., 2003 e Peganova & Eder, 2003).

Apesar de ainda não se terem estudos com resultados a respeito do auto-balanceamento de Trp pela Tilápia-do-Nilo os resultados deste trabalho proporcionam dados que mostram que juvenis da espécie conseguem regular a ingestão deste aminoácido em 0,84% da ração, e assim como acontece em outras espécies animais, melhora o desempenho produtivo nessa fase, evidenciando melhor ganho de peso e melhor conversão alimentar.

CONCLUSÃO

Os juvenis de Tilápia-do-Nilo auto-balancearam o consumo de Triptofano em 5,51mg/dia beneficiando o consumo de alimento, o ganho de peso e comprimento padrão e a conversão alimentar. Mostrando que níveis acrescentados mas não excessivos de Trp (0,84% da ração) beneficiam o desempenho produtivo e alimentar na espécie.

Experimento 2. Auto-balanceamento e consumo alimentar em exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo.

OBJETIVO

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento e consumo alimentar em exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE

Foram obtidos 45 exemplares sexualmente maduros de Tilápia-do-Nilo entre 160 e 300g aproximadamente em piscicultura comercial, aclimatados e mantidos em aquários individuais de 90L para um período de aclimação de 15 dias antes de começar os testes. A água foi mantida em temperaturas entre 26-28°C e o pH entre 7-8. Os aquários foram equipados com aquecedor e biofiltro individuais objetivando manter a qualidade da água.

Os peixes foram expostos a fotoperíodo de 12h/L e 12h/E, controlado com timer, começando às 8h e alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia com ração convencional peletizada com 32% PB, 3200 kcal ED/kg de dieta e 0,32% de Triptofano, atendendo as exigências nutricionais segundo as recomendações do NRC (2011). A ração foi fabricada no Laboratorio de Ictiologia y peces ornamentales, da Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (FMVZ-UN-Bogotá-Colombia). Durante o tempo de aclimação foi feito o uso de comedouros com a finalidade de acostumar os peixes aos mesmos.

B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS

O delineamento experimental foi completamente casualizado com 4 (quatro) tratamentos (RcXR2; RcXR4; RcXR6 e R2XR4), e 6 réplicas, totalizando 24 peixes. As dietas experimentais foram: Rc: ração controle (convencional 0,32%

Trp), R2: 0,64% Trp, R4: 1,28% Trp e R6: 1,92% de Trp. As rações foram suplementadas com L-triptofano (98%) da Ajinomoto. O tempo de exposição às dietas e coleta de dados foi de 10 dias, considerando que nos animais adultos não é medido o seu desempenho produtivo. Os tratamentos R2XR6 e R4XR6 e a ração R8 não foram considerados para o presente trabalho devido ao seu teor excessivo de Trp.

Foi usado o anestésico MS222 (100ppm), posteriormente os peixes foram selecionados, medidos, pesados e colocados em aquários individuais, nos quais receberam as dietas (Figura 3). O volume dos aquários foi de 90 litros e os mesmos equipados com biofiltros de espuma.

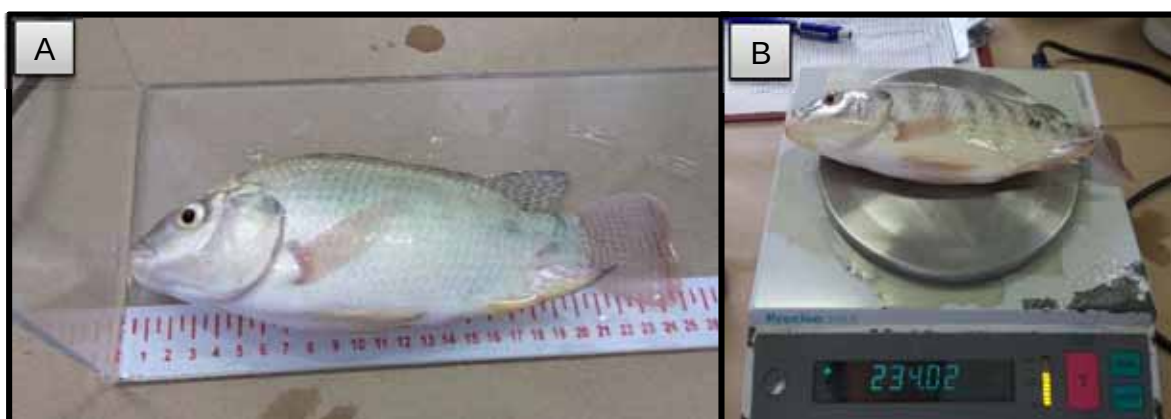


Figura 3. Biometria realizada nos exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo (A) Ictiometro e (B) Balança de precisão.

O teste de auto-balanceamento da ração foi feito durante 10 dias, com 6 réplicas de cada tratamento, totalizando 24 peixes e 4 tratamentos. Tratamento 1: RcXR2, Tratamento 2: RcXR4, Tratamento 3: RcXR6 e Tratamento 4: R2XR4. A ração foi fornecida em comedouros artesanais de fundo, com 2cm de altura e 10cm de diâmetro. Cada comedouro tinha ração calculada ao 1%PV de cada, para atingir as necessidades alimentares dos peixes (totalizando 2%PV). Foi contabilizada a quantidade de pellets por grama de ração com a finalidade de determinar a quantidade de unidades ofertada e consumida.

Após 20 minutos do arraçoamento os comedouros foram retirados e posteriormente contada a quantidade de pellets restantes de cada ração, sendo a diferença entre o total fornecido e o total que ficou no comedouro, a quantidade ingerida de alimento pelo peixe. Calculou-se a quantidade de ração e Trp consumidos por cada um dos animais.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise estatística dos resultados, foi utilizado o programa SAS versão 9.2 (SAS, 2008). As respostas das diferentes variáveis foram submetidas a análise de variância ($p < 0,05$) e, quando significativas, aplicou-se o teste de comparações múltiplas entre medias de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase experimental os parâmetros da água se mantiveram estáveis e de acordo com o indicado para ótimo desenvolvimento e conforto da espécie (Kubitza, 2000; Galvis et al., 2006; Rossi & Vidal, 2008; NRC, 2011; Quintero et al., 2011; Coldevella et al., 2012). Registraram-se as medias de temperatura em $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e o pH entre $7,5 \pm 0,5$.

De acordo com os resultados (Tabela 2), os exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo auto-balancearam a ingestão de Trp na dieta, consumindo seletivamente um tanto de cada ração fornecida, sendo que nos tratamentos a quantidade ingerida de Trp oscilou entre 15,83 e 35,15mg. O consumo diário de Trp no tratamento 1 (15,83mg) foi diferente estatisticamente ($p < 0,05$) quando comparado aos demais tratamentos os quais não diferiram entre si.

Tabela 2. Consumo de Triptofano e desempenho zootécnico e alimentar em exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo.

Variável/Tratamento	Tratamento 1: Rc (0,32%Trp) X R2 (0,64%Trp)	Tratamento 2: Rc (0,32%Trp) X R4 (1,28%Trp)	Tratamento 3: Rc (0,32%Trp) X R6 (1,92%Trp)	Tratamento 4: R2 (0,64%Trp) X R4 (1,28% Trp)
	Media $\pm$ Dp	Media $\pm$ Dp	Media $\pm$ Dp	Media $\pm$ Dp
Peso Inicial (g)	246,56 $\pm$ 67,50	233,88 $\pm$ 60,44	237,40 $\pm$ 38,20	232,53 $\pm$ 45,10
Peso final (g)	257,00 $\pm$ 66,10	245,42 $\pm$ 56,83	243,17 $\pm$ 41,30	238,08 $\pm$ 46,48
Ganho de peso (g)	10,40 $\pm$ 12,03	11,54 $\pm$ 7,87	6,73 $\pm$ 4,18	5,55 $\pm$ 4,75
Consumo controle (g)	15,05 $\pm$ 6,24	15,21 $\pm$ 8,17	14,98 $\pm$ 0,53	14,00 $\pm$ 3,16
Consumo tratamento (g)	17,20 $\pm$ 7,71	17,54 $\pm$ 7,54	15,81 $\pm$ 2,01	14,87 $\pm$ 2,84
Consumo total (g)	32,26 $\pm$ 6,75	32,76 $\pm$ 15,44	30,79 $\pm$ 2,45	28,88 $\pm$ 5,26
Consumo total Trp (g)	0,16 $\pm$ 0,04 b	0,27 $\pm$ 0,12 a	0,35 $\pm$ 0,04 a	0,28 $\pm$ 0,05 a
Consumo Trp (mg/dia)	15,83 $\pm$ 4,18 b	27,33 $\pm$ 12,12 a	35,15 $\pm$ 4,00 a	28,00 $\pm$ 5,01 a

Valores com letra diferente na mesma linha são significantes estatisticamente ($n = 6$; Duncan, $p < 0,05$).

Exemplares adultos da Tilápia-do-Nilo assim como juvenis da mesma espécie, têm a habilidade de distinguir e escolher entre duas dietas com

diferentes níveis de Trp, e regular o consumo do mesmo ingerindo-o por meio de livre escolha.

O consumo de Triptofano foi regulado pelos peixes, consumindo mais ou menos ração suplementada, tendo sido menor e diferente estatisticamente no tratamento 1 ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos, nos quais o consumo de Trp oscilou entre 0,27-0,35g/dia.

A partir do tratamento 2, no qual o consumo de Trp foi 0,27g/dia (27,33mg Trp/dia, equivalente a 0,82% Trp da ração consumida) não compensa mais suplementar as rações com o aminoácido, pois, o animal regula o consumo do mesmo não aumentando-o significativamente. Além disso, rações suplementadas com maiores níveis de Trp acarretam em um custo maior de produção, pois este é o aminoácido de maior custo entre todos os aminoácidos sintéticos. Apesar de não ter diferença significativa se observa uma diminuição do ganho de peso e do consumo de ração no tratamento 4 em relação ao tratamento 2, o que está de acordo com Feijó et al. (2011) para consumo de alimento e saciedade relacionadas com o aumento da serotonina no encéfalo.

Os resultados mostram que o consumo médio de 27,33mg Trp/dia, equivalente a 0,82% da ração, representa o menor consumo de Trp com as melhores respostas na espécie nas condições experimentais do presente estudo, resultado semelhante ao obtido para juvenis de Tilápia-do-Nilo em 0,84% da ração determinado no experimento 1.

CONCLUSÃO

Exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo auto-balancearam o consumo de Triptofano em 27,33mg/dia (0,82% da ração), mostrando que níveis acrescentados mas não excessivos do aminoácido na ração beneficiam o desempenho dos mesmos.

De forma geral pode se concluir que animais juvenis e adultos da Tilápia-do-Nilo têm a capacidade de auto-balancear o consumo de Triptofano em 0,84 e 0,82% da ração respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMAIDA-PAGÁN, P.F. et al. Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpshout seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. **Physiol. Behav.**, v.88, p.550-558, 2006.

BIZARRO, Y.W.S. **Efeito do Fotoperíodo na Glicemia, Cortisol, Parâmetros Hematológicos e nos índices reprodutivos de machos de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2013. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

BORDINHON, A.M. **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**. 2008. 63f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

COLDEVELLA, I.J.; BESOLD, C.; FIORI, L.N. Reprodução e criação da Tilápia-do-Nilo. In: BARCELLOS, L.J.G.; FAGUNDES, M. **Policultivo de jundiás, tilápias e carpas: Uma alternativa de produção para piscicultura rio-grandense**. Passo Fundo: Associação brasileira das editoras universitárias. Segunda edição, 2012. p.180-196.

DAPOZA, C. **Porcicultura.com pecuarios**. Online, México, 2abr.2011. El Triptofano en la nutrición porcina. Disponível em: http://www.ganaderia.com.mx/porcicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=680 Acesso em: 9ago.2014.

FEIJO, F.M.; BERTOLUCI, M.C.; REIS, C. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v.57, n.1, p.74-77, 2011.

FORTES-SILVA, R. et al. Daily feeding patterns and self-selection of dietary oil in Nile tilapia. **Aquacul. Res.**, v.42, p.157-160, 2010.

FREITAS-PINHEIRO, S.R. et al. Efeito dos níveis de Triptofano digestível em dietas para codornas japonesas em postura. **R. Bras. Zootec.**, v.37, n.6, p.1012-1016, 2008.

GALVIS, G. et al. **Peces del medio amazonas región Leticia**. Serie de guías tropicales de campo No. 5. Conservación Internacional, Ed. Panamericana: Formas e impresos. Bogotá, Colombia, 2006. 548pp.

KAISER, M. J., HUGHNES, R. N. Factors affecting the behavioral mechanisms of 13 diet selection in fishes. **Marine Behavioral Physiology**. v.23, p.105-118, 1993

KUBITZA, F. Tilápia: **Tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí, SP, Brasil, 2000. 285p.

LILLESAAR, C. The serotonergic system in fish. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v.41, p.294–308, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Fish and Schrimp**. Washington, D.C.: The National Academic Press, 2011.

PEGANOVA, S.; EDER, K. Interactions of various supplies of isoleucine, valine, leucine e tryptophan on the performance of laying hens. **Poultry Science**, v.82, n.1, p.100-105, 2003.

PEGANOVA, S.; HIRCHE, F.; EDER, K. Requirement of tryptophan in relation to the supply of large neutral amino acids in laying hens. **Poultry Science**, v.82, n.5, p.815-822, 2003.

PEREIRA DA SILVA, E.M. et al. Regulação da ingestão proteica na Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **R. Bras. Zootec.**, v.33, n.6, p.1921-1927, 2004.

PEREIRA DA SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Respostas da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) á atratividade e palatatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes. **R. Bras. Zootec.**, v.29, n.5, p.1273-1280, 2000.

PEREIRA DA SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Comportamento alimentar da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) frente a diferentes ingredientes alimentares. **Acta Scientiarum**, v.21, n.2, p.297-301, 1999.

QUINTERO, L.G.P; PARDO, B.S.G; QUINTERO, A.M.C.P. Manual técnico para la producción de peces de consumo a pequeña y mediana escala en el Departamento de Cundinamarca. Bogotá: Produmedios, 2011. 92p

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no exercício físico. **Arq Bras Endocrinol .**, São Paulo, v.48, n.2, p.227-233, 2004.

ROSSI, F.; VIDAL, M.V. Centro de produções técnicas. **Criação de tilápias**. Serie Criação de tilápias: manual de capacitação. Viçosa, 2008.150p.

SAS (SAS Institute Inc, US). 2008. SAS/STAT® User's guide: Statistics. Version 9.2. Cary, NC. 7600p, 2008.

SCHIMDT-NIELSEN, K. Alimento e energia In: **Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente**. Editora Santos. Rio de Janeiro. p. 129-164, 2002.

YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H., SUZUKI, N., 2003. Effect of water temperature and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v.220, p.655-666, 2003.

IV. CAPÍTULO II

Influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Pirapitinga.

Experimento 3. Auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Pirapitinga.

INTRODUÇÃO

Este estudo avaliou a habilidade dos peixes em discriminar alimentos com diferente qualidade nutricional (conteúdo de Triptofano), utilizando informações vindas da fonte alimentar. Para forragear efetivamente, os animais usam informações vindas diretamente da fonte alimentar e portanto, da qualidade do recurso, ou indiretamente através de coespecíficos.

O Triptofano (Trp), principal objeto do presente estudo é um aminoácido essencial e precursor da serotonina, contribui no crescimento normal, na síntese proteica e em mecanismos fisiológicos fundamentais em peixes e mamíferos, como liberação de alguns hormônios, regulação do sono, e interações nos peixes, entre outros. De acordo com o nível suplementado, afeta o consumo de alimento, melhora a conversão alimentar, a taxa de crescimento, a homogeneidade do grupo e influencia na reprodução dos peixes (Lepage et al., 2003; Rossi & Tirapegui, 2004; Feijó, et al., 2011; Lillesaar, 2011).

A respeito do consumo de alimento, Schimdt-Nielsen (2002), sugere que a maioria dos animais obtêm os nutrientes necessários ao seu metabolismo em diversas fontes de alimento e que a disponibilidade de itens alimentares no ambiente nem sempre coincide com as necessidades fisiológicas dos animais nas variadas fases de desenvolvimento. Devido a isto, a composição de sua dieta raramente corresponde apenas a uma amostra proporcional à disponibilidade dos alimentos que os cercam (Kaiser & Hughnes, 1993).

De acordo com o anterior e com pesquisas feitas relacionadas ao consumo, auto-balanceamento e seleção de alimento, tem sido demonstrado que os peixes são capazes selecionar seu alimento, tendo preferência por alguns formatos de pellets, texturas, cheiros e sabores (Botero, 2004) conseguindo também regular a ingestão de alguns ingredientes, nos aproximando cada vez mais ao seu comportamento, preferência alimentar e requerimentos nutricionais (Pereira-da-Silva & Pezzato, 1999; Pereira-da-Silva & Pezzato, 2000; Pereira-da-Silva et al., 2004; Bordinhon, 2008).

Atualmente, os estudos de escolha voluntária não são conduzidos apenas com macro nutrientes, de maneira isolada, disponibilizando carboidratos, proteínas e lipídeos, mas também com misturas de composições diferenciadas, de maneira que os peixes possam balancear sua dieta escolhendo os alimentos disponíveis (Yamamoto et al., 2002). O teste geralmente usado para conhecer a regulação da ingestão de alimentos pelos peixes é a oferta de uma ração controle versus uma ração suplementada com o nutriente a ser testado. Observa-se o consumo de cada uma das dietas durante vários dias, se faz a análise da quantidade ingerida do nutriente nas duas rações e se avalia o ganho de peso, ou o parâmetro a ser testado, geralmente o desempenho produtivo (Pereira-da-Silva et al., 2004; Bordinhon, 2008).

Como ainda não foi evidenciado um valor recomendado de Trp para Pirapitinga, acontecendo uma resposta na sinalização química causada pelo incremento de Trp na ração, as respostas de exemplares juvenis da espécie no seu desempenho produtivo segundo a suplementação com Trp podem ser testados. Isto com a finalidade de obter um valor estimado que melhore o comportamento alimentar e o desempenho produtivo da espécie.

OBJETIVO

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano no auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo em juvenis de Pirapitinga.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE

Foram obtidos 100 juvenis de Pirapitinga entre 45 e 50g em piscicultura comercial, mantidos em aquários individuais de 90L para um período de aclimação de 15 dias antes de começar o experimento. A água foi mantida em temperaturas entre 26-28°C e o pH entre 7-8. Os aquários foram providos de biofiltros e aquecedores individuais.

Os peixes foram expostos a fotoperíodo de 12hL/12E, controlado por timer, começando às 8h e alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia com ração convencional com 32% PB, 3200 kcal ED/kg de dieta e 0,32% de Triptofano, atendendo as exigências nutricionais segundo as recomendações de NRC (2011). A ração foi fabricada no Laboratorio de Ictiologia y peces ornamentales, da Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (FMVZ-UN-Bogotá-Colombia). Os peixes foram condicionados ao uso dos comedouros tendo fornecido ração nos mesmos todos os dias durante o tempo de aclimação.

B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS

O delineamento experimental foi completamente casualizado com 4 (quatro) tratamentos (RcXRc; RcXR2; RcXR4 e RcXR6) e 7 réplicas cada, totalizando 28 animais. As dietas experimentais foram: Rc: ração controle (convencional 0,32% Trp), R2: 0,64% Trp, R4: 1,28% Trp, R6: 1,92% de Trp. A suplementação das dietas foi feita com L-triptofano (98%) da Ajinomoto. O tempo de exposição às dietas e coleta de dados foi de 14 dias.

Os peixes foram anestesiados com MS222 (100ppm), selecionados, medidos com ictiómetro, pesados com balança de precisão e colocados em aquários individuais (Figura 4), nos quais receberam as dietas.

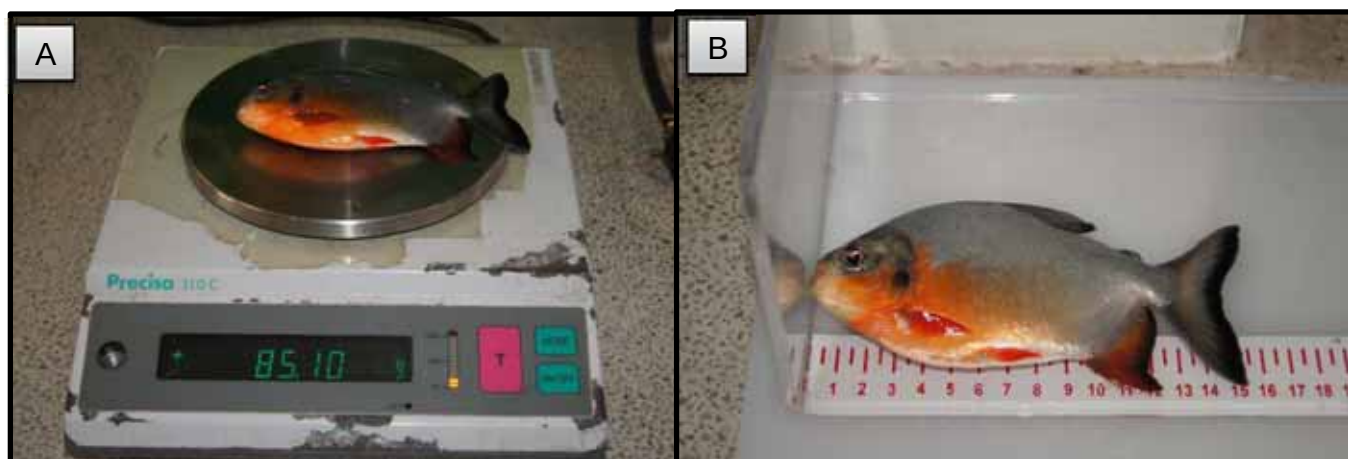


Figura 4. Biometria realizada em Pirapitinga: (A) Balança de precisão e (B) Ictiometro.

A ração foi fornecida em comedouros artesanais de fundo, com 2cm de altura e 10cm de diâmetro. Cada comedouro tinha ração calculada ao 2% PV do animal para atingir as necessidades alimentares dos peixes (totalizando 4% PV). Foi contabilizada a quantidade de pellets por grama de ração com a finalidade de determinar a quantidade de unidades ofertada e consumida.

Após 20 minutos do arraçoamento os comedouros foram retirados e posteriormente contada a quantidade de pellets restantes de cada ração, sendo a diferença entre o total fornecido e o total que ficou no comedouro, a quantidade ingerida de alimento pelo peixe. Calculou-se a quantidade de ração e Trp consumidos por cada um dos animais. Finalizando os 14 dias, os animais foram anestesiados, medidos e pesados novamente para avaliar o seu desempenho zootécnico e calculada a quantidade de ração e Trp consumida por dia para cada um dos animais.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise estatística dos resultados, foi utilizado o programa SAS versão 9.2 (SAS, 2008). As respostas das diferentes variáveis foram submetidas a análise de variância ($p < 0,05$) e, quando significativas, aplicou-se o teste de comparações múltiplas entre medias de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase experimental os parâmetros da água se mantiveram estáveis e de acordo com o indicado para ótimo desenvolvimento e conforto da espécie (Quintero et al., 2011). Registraram-se as medias de temperatura em $27\pm1^{\circ}\text{C}$ e o pH entre $7,5\pm0,5$.

De acordo com os resultados obtidos, para peso inicial, peso final, ganho de peso, consumo de ração (controle, tratamento e total) não houve diferença estatisticamente significativa entre eles (Tabela 3). Para conversão alimentar, os tratamentos 1 e 4 e, 1, 2 e 3 não apresentaram diferença significativa, no entanto, o tratamento 4 teve a pior conversão alimentar ($p<0,05$) sendo esta de 1,34 e o tratamento 3 apresentou a melhor conversão alimentar, de 0,89 ($p<0,05$). Os tratamentos 2 e 3 apresentaram um leve incremento no ganho de peso, quando comparados com os outros tratamentos. Isto concorda com os resultados encontrados para animais juvenis e adultos da Tilápia-do-Nilo nos experimentos 1 e 2, no entanto este último não apresentou diferença significativa provavelmente devido ao curto tempo experimental.

Tabela 3. Consumo de Triptofano e desempenho zootécnico e alimentar em juvenis de Pirapitinga

Variável/Tratamento	Tratamento 1: Rc (0,32%Trp) X Rc (0,32%Trp)	Tratamento 2: Rc (0,32%Trp) X R2 (0,64%Trp)	Tratamento 3: Rc (0,32%Trp) X R4 (1,28% Trp)	Tratamento 4: Rc (0,32%Trp) X R6 (1,92%Trp)
	Media $\pm$ Dp	Media $\pm$ Dp	Media $\pm$ Dp	Media $\pm$ Dp
Peso inicial (g)	47,39 $\pm$ 1,39	47,17 $\pm$ 1,56	46,99 $\pm$ 1,17	47,59 $\pm$ 1,17
Peso final (g)	79,93 $\pm$ 14,31	86,31 $\pm$ 7,16	88,62 $\pm$ 8,81	76,11 $\pm$ 14,86
Ganho de peso (g)	32,54 $\pm$ 13,46	39,19 $\pm$ 7,50	41,63 $\pm$ 8,47	28,73 $\pm$ 15,09
Consumo controle (g)	15,17 $\pm$ 3,93	17,10 $\pm$ 1,87	18,21 $\pm$ 1,61	15,84 $\pm$ 3,66
Consumo tratamento (g)	14,98 $\pm$ 3,85	17,68 $\pm$ 1,42	18,07 $\pm$ 2,65	14,90 $\pm$ 4,40
Consumo total (g)	30,15 $\pm$ 7,76	34,78 $\pm$ 3,22	36,28 $\pm$ 4,22	30,73 $\pm$ 8,01
Conversão alimentar	1,02 $\pm$ 0,29 ab	0,91 $\pm$ 0,15 b	0,89 $\pm$ 0,10 b	1,34 $\pm$ 0,54 a
Consumo total Trp (g)	0,096 $\pm$ 0,02 c	0,17 $\pm$ 0,01 b	0,29 $\pm$ 0,04 a	0,34 $\pm$ 0,10 a
Consumo Trp (mg/dia)	6,89 $\pm$ 1,77 c	11,99 $\pm$ 1,05 b	20,69 $\pm$ 2,78 a	24,05 $\pm$ 6,86 a

Valores com letra diferente na mesma linha são significantes estatisticamente ($n = 7$; Duncan, $p<0,05$).

O consumo de Triptofano foi regulado pelos peixes, oscilando entre 6,89 e 24,05mg/dia, apresentando diferença estatística significativa para os tratamentos 1, 2 e 3 ($p<0,05$) e sem diferença para os tratamentos 3 e 4 ($p>0,05$). O maior consumo de Trp foi revelado para os tratamentos 3 e 4, devido ao maior teor do aminoácido nas rações suplementadas fornecidas. Resultados que concordam

com Pereira-da-Silva, et al. (2004) e Bordinhon (2008) para regulação da ingestão de proteína na Tilápia-do-Nilo na fase juvenil, com Almada Pagan, et al. (2006) para regulação e auto balanceamento do consumo de proteínas, carboidratos e lipídeos em Sargo-bicudo (*Diplodus puntazzo*), com Fortes-Silva, et al. (2010) para preferência por dietas com diferentes tipos de óleo para Tilápia-do-Nilo, e com Pereira-da-Silva (1999) e Pereira-da-Silva (2000), para seleção e consumo de ração com diferentes ingredientes na Tilápia-do-Nilo.

O consumo total de alimento não teve diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), porém, os valores mais altos foram apresentados pelos tratamentos 3 e 2 com 36,28 e 34,78g/dia respectivamente e os valores mais baixos pelos tratamentos 1 e 4 com valores de 30,15 e 30,73g/dia respectivamente. Este comportamento de diminuição do consumo pode ser explicado devido ao efeito da suplementação do aminoácido sobre a produção de serotonina no encéfalo, a qual atua sobre o consumo de alimento, como explicado por Rossi & Tirapegui (2004), Feijó et al. (2011), Lillesaar (2011), e em concordância com exemplares juvenis e adultos de Tilápia-do-Nilo da presente pesquisa.

Houve diferença significativa na conversão alimentar entre os tratamentos ($p<0,05$), apresentando o tratamento 3 a melhor conversão (0,89) e o 4 a pior (1,34). Os tratamentos 2 e 3 apresentaram o melhor ganho de peso, porém, não houve diferença significativa entre os 4 tratamentos provavelmente porque o desvio padrão dos tratamentos 1 e 4 foi alto e o tempo de experimentação curto para revelar a significância estatística no desempenho produtivo.

Em suínos lactentes, Dapoza, 2011 evidenciou efeitos positivos sobre o consumo de alimento, crescimento e conversão alimentar e menor perda de peso, com a suplementação de Trp na dieta. Freitas-Pinheiro, et al., 2008, demonstraram que aumentar os níveis de Trp na ração até 0,21% ao dia em codornas, produz sensação de bem-estar e aumenta o consumo de alimento e que para cada 1% de Trp adicional na ração até o nível máximo de 0,21%, a produção de ovos aumentou em 21,16%. A suplementação com Trp teve um efeito significativo sobre o consumo de alimento em galinhas poedeiras, aumentando este quando

os níveis do aminoácido foram proporcionalmente aumentados em doses não excessivas (Peganova, et al., 2003 e Peganova & Eder, 2003).

Os efeitos da suplementação com Trp na ração para Pirapitinga no desempenho produtivo ainda não tem sido avaliados. De acordo com os resultados deste trabalho se mostra que juvenis da espécie conseguem regular a ingestão de Triptofano em 0,80% da ração, e assim como acontece em outras espécies animais, melhora o desempenho produtivo nessa fase, evidenciando melhor ganho de peso e melhor conversão alimentar.

A partir do tratamento 3 (20,69mg Trp/dia, equivalente a 0,80% da ração), não compensa suplementar as rações com Trp, pois, o animal regula o consumo do aminoácido, não apresentando diferença significativa quando ofertado um tratamento com maior teor do mesmo. Além do mais, diminuiu o ganho de peso, piorou a conversão alimentar e as rações suplementadas com altos teores de Trp tem maior custo devido a este ser o aminoácido sintético mais oneroso dos disponíveis no mercado.

CONCLUSÃO

Juvenis de Pirapitinga auto-balancearam o consumo de Triptofano em 20,69mg/dia beneficiando a conversão alimentar, mostrando que níveis acrescentados, mas não em excesso (0,80% da ração) deste aminoácido beneficiam o desempenho produtivo na espécie. Resultado que se aproxima ao auto-balanceado pela Tilápia-do-Nilo nas fases juvenil e reprodutiva (0,84 e 0,82% respectivamente).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMAIDA-PAGÁN, P.F. et al. Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpsnout seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. **Physiol. Behav.**, v.88, p.550-558, 2006.

BORDINHON, A.M. **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**. 2008. 63f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

DAPOZA, C. **Porcicultura.com pecuarios**. Online, México, 2abr.2011. El Triptofano en la nutrición porcina. Disponível em: http://www.ganaderia.com.mx/porcicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=680 Acesso em: 9ago.2014.

FEIJO, F.M.; BERTOLUCI, M.C.; REIS, C. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v.57, n.1, p.74-77, 2011.

FORTES-SILVA, R. et al 2010. Daily feeding patterns and self-selection of dietary oil in Nile tilapia. **Aquacul. Res.**, v.42, p.157-160, 2010.

FREITAS-PINHEIRO, S.R. et al. Efeito dos níveis de Triptofano digestível em dietas para codornas japonesas em postura. **R. Bras. Zootec.**, v.37, n.6, p.1012-1016, 2008.

KAISER, M. J., HUGHNES, R. N. Factors affecting the behavioral mechanisms of 13 diet selection in fishes. **Marine Behavioral Physiology**. v.23, p.105-118, 1993

LILLESAAR, C. The serotonergic system in fish. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v.41, p.294–308, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, D.C.: The National Academic Press, 2011.

PEGANOVA, S.; EDER, K. Interactions of various supplies of isoleucine, valine, leucine e tryptophan on the performance of laying hens. **Poultry Science**, v.82, n.1, p.100-105, 2003.

PEGANOVA, S.; HIRCHE, F.; EDER, K. Requirement of tryptophan in relation to the supply of large neutral amino acids in laying hens. **Poultry Science**, v.82, n.5, p.815-822, 2003.

PEREIRA DA SILVA, E.M. et al. Regulação da ingestão proteica na Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **R. Bras. Zootec.**, v.33, n.6, p.1921-1927, 2004.

PEREIRA DA SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Respostas da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) á atratividade e palatatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes. **R. Bras. Zootec.**, v.29, n.5, p.1273-1280, 2000.

PEREIRA DA SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Comportamento alimentar da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) frente a diferentes ingredientes alimentares. **Acta Scientiarum**, v.21, n.2, p.297-301, 1999.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no exercício físico. **Arq Bras Endocrinol.** São Paulo, v.48, n.2, p.227-233, 2004.

SAS (SAS Institute Inc, US). 2008. SAS/STAT® User's guide: Statistics. Version 9.2. Cary, NC. 7600p, 2008.

SCHIMDT-NIELSEN, K. Alimento e energia In: **Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente**. Editora Santos. Rio de Janeiro. p. 129-164, 2002.

YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H., SUZUKI, N., 2003. Effect of water temperature and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v.220, p.655-666, 2003.

V. CAPÍTULO III

Influência de dietas suplementadas com Triptofano sobre a escolha do macho pela fêmea em Tilápia-do-Nilo nas fases juvenil e reprodutiva.

INTRODUÇÃO

Este estudo avaliou a habilidade dos peixes em discriminar alimentos com diferente qualidade nutricional (conteúdo de Triptofano), indiretamente, através da dieta dos coespecíficos. Para forragear efetivamente, animais usam informações vindas diretamente da fonte alimentar e portanto, e indiretamente através dos coespecíficos. Neste último caso, forrageadores podem ser atraídos tanto em um contexto sexual, indicando parceiros de qualidade, como também em contexto social.

O Triptofano (Trp), principal objeto deste estudo, é um aminoácido essencial e precursor do neurotransmissor serotonina (5-HT), atua na síntese proteica e em mecanismos fisiológicos fundamentais em peixes e mamíferos, como liberação de alguns hormônios, regulação do sono, e interações nos peixes podendo influenciar na sua reprodução (Lepage et al., 2003; Rossi & Tirapegui, 2004; Feijó, et al., 2011; Lillesaar, 2011).

A respeito da reprodução, pode ser afirmar que para seleção de parceiros, os peixes fêmeas e machos fazem a escolha através de vários canais sensoriais: comunicação química, visual, sonora e elétrica (Gonçalves-de-Freitas et al., 2009; Giaquinto, 2010). Na Tilápia-do-Nilo, as fêmeas reconhecem a traves de substancias químicas liberadas na água (Gonçalves-de-Freitas et al., 2008) o estado nutricional dos machos, preferindo os mais bem nutridos (Giaquinto, et al. 2010, Lillesaar, 2011).

Ao analisar as espécies de peixes utilizadas como modelos experimentais, a Tilápia-do-Nilo apresenta-se com um forte potencial para estudo da comunicação química e seleção sexual devido ao seu comportamento reprodutivo, apresentando hierarquia de dominância, onde machos dominantes defendem território, constroem ninhos, cortejam as fêmeas e possuem prioridade de acesso ao acasalamento.

Experimento 4. Preferência de fêmeas de juvenis de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com Triptofano ou dieta convencional.

OBJETIVO

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano na preferência de fêmeas de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com o aminoácido na fase juvenil.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE

Foram obtidos 150 juvenis de Tilápia-do-Nilo entre 30 e 80g aproximadamente, separados por sexo, aclimatados e mantidos em tanques plásticos de 500L, contendo 20 peixes (25L de água/peixe) para um período de aclimação durante 15 dias antes de começar os testes. A água foi mantida em temperaturas entre 26-28°C e o pH entre 7-8. Os tanques foram equipados com aeração contínua, biofiltros e renovação constante de água objetivando manter a qualidade da mesma.

Os peixes foram expostos a fotoperíodo de 12hL/12hE, controlado com timer, começando às 8h e alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia com ração convencional com 32% PB, 3200 kcal ED/kg de dieta e 0,32% de Triptofano, atendendo as exigências nutricionais segundo as recomendações de NRC (2011). A ração foi fabricada no Laboratorio de Ictiologia y peces ornamentales, da Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (FMVZ-UN-Bogotá-Colombia).

B. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS

O delineamento experimental foi completamente casualizado, utilizando 30 fêmeas e 60 machos, com 10 (dez) testes (RcXR2; RcXR4; RcXR6; RcXR8; R2XR4; R2XR6; R2XR8; R4XR6; R4XR8; R6XR8) e 3 (três) réplicas para cada um, totalizando 30 testes. As rações experimentais foram: Rc: ração controle

(convencional 0,32% Trp), R2: 0,64% Trp, R4: 1,28% Trp, R6: 1,92% Trp, R8: 2,56%, Trp. O tempo de exposição às dietas e coleta de dados foi de 10 dias. Para atingir os níveis de Trp as rações R2, R4, R6 e R8 foram suplementadas com L-triptofano (98%) da Ajinomoto.

Para seleção dos peixes, estes foram anestesiados com MS222 (100ppm), medidos com ictímetro, pesados na balança de precisão e colocados em aquários individuais, nos quais receberam as dietas. Os aquários tiveram volume de 23 litros cada (40 x 23 x 25 cm) e foram equipados com biofiltros de espuma. Se forneceu ração em quantidade de 2% PV ao dia, sendo metade pela manhã (9h) e a outra metade no final da tarde (18h). O excesso de ração foi sifonado sempre 20 minutos após a alimentação, e as fezes foram removidas após o trato das 18h.

Posteriormente, foi testada a escolha de fêmeas por machos alimentados com rações suplementadas com diferentes níveis de L-triptofano. Assim, testou-se se estas selecionam por pistas químicas, o perfil de machos com diferentes níveis de Trp na dieta, preferindo os que ingerem maior ou menor quantidade do mesmo.

Para isto, foi testada a escolha de trinta fêmeas, em testes independentes. O teste de escolha foi realizado por meio de dois aquários doadores e um aquário receptor (onde estava a fêmea) (Figura 5). Em um dos aquários doadores permaneceu um peixe macho arraçoado com uma das rações e no outro aquário um peixe macho arraçoado com outra, e, assim foram feitos todos os testes. O tempo que os machos permaneceram nos aquários doadores antes de iniciar o teste foi de uma hora, posterior a isto uma fêmea foi levada ao aquário de escolha.



Figura 5. Esquema do aparato experimental da escolha do macho pela fêmea: Machos em aquários doadores (A), Fêmea no aquário de escolha (B) – Juvenis.

Os testes de escolha foram feitos em aquários de vidro (100 x 30 x 30cm) divididos verticalmente em três partes por placas acrílicas opacas (adaptado do recomendado por Wagner, 1998 e por Gouveia Jr., 2006 para testes de preferência, relacionados com a comunicação química). O compartimento central encontrava-se inicialmente fechado e a fêmea permaneceu no mesmo por 5 minutos e posteriormente foram abertas através de um sistema de roldanas controlado à distância de 2 metros do aquário teste. Cada compartimento lateral recebeu água de um aquário doador onde saía um tubo de silicone (2,5 mm de diâmetro), transportando a água por gravidade até o aquário teste. Uma válvula acoplada a cada tubo permitiu o controle do fluxo em 4 ml/min. Um teste realizado com corante mostrou que a água leva 15 minutos para se misturar com os três compartimentos.

Foram observadas três variáveis: (1) Frequência: posição da fêmea no aquário a cada 15 segundos, (2) Latência: início do movimento da fêmea em

direção a um dos compartimentos com drenagem procedente dos aquários dos machos tratados com diferentes níveis de Triptofano, (3) Tempo de associação: tempo total gasto em cada compartimento. Para apresentação das variáveis 2 e 3 foi usada estatística descritiva. O tempo total de análise para cada teste foi 15 minutos. Para apresentação das variáveis 2 e 3 foi usada estatística descritiva. As fêmeas que não responderam em até 300 segundos ou que visitaram apenas um compartimento foram descartadas das análises.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As frequências de visitas das fêmeas foram analisadas por meio do teste χ^2 de independência ($p < 0,05$), comparando as respostas pelas fêmeas dentro de cada teste. A estatística foi realizada por meio do pacote SAS 9.2 (SAS, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase experimental os parâmetros da água se mantiveram estáveis e de acordo com o indicado para ótimo desenvolvimento e conforto da espécie (Kubitza, 2000; Galvis et al., 2006; Rossi & Vidal, 2008; NRC, 2011; Quintero et al., 2011; Coldevella et al., 2012). Registraram-se as medias de temperatura em $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e o pH entre $7,5 \pm 0,5$.

Na tabela 4 são apresentadas as frequências de visitas e o tempo de associação das fêmeas aos compartimentos dos machos alimentados com rações com diferentes teores de Trp e a diferença estatística entre as fêmeas dentro do cada teste, para juvenis de Tilápia-do-Nilo.

Tabela 4. Teste de escolha do macho pela fêmea da Tilápia-do-Nilo na fase juvenil, por machos arraoados com diferentes doses de Triptofano.

Teste 1	Rc	R2	Total	χ^2
Total visitas	99	43	142	p= 0,191
Porcentagem total visitas	69,72	30,28	100	
Tempo de associação (seg)	1485	645	2130	
Teste 2	Rc	R4	Total	χ^2
Total visitas	75	97	172	p= 0,49
Porcentagem total visitas	43,6	56,4	100	

Tempo de associação (seg)	1125	1455	2580	
Teste 3	Rc	R6	Total	X²
Total visitas	36	116	152	
Porcentagem total visitas	23,68	76,32	100	p= 0,09
Tempo de associação (seg)	540	1740	2280	
Teste 4	Rc	R8	Total	X²
Total visitas	95	58	153	
Porcentagem total visitas	62,09	37,91	100	p= 0,0059*
Tempo de associação (seg)	1425	870	2295	
Teste 5	R2	R4	Total	X²
Total visitas	55	113	168	
Porcentagem total visitas	32,74	67,26	100	p= 0,5
Tempo de associação (seg)	825	1695	2520	
Teste 6	R2	R6	Total	X²
Total visitas	99	59	158	
Porcentagem total visitas	62,66	37,34	100	p= 0,0011*
Tempo de associação (seg)	1485	885	2370	
Teste 7	R2	R8	Total	X²
Total visitas	71	91	162	
Porcentagem total visitas	43,83	56,17	100	p= 0,0093*
Tempo de associação (seg)	1065	1365	2430	
Teste 8	R4	R6	Total	X²
Total visitas	91	48	139	
Porcentagem total visitas	65,47	34,53	100	p= 0,472
Tempo de associação (seg)	1365	720	2085	
Teste 9	R4	R8	Total	X²
Total visitas	100	49	149	
Porcentagem total visitas	67,11	32,89	100	p= 0,0696
Tempo de associação (seg)	1500	735	2235	
Teste 10	R6	R8	Total	X²
Total visitas	91	74	165	
Porcentagem total visitas	55,15	44,85	100	p= 0,0181*
Tempo de associação (seg)	1365	1110	2475	

Valores com * são significantes estatisticamente ($p < 0,05$) pelo Teste X^2 para fêmeas dentro de cada teste.

Os resultados da Tabela 4 mostram que para o teste 1 (RcXR2) as fêmeas preferiram os machos alimentados com Rc, apresentando maior frequência de visitas e somando maior tempo de associação (1485seg). O teste de X^2 não apresentou diferença significativa entre fêmeas ($p=0,191$), o que comprova que as

três fêmeas apresentaram comportamento semelhante perante os machos dos dois tratamentos, apesar da latência da fêmea 3 ter sido de 75seg e das outras duas (1 e 2) de 15seg. No caso do teste 2 (RcXR4), as fêmeas apresentaram preferência pelos machos que consumiram R4, sem diferença significativa entre elas ($p=0,49$), apresentando tempo de associação de 1455seg de um tempo de associação total de 2580seg. O tempo de latência foi de 15seg para as 3 fêmeas. No teste 3 (RcXR6), as fêmeas não apresentaram diferença estatística significativa entre elas, apresentando preferência pelos machos que consumiram ração R6, com tempo de associação de 1740seg. A latência foi 90seg para a fêmea 7 e para as outras duas (8 e 9) foi de 15seg. No teste 4 (RcXR8), houve maior frequência de visitas aos machos arraçoados com Rc, com tempo de associação de 1425seg de um total de 2295seg e se apresentou diferença estatística entre fêmeas no teste X^2 , mostrando que uma delas (fêmea 10) apresentou comportamento diferente ao respeito da preferência das outras duas (11 e 12). A latência foi de 90seg para a fêmea 10 e 15seg para as fêmeas 11 e 12. Para o teste 5 (R2XR4), as fêmeas apresentaram maior frequência de visitas aos machos alimentados com R4 (somando 113 visitas) e não tiveram diferença significativa entre elas ($p=0,5$), apresentando tempo de associação total de 1695seg versus 825seg para os machos alimentados com ração R2. A latência foi de 60seg para a fêmea 13 e de 15seg para as outras duas fêmeas. No teste 6 (R2XR6), a maior frequência de visitas foi apresentada para os machos arraçoados com R2, com tempo de associação de 1485seg para estes, e houve diferença significativa entre as respostas pelas fêmeas ($p=0,0011^*$), porque uma delas (fêmea 17) não evidenciou preferência por nenhum tratamento, enquanto as outras duas (16 e 18) apresentaram comportamento semelhante em relação à seleção do macho alimentado com ração R2. A latência foi a mesma para as 3 fêmeas (15seg). No teste 7 (R2XR8) a frequência de visitas foi maior para os machos alimentados com R8, apresentando tempo de associação de 1365seg para estes, versus 1065seg para os machos arraçoados com R2. As fêmeas apresentaram diferença significativa, mostrando que as respostas foram diferentes entre elas. A fêmea 19 preferiu o macho arraçoado com R2, a fêmea 20 não evidenciou preferência e a fêmea 21 preferiu o macho alimentado com R8. Isto sugere que nenhum dos tratamentos foi preferido por elas ($p=0,0093^*$). A latência foi semelhante para as três, tendo sido de 30seg para a fêmea 19 e

15seg para as outras duas. O teste 8 (R4XR6) apresentou maior número de visitas aos machos alimentados com R4, com tempo de associação de 1365seg para este, e não teve diferença significativa entre fêmeas, mostrando homogeneidade na preferência por elas ($p=0,472$). A latência foi de 105seg para a fêmea 23 e 15seg para as outras duas (22 e 24). No teste 9 (R4XR8), a frequência de visitas foi maior para os machos alimentados com ração R4, apresentando tempo de associação de 1500seg. Não apresentando-se diferença significativa entre fêmeas ($p=0,0696$), já que a escolha foi a mesma entre elas. A latência foi 225seg para a fêmea 25 e 15seg para as fêmeas 26 e 27. Para o teste 10 (R6XR8), a maior frequência de visitas foi para machos que consumiram a ração R6, apresentando tempo de associação de 1365seg. Porém, houve diferença significativa no comportamento entre fêmeas ($p=0,0181^*$). A latência foi de 15seg para as três fêmeas.

De acordo com a Figura 6, o 76,67% das fêmeas responderam com uma latência mínima de 15seg mostrando que os testes e a metodologia implementada foram eficientes. As fêmeas que apresentaram maior tempo de latência foram a 3, 7, 10, 13, 19, 23 e 25, no entanto isto não mudou a escolha nos testes.

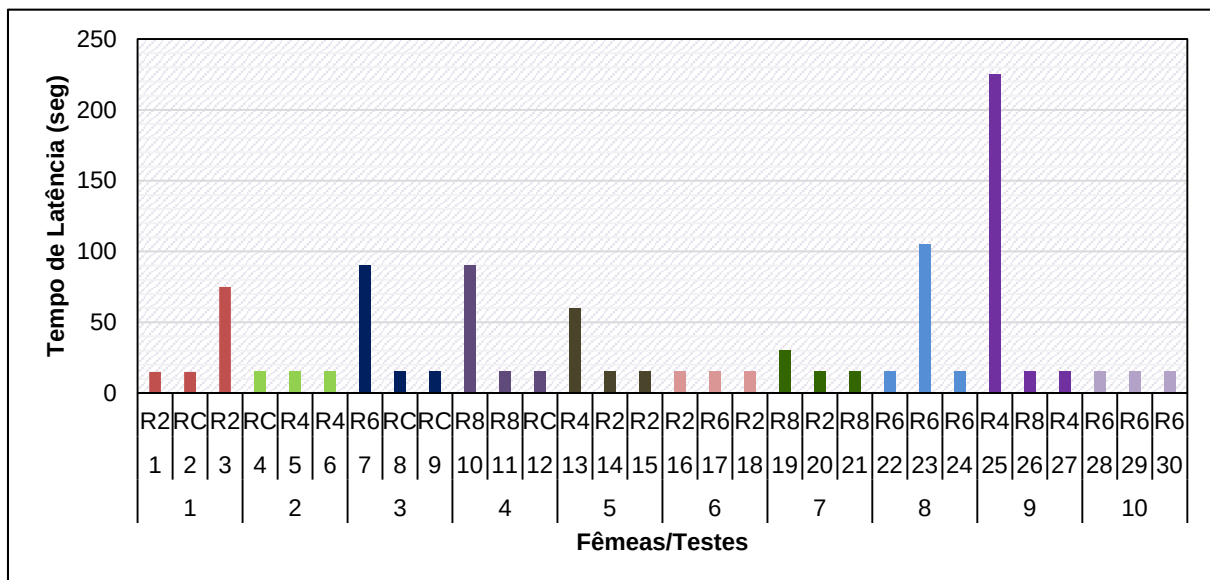


Figura 6. Tempo de latência dos 10 testes de escolha em juvenis de Tilápia-do-Nilo

Como evidenciado nos resultados, os machos que consumiram ração R4 foram os que apresentaram maior frequência de visitas pelas fêmeas em todos os testes realizados que continham essa ração, sugerindo que sinais químicos são

transmitidos às fêmeas por meio dos aquários doadores se apresentando uma escolha clara entre os tratamentos.

Ainda não tem sido feitos testes de escolha em peixes com rações suplementadas com Trp. No entanto, os resultados do presente experimento concordam com trabalhos desenvolvidos em juvenis de diferentes espécies sobre a escolha da fêmea pelo macho. Por exemplo, quando machos foram alimentados com alto ou baixo teor de proteína na dieta da Tilápia-do-Nilo, as fêmeas preferiram significativamente animais alimentados com rações ricas em este nutriente (Giaquinto et al., 2010). Assim mesmo, no peixe mosquito (*Gambusia affinis*), em testes de escolha de machos por fêmeas alimentadas com maior ou menor teor de proteína nas rações, junto com maior ou menor teor de carboidratos, estes apresentaram uma alta preferência por fêmeas alimentadas com maior teor de proteína e menor de carboidratos (Ward et al., 2011). Em testes de escolha de fêmeas por machos bem alimentados ou com supressão de alimento em pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) (Giaquinto, 2010), se apresentou maior frequência de visitas aos peixes bem alimentados. Em testes de escolha de machos por fêmeas, bem alimentados ou com supressão de alimento em *Xiphophorus birchmanni*, se apresentou preferência por aqueles bem alimentados, e quando as fêmeas foram privadas de alimento selecionaram de uma forma mais marcante machos bem alimentados (Fisher & Rosenthal, 2006b), evidenciando que informações a respeito do estado nutricional dos machos tem influência sobre a preferência das fêmeas.

Uma sinalização química a partir do metabolito L-Kyneurine (feromônio não hormonal), proveniente do Triptofano, pode ter influenciado na resposta das fêmeas, como evidenciado por Yambe et al. (2007) no salmão masu (*Onchorhynchus masou*), onde apenas uma quantidade picomolar (10^{-14} moles) do metabolito, é suficiente para que as fêmeas anunciem a sua maturação sexual, atraindo os machos por meio da comunicação química. Um outro exemplo relacionado com os metabolitos do Trp foi evidenciado em suínos machos, os quais excretaram Escatol nas fezes, aumentando o seu odor sexual, facilitando assim a escolha das fêmeas por estes (Dapoza, 2011). Isto sugere que machos da Tilápia-do-Nilo podem ter excretado um metabolito semelhante, ocasionando

uma resposta positiva das fêmeas na seleção por estes através da comunicação química.

CONCLUSÃO

Fêmeas juvenis de Tilápia-do-Nilo escolheram machos que consumiram ração suplementada com 1,28% de Triptofano, 4 vezes o valor recomendado para a espécie, de uma forma rápida, mostrando que a sinalização química foi recepcionada por elas.

Experimento 5. Preferência de fêmeas adultas de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com Triptofano ou dieta convencional.

OBJETIVO

Testar a influência de dietas suplementadas com Triptofano na preferência de fêmeas de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com o aminoácido na fase reprodutiva.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. ANIMAIS E CONDIÇÃO DE ESTOQUE

Foram obtidos 90 peixes adultos de Tilápia-do-Nilo entre 160-300g aproximadamente, mantidos em aquários individuais de 90L para um período de aclimação durante 15 dias antes de começar os testes. A água foi mantida em temperaturas entre 26-28°C e o pH entre 7-8. Os aquários foram equipados com aquecedores e biofiltros individuais objetivando manter a qualidade da água.

Os peixes foram expostos a fotoperíodo de 12hL/12hE, controlado com timer, começando às 8h e alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia com ração convencional com 32% PB, 3200 kcal ED/kg de dieta e 0,32% de Triptofano, atendendo as exigências nutricionais segundo as recomendações de NRC (2011). A ração foi fabricada no Laboratorio de Ictiologia y peces ornamentales, da Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (FMVZ-UN-Bogotá-Colombia).

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS

O delineamento experimental foi completamente casualizado, utilizando 18 fêmeas e 36 machos, com 6 (seis) testes (RcxR2; RcxR4; RcXR6; R2XR4; R2XR6; R4XR6) e 3 (três) réplicas para cada um, totalizando 18 testes. As rações experimentais foram: Rc: ração controle (convencional 0,32% Trp), R2: 0,64% Trp, R4: 1,28% Trp, R6: 1,92% Trp. O tempo de exposição às dietas e coleta de

dados foi de 10 dias. As rações foram suplementadas com L-triptofano (98%) da Ajinomoto.

O anestésico usado foi o MS222 (100ppm) antes da seleção, posteriormente os peixes foram medidos com ictímetro, pesados em balança de precisão e colocados em aquários individuais de 90L, nos quais receberam as dietas. Se forneceu ração em quantidade de 2% PV ao dia, sendo metade pela manhã (9h) e a outra metade no final da tarde (18h). O excesso de ração e as fezes foram sifonadas sempre 20 minutos após a alimentação. Posteriormente, foi testada a escolha de fêmeas por machos alimentados com rações suplementadas com diferentes níveis de L-triptofano.

Assim, foi testada a escolha de 18 fêmeas, em testes independentes. O teste de escolha foi realizado por meio de dois aquários doadores e um aquário receptor (onde se encontrava a fêmea). Em um dos aquários doadores permaneceu um peixe macho arraçoado com uma das rações e no outro aquário um peixe macho arraçoado com outra, e, assim foi feito em todos os testes. O tempo que os machos permaneceram nos aquários doadores antes de iniciar o teste foi de uma hora, posterior a isto uma fêmea foi levada ao aquário de escolha. (adaptado do recomendado por Wagner, 1998 e por Gouveia Jr., 2006 para testes de preferência envolvidos com comunicação química).

Os testes de escolha foram feitos em aquários de vidro (100 x 30 x 30cm) divididos verticalmente em três partes por placas acrílicas opacas (adaptado do recomendado por Wagner, 1998 e por Gouveia Jr., 2006 para testes de preferência, relacionados com a comunicação química) (Figura 7). O compartimento central encontrava-se inicialmente fechado e a fêmea permaneceu no mesmo por 5 minutos e posteriormente foram abertas através de um sistema de roldanas controlado à distância de 2 metros do aquário teste. Cada compartimento lateral recebeu água de um aquário doador onde saía um tubo de silicone (2,5 mm de diâmetro), transportando a água por gravidade até o aquário teste. Uma válvula acoplada a cada tubo permitiu o controle do fluxo em 4 ml/min. Um teste realizado com corante mostrou que a água leva 15 minutos para se misturar com os três compartimentos.

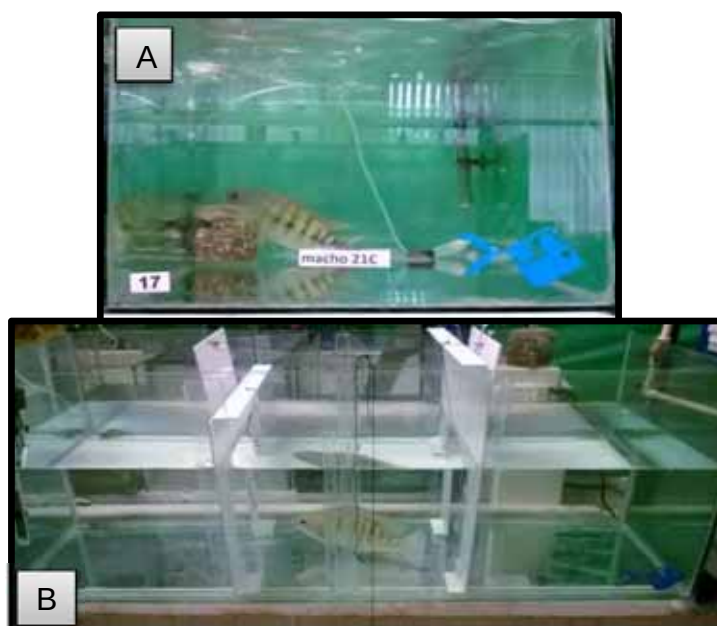


Figura 7. Esquema do aparato experimental da escolha do macho pela fêmea: Macho em aquário doador (A), Fêmea no aquário de escolha (B) – Exemplares adultos.

Foram observadas três variáveis: (1) Frequência: posição da fêmea no aquário a cada 15 segundos, (2) Latência: início do movimento da fêmea em direção a um dos compartimentos com drenagem procedente dos aquários dos machos tratados com diferentes níveis de Triptofano, (3) Tempo de associação: tempo total gasto em cada compartimento. Para apresentação das variáveis 2 e 3 foi usada estatística descritiva. As fêmeas que não responderam em até 300 segundos ou que visitaram apenas um compartimento foram descartadas das análises.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As frequências de visitas das fêmeas foram analisadas por meio do teste χ^2 de independência ($p < 0,05$), comparando as respostas pelas fêmeas dentro de cada teste. A estatística foi realizada por meio do pacote SAS 9.2 (SAS, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase experimental os parâmetros da água se mantiveram estáveis e de acordo com o indicado para ótimo desenvolvimento e conforto da espécie (Kubitza, 2000; Galvis et al., 2006; Rossi & Vidal, 2008; NRC, 2011;

Quintero et al., 2011; Coldevella et al., 2012). Registraram-se as médias de temperatura em $27\pm1^{\circ}\text{C}$ e o pH entre $7,5\pm0,5$.

A tabela 5 apresenta as frequências de visitas das fêmeas e o tempo de associação aos compartimentos dos machos alimentados com rações contendo diferentes teores de Trp e a sua diferença estatística em exemplares adultos de Tilápia-do-Nilo.

Tabela 5. Teste de escolha do macho pela fêmea da Tilápia-do-Nilo na fase reprodutiva, por machos arraçados com diferentes doses de Triptofano.

Teste 1	Rc	R2	Total	X²
Total visitas	68	70	138	p=0,0001
Porcentagem total de visitas	49,28	50,72	100	
Tempo de associação (seg)	1020	1050	2070	
Teste 2	Rc	R4	Total	X²
Total visitas	51	109	160	p=0,0001
Porcentagem total visitas	31,88	68,13	100	
Tempo de associação (seg)	765	1635	2400	
Teste 3	Rc	R6	Total	X²
Total visitas	78	69	147	p=0,1148
Porcentagem total visitas	53,06	46,94	100	
Tempo de associação (seg)	1170	1035	2205	
Teste 4	R2	R4	Total	X²
Total visitas	50	111	161	p=0,0605
Porcentagem total visitas	31,06	68,94	100	
Tempo de associação (seg)	750	1665	2415	
Teste 5	R2	R6	Total	X²
Total visitas	65	52	117	p=0,474
Porcentagem total visitas	55,56	44,44	100	
Tempo de associação (seg)	975	780	1755	
Teste 6	R4	R6	Total	X²
Total visitas	38	121	159	p=0,001*
Porcentagem total visitas	23,9	76,1	100	
Tempo de associação (seg)	570	1815	2385	

Valores com * são significantes estatisticamente ($p<0,05$) pelo Teste X^2 para fêmeas dentro de cada teste.

Os resultados mostram que para o teste 1 (RcXR2) não houve uma preferência clara, pois o teste de X^2 apresentou diferença significativa entre as três fêmeas ($p=0,0001^*$), mostrando que estas apresentaram comportamento diferente entre elas perante os machos dos dois tratamentos, tendo a fêmea 1

preferido o macho arraçoado com Rc, a fêmea 2 não apresentou nenhuma preferência e a fêmea 3 preferiu o macho alimentado com R2. O tempo de associação foi de 1020seg e 1050seg para Rc e R2 respectivamente. A latência foi de 105seg para a fêmea 1 e 15seg para as fêmeas 2 e 3. Para o teste 2 (RcXR4), houve maior preferência pelos machos alimentados com R4, apresentando tempo de associação de 1635seg, porém, houve diferença significativa entre as fêmeas devido à resposta dada por uma delas (fêmea 6) a qual preferiu levemente o macho alimentado com ração Rc ($p=0,0001^*$). A latência foi de 270seg para a fêmea 4 e de 15seg para as fêmeas 5 e 6. No teste 3 (RcXR6), as fêmeas não apresentaram diferença estatística significativa entre elas ($p=0.1148$) e os machos que apresentaram maior frequência de visitas foram os alimentados com Rc, com tempo de associação de 1170seg. A latência foi 180seg para a fêmea 8 e 15seg para as fêmeas 6 e 7. No teste 4 (R2XR4), houve maior frequência de visitas aos machos alimentados com ração R4, apresentando tempo de associação de 1665seg para este versus 750seg para os machos alimentados com ração R2 e a frequência de visitas foi de 111 e 50 respectivamente. Não se apresentou diferença estatística no teste X^2 para as fêmeas ($p=0,0605$), revelando homogeneidade na escolha por elas. A latência foi de 15seg para as 3 fêmeas. Para o teste 5 (R2XR6), as fêmeas apresentaram maior frequência de visitas aos machos alimentados com ração R2, sendo o tempo de associação 975seg e não se apresentou diferença significativa entre elas ($p=0,474$). A latência foi 30seg para a fêmea 13 e 15seg para as fêmeas 14 e 15. No teste 6 (R4XR6), a maior frequência de visitas foi para machos alimentados com R6, apresentando tempo de associação de 1815seg. Houve diferença significativa entre as respostas pelas fêmeas ($p=0,001^*$), isto devido à fêmea número 17 que apresentou um padrão diferente às outras duas do mesmo teste (fêmeas 16 e 18). No entanto, preferiram o macho arraçoado com R6. A latência foi de 15seg para todas elas.

De acordo com a Figura 8, o 77,78% das fêmeas responderam com uma latência mínima de 15seg mostrando que os testes e a metodologia implementada foram eficientes. As fêmeas que apresentaram maior tempo de latência foram a 1, 4, 9, e 13, porém, isto não mudou a escolha nos testes.

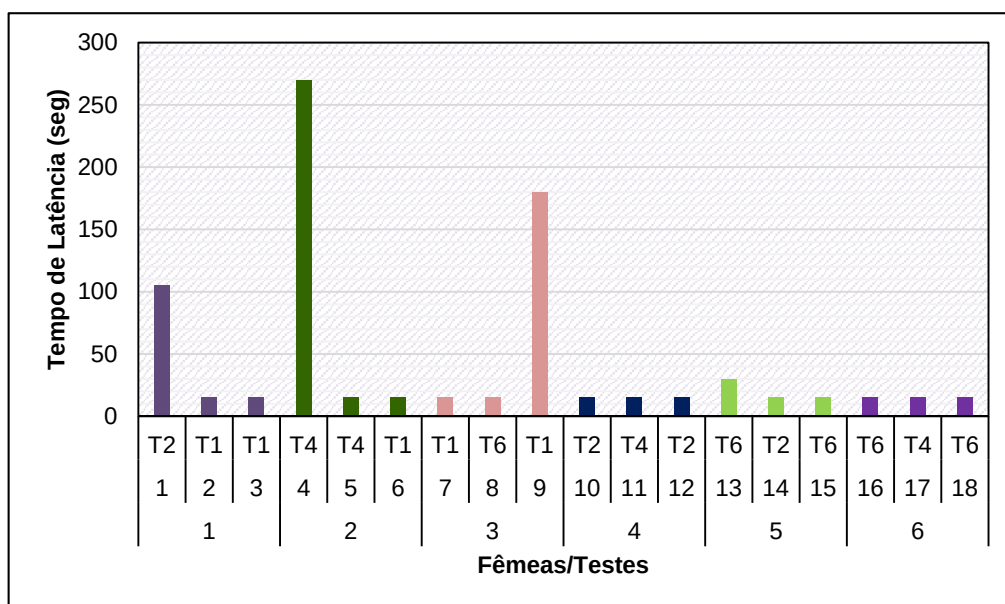


Figura 8. Tempo de latência dos 6 testes de escolha em adultos de Tilápia-do-Nilo

Em todos os casos o tratamento que apresentou a maior frequência de visitas foi o R4 quando comparado com os tratamentos com menores níveis de Trp. Quando testada a R6 com alguma outra ração, a preferência foi pelos machos arraçoados com menores teores de Trp (Rc e R2). Já no teste 6 (R4XR6), duas das fêmeas (16 e 17) preferiram machos alimentados com R6 e uma apresentou preferência pelo macho tratado com R4 (fêmea 18). Desta forma a resposta não foi homogênea e o teste apresentou diferenças significativa ($p < 0,05$) entre fêmeas.

Na literatura científica consultada, não há referências de testes realizados com Tilápia-do-Nilo adultas para escolha do macho pela fêmea com suplementação de Trp, porém, estes resultados concordam com os obtidos no experimento 4 do presente estudo, que revelou preferência de fêmeas juvenis de Tilápia-do-Nilo na escolha por machos suplementados com Trp alimentados com ração R4.

De acordo com Giaquinto (2010), em juvenis de pintado bem alimentados versus pintados com supressão de alimento, as fêmeas preferem machos mais bem alimentados. Já em 2010, Giaquinto, et al. mostraram que fêmeas juvenis de Tilápia-do-Nilo escolhem machos alimentados com alto teor de proteína versus machos alimentados com baixo teor da mesma. Em peixe mosquito, Wyatt (2003) realizou testes de escolha de machos por fêmeas alimentadas com rações ricas

em proteína e pobres em carboidratos (Pc), ou pobres em proteína e ricas em carboidratos (pC), provando que a preferência dos machos em relação às fêmeas está claramente definida por aquelas alimentadas com ração Pc. Segundo Fisher & Rosenthal (2006b), em testes de escolha em *Xiphophorus birchmanni* onde indivíduos dos dois sexos eram bem alimentados ou tinham supressão de alimento, as fêmeas escolheram machos melhor alimentados nos dois casos, sendo as fêmeas famintas as que apresentaram uma diferença estatística marcante sobre a escolha por estes. Isto mostra que as fêmeas em peixes podem realizar escolha de machos de acordo com informações químicas a respeito do seu estado nutricional, sendo assim igualmente evidenciado no presente experimento o qual mostrou escolha por machos alimentados com ração R4.

A resposta das fêmeas pode ter sido influenciada por meio da sinalização química proveniente do metabolito do Trp, a L-Kyneurine (feromônio não hormonal), como demonstrado no salmão masu (*Onchorhynchus masou*) por Yambe et al. (2007), sendo que uma quantidade picomolar (10^{-14} moles) do metabolito, é suficiente para que os machos percebam a maturação sexual das fêmeas através da comunicação química. Segundo Dapoza (2011), machos suínos suplementados com Trp excretaram Escatol (metabolito do Trp) nas fezes, aumentando o seu odor sexual, facilitando assim a escolha das fêmeas por estes. O anterior sugere a probabilidade de que machos adultos da Tilápia-do-Nilo tenham excretado um metabolito semelhante, chamando a atenção das fêmeas através da comunicação química.

CONCLUSÃO

Fêmeas adultas de Tilápia-do-Nilo preferem machos que consomem ração suplementada com Triptofano em 1,28%, 4 vezes o valor recomendado para a espécie com uma latência mínima, demonstrando que a sinalização química foi altamente recepcionada por elas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAPOZA, C. **Porcicultura.com pecuarios**. Online, México, 2abr.2011. El Triptofano en la nutrición porcina. Disponível em: http://www.ganaderia.com.mx/porcicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=680 Acesso em: 9ago.2014.
- FEIJO, F.M.; BERTOLUCI, M.C.; REIS, C. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v.57, n.1, p.74-77, 2011.
- FISHER, H.S.; ROSENTHAL, G.G. Hungry females show stronger mating preferences. **Behavioral Ecology**, v.17, p.979-981, 2006b.
- GIAQUINTO, P.C. Female pintado catfish choose well-fed males. **Behaviour**, v.147, p.319–332, 2010.
- GIAQUINTO, P.C.; BERBERT, C.M.S.; DELICIO, H.C. Female preferences based on male nutritional chemical traits. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.64, p.1029-1035, 2010.
- GONÇALVES-DE-FREITAS, E. et al. Effect of water renewal on dominance hierarchy of the Nile tilapia. **Applied Animal Behaviour Science**, v.112, p.187-195, 2008.
- GONÇALVES-DE-FREITAS, E. et al. Sexual selection and social hierarchy in fishes. **Oecol. Bras.**, v.13, n.1, p.80-88, 2009.
- GOUVEIA, A. JR.; MAXIMINO, C.; BRITO, T.M. 2006. **Comportamento de peixes: Vantagens e utilidades nas neurociências**. Bauru: Faculdade de Ciencias, UNESP, 2006. 80p.
- LEPAGE, O. et al. Time course of the effect of dietary L-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p.3589-3599, 2003.
- LILLESAAR, C. The serotonergic system in fish. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v.41, p.294–308, 2011.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, D.C.: The National Academic Press, 2011.
- ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no exercício físico. **Arq Bras Endocrinol .**, São Paulo, v.48, n.2, p.227-233, 2004.

SAS (SAS Institute Inc, US). 2008. SAS/STAT® User's guide: Statistics. Version 9.2. Cary, NC. 7600p, 2008.

SCHIMDT-NIELSEN, K. Alimento e energia In: **Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente**. Editora Santos. Rio de Janeiro. p. 129-164, 2002.

WAGNER, W.E. JR. Measuring female mating preferences. **Animal Behav.**, v.55, p.1029-1042, 1998.

WARD, A.J.W.; HERBET-READ, J.E.; SIMPSON, S.J. Diets and decisions: the potential use of food protein cues in dietary, sexual and social decisions by mosquitofish. **Animal Behav.**, v.82, p.783-790, 2011.

YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H., SUZUKI, N., 2003. Effect of water temperature and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (Cyprinus carpio). **Aquaculture**, v.220, p.655-666, 2003.

YAMBE, H. et al. L-Kynurenine, an amino acid identified as a sex pheromone in the urine of ovulated female masu salmon. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 103, n. 42, p. 5370-5374, 2006.

VI. CONCLUSÃO GERAL

A Tilápia-do-Nilo na fase juvenil regula o consumo de Triptofano quando ofertado em duas rações com diferentes níveis, auto-balanceando em 0,84% Trp da dieta beneficiando o consumo de alimento, ganho de peso e comprimento e conversão alimentar.

A Tilápia-do-Nilo na fase reprodutiva regula o consumo de Triptofano quando ofertado em duas rações com diferentes níveis do aminoácido, auto-balanceando em 0,82% da dieta, mostrando que níveis acrescentados mas não excessivos do aminoácido na ração beneficiam o ganho de peso dos mesmos.

A Pirapitinga auto-balanceia o consumo de Triptofano na dieta, apresentando melhor desempenho produtivo com 0,80% do aminoácido na ração, valor próximo dos resultados obtidos pela Tilápia-do-Nilo nas fases juvenil e reprodutiva.

A suplementação de machos de Tilápia-do-Nilo com 1,28% de Triptofano na ração beneficia a escolha das fêmeas por estes nas fases juvenil e reprodutiva.

Estudar o comportamento alimentar dos peixes testando a capacidade que eles possuem de auto-balancear a sua dieta por meio da livre escolha pode trazer informações adicionais e mais precisas quanto às suas exigências nutricionais.

VII. IMPLICAÇÕES

Considerando os valores obtidos na espécie Tilápia-do-Nilo, mostra-se que há uma propriedade funcional do aminoácido Triptofano em 0,84% e 0,82% da ração para animais juvenis e adultos respectivamente, estimulando as respostas de auto-balanceamento da ração, devendo ainda pesquisar mais a respeito dos efeitos do aminoácido sobre o desempenho produtivo e sobre o comportamento social e reprodutivo (escolha sexual). O anterior sugere pesquisas desde variáveis fisiológicas relacionadas com o bem-estar animal (cortisol e glicemia, entre outros) visando uma melhora nos parâmetros produtivos e reprodutivos em peixes.

Em Pirapitinga, apesar de ainda não ter sido estabelecido o requerimento do Triptofano, as respostas à seleção de alimento que tiveram melhor conversão alimentar estiveram próximas da Tilápia-do-Nilo (0,80% Trp na ração), sendo estas aproximadamente de 2,5 vezes o requerimento da maioria de espécies de peixes estudadas até agora. Isto sugere pesquisas na área de nutrição de Pirapitinga visando uma nutrição mais equilibrada de acordo com as necessidades mostradas em testes de auto-balanceamento de nutrientes pela própria espécie.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMAIDA-PAGÁN, P.F. et al. Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpsnout seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. **Physiol. Behav.**, v.88, p.550-558, 2006.

ALMEIDA, O.G. et al. Urine as a social signal in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Chemical Senses**, v.30, p.209-310, 2005

ANDRIGUETTO, J.M. et al. **Nutrição animal - As Bases e os Fundamentos da Nutrição Animal. Os alimentos**. 6ª Edição. Vol.1. São Paulo: NOBEL, 1999. 365p.

BERCHIELLI, A.G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 301p.

BIZARRO, Y.W.S. **Efeito do Fotoperíodo na Glicemia, Cortisol, Parâmetros Hematológicos e nos índices reprodutivos de machos de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2013. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

BOTERO, M. Comportamiento de los peces en la búsqueda y la captura del alimento. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.17, n.1, 2004.

BORDINHON, A.M. **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**. 2008. 63f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BROWN, G.E.; BROWN, J.A. Kin discrimination in salmonids. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.6, n.2, p.201-219, 1996

CASTRO, A.L.S. et al. Visual communication stimulates reproduction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.42, p.368-374, 2009.

COLDEVELLA, I.J.; BESOLD, C.; FIORI, L.N. Reprodução e criação da Tilápia-do-Nilo. In: BARCELLOS, L.J.G.; FAGUNDES, M. **Policultivo de jundiás, tilápias e carpas: Uma alternativa de produção para piscicultura rio-grandense**. Passo Fundo: Associação brasileira das editoras universitárias. Segunda edição, 2012. p.180-196.

DAPOZA, C. **Porcicultura.com pecuarios**. Online, México, 2abr.2011. El Triptofano en la nutrición porcina. Disponível em: http://www.ganaderia.com.mx/porcicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=680 Acesso em: 9ago.2014.

FEIJO, F.M.; BERTOLUCI, M.C.; REIS, C. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v.57, n.1, p.74-77, 2011.

FISHER, H.S.; ROSENTHAL, G.G. Female swordtail fish use chemical cues to select well-fed mates. **Animal Behaviour**, v.72, p.721–725, 2006a.

FISHER, H.S.; ROSENTHAL, G.G. Hungry females show stronger mating preferences. **Behavioral Ecology**, v.17, p.979-981, 2006b.

FORTES-SILVA, R. et al 2010. Daily feeding patterns and self-selection of dietary oil in Nile tilapia. **Aquacul. Res.**, v.42, p.157-160, 2010.

FRADE, P. et al. Olfactory sensitivity of the Mozambique tilapia to conspecific odours. **Journal of Fish Biology**, v.61, p.1239-1254, 2002.

FREITAS-PINHEIRO, S.R. et al. Efeito dos níveis de Triptofano digestível em dietas para codornas japonesas em postura. **R. Bras. Zootec.**, v.37, n.6, p.1012-1016, 2008.

FURUYA, W.M. et al. 2013. Exigências nutricionais e alimentação da Tilápia. In: NUTRIAQUA. Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. **Aquabio**, Florianópolis, 2013. p.255-268.

GALVIS, G. et al. **Peces del medio amazonas región Leticia**. Serie de guías tropicales de campo No. 5. Conservación Internacional, Ed. Panamericana: Formas e impresos. Bogotá, Colombia, 2006. 548pp.

GIAQUINTO, P.C. Female pintado catfish choose well-fed males. **Behaviour**, v.147, p.319–332, 2010.

GIAQUINTO, P.C.; BERBERT, C.M.S.; DELICIO, H.C. Female preferences based on male nutritional chemical traits. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.64, p.1029-1035, 2010.

GIAQUINTO, P.C.; HOFFMANN, A. Role of olfaction and vision cues in feeding behavior and alarm reaction in the catfish pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*. **Journal of Ethology**, v.28, p. 21-27, 2010.

GIAQUINTO, P.C.; VOLPATO, G.L. Chemical cues related to conspecific size in pintado catfish *Pseudoplatystoma corruscans*. **Acta Ethol**, v.8, p.65-69, 2005.

GIAQUINTO, P.C.; VOLPATO, G.L. Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. **Physiology & Behavior**, v.62, p.1333-1338, 1997.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E. et al. Effect of water renewal on dominance hierarchy of the Nile tilapia. **Applied Animal Behaviour Science**, v.112, p.187-195, 2008.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E. et al. Sexual selection and social hierarchy in fishes. **Oecol. Bras.**, v.13, n.1, p.80-88, 2009.

GOUVEIA, A. JR.; MAXIMINO, C.; BRITO, T.M. 2006. **Comportamento de peixes: Vantagens e utilidades nas neurociências**. Bauru: Faculdade de Ciências, UNESP, 2006. 80p.

GUILLAUME, J. et al. **Nutrición y alimentación de peces y crustáceos**. Madrid: Mundi prensa, 2004. 475p.

JORDÃO, L.C.; VOLPATO, G.L. Chemical transfer of warning information in non – injured fish. **Behaviour**, v.137, p.681-690, 2000.

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

HOSHIBA, M.A. **Influência do triptofano, da fluoxetina e da paraclorofenilalanina no desenvolvimento inicial e na sobrevivência de larvas de matrinxã**. 2011. 116 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

KAISER, M. J., HUGHNES, R. N. Factors affecting the behavioral mechanisms of 13 diet selection in fishes. **Marine Behavioral Physiology**. v.23, p.105-118, 1993

KUBITZA, F. Tilápia: **Tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí, SP, Brasil, 2000. 285p.

LARANJA, J.Q.L. JR et al. Effects of dietary L-tryptophan on the agonistic behavior, growth and survival of juvenile mud crab *Scylla serrata*. **Aquaculture**, v.310, p.84–90, 2010.

LEPAGE, O. et al. Time course of the effect of dietary L-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p.3589-3599, 2003.

LEPAGE, O. 2004. **Dietary L-tryptophan suppresses aggression and stress responsiveness in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): the role of brain serotonin and plasma melatonin**. 2004. 55f. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Sciences and Technology, Uppsala University, Uppsala.

LILLESAAR, C. The serotonergic system in fish. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v.41, p.294–308, 2011.

MIRANDA, A. et al. Olfactory discrimination of female reproductive status by male tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Journal of Experimental Biology**, v.208, p.2037-3043, 2005.

MIRZA, R.S.; CHIVERS, D.P. Do juvenile yellow perch use diet cues to assess the level of threat posed by intraspecific predators?. **Behaviour**, v.138, p1249-1258, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Fish and Schrimp**. Washington, D.C.: The National Academic Press, 2011.

PEGANOVA, S.; EDER, K. Interactions of various supplies of isoleucine, valine, leucine e tryptophan on the performance of laying hens. **Poultry Science**, v.82, n.1, p.100-105, 2003.

PEGANOVA, S.; HIRCHE, F.; EDER, K. Requirement of tryptophan in relation to the supply of large neutral amino acids in laying hens. **Poultry Science**, v.82, n.5, p.815-822, 2003.

PEREIRA DA SILVA, E.M. et al. Regulação da ingestão proteica na Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **R. Bras. Zootec.**, v.33, n.6, p.1921-1927, 2004.

PEREIRA DA SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Respostas da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) á atratividade e palatatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes. **R. Bras. Zootec.**, v.29, n.5, p.1273-1280, 2000.

PEREIRA DA SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Comportamento alimentar da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) frente a diferentes ingredientes alimentares. **Acta Scientiarum**, v.21, n.2, p.297-301, 1999.

QUINTERO, L.G.P; PARDO, B.S.G; QUINTERO, A.M.C.P. Manual técnico para la producción de peces de consumo a pequeña y mediana escala en el Departamento de Cundinamarca. Bogotá: Produmedios, 2011. 92p

ROSSI, L.; TIRAPGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no exercício físico. **Arq Bras Endocrinol** ., São Paulo, v.48, n.2, p.227-233, 2004.

ROSSI, F.; VIDAL, M.V. Centro de produções técnicas. **Criação de tilápias**. Serie Criação de tilápias: manual de capacitação. Viçosa, 2008.150p.

SAS (SAS Institute Inc, US). 2008. SAS/STAT® User's guide: Statistics. Version 9.2. Cary, NC. 7600p, 2008.

SISLER, S.P.; SORENSEN, P.W. Common carp and goldfish discern conspecific identity using chemical cues. **Behaviour**, v.5, n.10, p.1409-1425, 2008.

VASQUEZ-TORRES, W. 2005. A Pirapitinga, reprodução e cultivo. In: VALDICCIEROTTO, V; CARVALHO-GOMES, L. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Ed. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, Brasil, 2005. p.203-221.

VASQUEZ-TORRES, W. **Exigências de proteína, gordura e carboidratos em dietas para crescimento de juvenis de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*)**. 2001. 74f. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

WAGNER, W.E. JR. Measuring female mating preferences. **Animal Behav.**, v.55, p.1029-1042, 1998.

WARD, A.J.W.; HERBET-READ, J.E.; SIMPSON, S.J. Diets and decisions: the potential use of food protein cues in dietary, sexual and social decisions by mosquitofish. **Animal Behav.**, v.82, p.783-790, 2011

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

WOLKERS, C.P.B. et al. Dietary L-tryptophan alter aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. **Fish Physiol Biochem**, v.38, p.819-827, 2012.

WYATT, T.D. **Pheromones and Animal Behavior: communication by smell and taste**. Cambridge University Press. 2003, 391p.

YAMBE, H. et al. L-Kynurenine, an amino acid identified as a sex pheromone in the urine of ovulated female masu salmon. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 103, n. 42, p. 5370-5374, 2006.

IX. APÊNDICE

Tabela I. Composição percentual das rações experimentais (base na matéria natural) com níveis crescentes de Triptofano										
Ingrediente / Nutriente	Unidade	Exige	Níveis de Triptofano na ração							
			0,32%(Rc)	0,64%(R2)	1,28%(R4)	1,92%(R6)	2,56%(R8)			
			32	32	32	32	32	32	32	
Proteína Bruta (PB)	%	32	3886	3886	3886	3886	3886	3886	3886	3886
Energia Bruta (EB)	Kcal/kg		3886	3886	3886	3886	3886	3886	3886	3886
Energia Digestível (ED)*	Kcal/kg	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Fibra Bruta (FB)	%	6	5,06	4,75	4,44	4,14	3,83			
Extrato Etéreo (EE)	%	6	5,17	5,17	5,17	5,17	5,17	5,17	5,17	5,17
Amido	%	20	24,78	24,78	24,78	24,78	24,78	24,78	24,78	24,78
Cálcio (Ca)	%	1,4	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66
Fósforo (P) Total	%	0	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14
P Disponível	%	0,7	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Sódio	%	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Cinza	%	12	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4
Ácido Linoleico (n6)	%	1	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03
Ácido Linolênico (n3)	%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Lisina	%	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64
Arginina	%	1,34	2,01	2,01	2,01	2,01	2,01	2,01	2,01	2,01
Histidina	%	0,55	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Isoleucina	%	1	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Leucina	%	1,08	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06
Metionina	%	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
Metionina + Cistina	%	1,03	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31
Cistina	%	0,17	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Fenilalanina	%	1,2	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Fenilalanina + Tirosina	%	1,77	2,72	2,72	2,72	2,72	2,72	2,72	2,72	2,72
Tirosina	%	0,57	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
Treonina	%	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Triptofano	%	0,32	0,32	0,64	1,28	1,92	2,56			
Valina	%	0,9	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45
Vitamina C	%	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Vitamina Colina	%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04

Tabela II. Formulação e composição das rações experimentais – Ingredientes para 1 quilograma de ração.						
Ração / ingrediente (gramos)	Níveis de Triptofano na ração					
	0,32%(Rc)	0,64%(R2)	1,28%(R4)	1,96%(R6)	2,56%(R8)	
Carne e Ossos, Farinha (41%)	120	120	120	120	120	120
Soja, Farelo (45%)	392,55	392,55	392,55	392,55	392,55	392,55
Milho, Far. Gluten (60%)	107,15	107,15	107,15	107,15	107,15	107,15
Milho	294,3	294,3	294,3	294,3	294,3	294,3
Óleo, Peixe	18,62	18,62	18,62	18,62	18,62	18,62
Óleo, Soja	0	0	0	0	0	0
L- Lisina HCL	1,739	1,739	1,739	1,739	1,739	1,739
DL-Metionina	3,497	3,497	3,497	3,497	3,497	3,497
L-Treonina	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
L- triptofano	0	3,267	9,801	16,336	22,87	
L-Valina	0	0	0	0	0	0
Fosfato bicalcico	0	0	0	0	0	0
Calcáreo (CaCO3)	8,904	8,904	8,904	8,904	8,904	8,904
BHT Antioxidante	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Premix	5	5	5	5	5	5
Sal	3,425	3,425	3,425	3,425	3,425	3,425
Vitamina C (35%)	0,714	0,714	0,714	0,714	0,714	0,714
Cloruro Colina (70%)	0,574	0,574	0,574	0,574	0,574	0,574
Carboxi metil celulose (CMC)	20	20	20	20	20	20
Celulose	22,87	19,603	13,069	6,534	0	0
SOMA	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Tabela III. Resumo experimentos Dissertação: Influência da ingestão do Triptofano dietético sobre a preferência na escolha do macho pela fêmea e auto-balanceamento da dieta e desempenho zootécnico em Tilápia-do-Nilo e Pirapitinga												
No. EXP.	ESPECIE	LOCAL DO EXPERIMENTO	OBJETIVOS EXPERIMENTO	ANIMAIS OBTIDOS	ANIMAIS EXPERIMENTAIS	VOLUME AQUARIOS EXPERIMENTAIS	PESO INICIAL (gr)	ALIMENTO SUMINISTRADO (% PV)	TRATAMENTOS - TESTES	RÉPLICAS	COLETA DE DADOS (dias)	RESULTADOS
1	TN - Juvenis	Lab Fisiologia e Comportamento - Botucatu	Auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo	80 px (30 a 80g)	30 peixes	Tanques 500L (20px/cada) -Aq. Indiv. de 23L	39,69 a 40,96	2% total, 1% a cada racao	2 tratamentos: RcXR4; RcXR8	15 = 30 peixes	17	Auto-balanceamento de consumo de Trp em 0,84% da racao (5,51mg/dia - 2,62 vezes as exigencias)
2	TN - Adultos	Lab. Ictiologia y peces Ornamentales - Unal	Auto-balanceamento e consumo alimentar	45 px (160 a 300g)	24 peixes	90L Aq. indiv.	232,53 a 246,56	2% total, 1% a cada racao	4 tratamentos: RcXR2; RcXR4; RcXR6; R2XR4	6 = 24 peixes	10	Auto-balanceamento de consumo de Trp em 0,82% da racao (27,33 mg/dia -2,56 vezes as exigencias)
3	Pirapitinga Juvenis	Lab. Ictiologia y peces Ornamentales - Unal	Auto-balanceamento, consumo alimentar e desempenho produtivo	100 px (45 a 50g)	28 peixes	90L Aq. indiv.	46,99 a 47,59	4% total, 2% a cada racao	4 tratamentos: RcXRc; RcXR2; RcXR4; RcXR6	7 = 28 peixes	14	Auto-balanceamento de consumo de Trp em 0,80% da racao (20,69 mg/dia -2,50 vezes as exigencias para TN)
4	TN - Juvenis	Lab Fisiologia e Comportamento - Botucatu	Escolha do macho pela fêmea	150 px (30 a 80g)	90 peixes: 30 fêmeas, 60 machos	Tanques 500L (20px/cada) - Aq. Indiv. de 23L	54,43 a 80,4	2% total	10 testes: RcXR2; RcXR4; RcXR6; RcXR8; R2XR4; R2XR6; R2XR8; R4XR6; R4XR8; R6XR8	3 replicas por tratamento / 30 testes	10	Machos com suplementacao 1,28% Trp (4 vezes as exigencias para a especie)
5	TN - Adultos	Lab. Ictiologia y peces Ornamentales - Unal	Escolha do macho pela fêmea	90 px (160 a 300 g)	54 peixes: 18 fêmeas y 36 machos	90L Aq. indiv.	238,08 a 257,19	2% total	6 testes: RcXR2; RcXR4; RcXR6; R2XR4; R2XR6; R4XR6	3 replicas por tratamento / 18 testes	10	Machos com suplementacao 1,28% Trp (4 vezes as exigencias para a especie)