



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**AUTO-SELEÇÃO DE DIETA PARA TAMBACUI (*Colossoma macropomum*)**

**EDUARDO CÉSAR TEIXEIRA NASCIMENTO FILHO**

**SALVADOR - BA**

**JUNHO - 2015**

**EDUARDO CÉSAR TEIXEIRA NASCIMENTO FILHO**

**AUTO-SELEÇÃO DE DIETA PARA TAMBACUI (*Colossoma  
macropomum*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva  
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Vítor Oliveira Vidal

**SALVADOR – BAHIA**

**JUNHO – 2015**

**Eduardo César Teixeira Nascimento Filho**

**AUTO-SELEÇÃO DE DIETA PARA TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 30 de Junho de 2015

Comissão Examinadora:

---

Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal  
UFBA  
Presidente

---

Dr. Ricardo Castelo Branco Albinati  
UFBA

---

Dra. Denise Soledade  
UFRB

**SALVADOR**

**JUNHO – 2015**

Aos

meus pais Eduardo César Teixeira Nascimento  
e Maria Luiza Campos Borges Nascimento  
que são minha casa, minha paz, minha igreja  
e o meu Deus.

A

meu irmão Bruno da Silva Nascimento,  
pela alegria trazida a nossa família.

A

minha Voíinha, Luzia Maria Teixeira Nascimento  
por quem tenho um amor único,  
e por ter se doado da  
maneira mais carinhosa à minha vida.

A

minha esposa Estela Maria Moreira Gregório Teixeira  
companheira, força dos meus momentos de fraqueza,  
e ternura que faz com que eu tenha uma  
“Vida Doce”.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal da Bahia – UFBA, pela oportunidade oferecida de ingressar no Programa de Mestrado em Zootecnia.

Aos professores da Pós-graduação em Zootecnia, pela importante contribuição na minha formação.

A Bahia Pesca S.A., por todo o suporte oferecido no que diz respeito a estrutura, equipamentos, insumos, além de oportunizar o meu ingresso no mestrado.

Ao professor Dr. Rodrigo Fortes da Silva pela orientação e ensinamentos, proporcionando a percepção de uma forma diferente de enxergar a ciência.

Ao professor Dr. Ricardo Castelo Branco Albinati, pela solicitude, preocupação em todas as vezes em que foi requisitado.

Ao professor Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal, por compartilhar seus conhecimentos em nutrição na aquicultura.

Ao senhor João Lúcio Pimenta de Mattos, por ter se deslocado de Minas, e ter construído a estufa que possibilitou o meu experimento e de outros tantos que virão, além da amizade fantástica de criamos durante os dias de labuta, e por tudo que não conseguiria escrever em um simples texto.

Ao gerente da Fazenda experimental Oruabo da Bahia Pesca S.A, José Jerônimo de Souza Filho, pelo incentivo, pelos ensinamentos e por tornar minha jornada acadêmica menos dolorosa.

Aos amigos lotados na sede da Bahia Pesca, José Luiz Sanches Júnior, um verdadeiro irmão que encontrei nesta empresa, Bruno Falcão e Eduardo Rômulo Rodrigues.

Aos amigos lotados na Fazenda Oruabo, Carlos Eduardo Lima, Reginaldo Santos, Willes Bispo, Milton “Dedinho”, Welinton “Gago” e a todos os funcionários da fazenda.

Aos amigos da UFBA, Ricardo Uriel, Bartira Guerra, Alexinaldo Plessim, e em especial a Bruno Olivetti de Mattos, por toda dedicação em me ajudar em praticamente em tudo que eu poderia ser ajudado, de fato eu não chegaria tão próximo de obter o título de mestre sem ele.

A todos os componentes do AquaUFRB, Denise, Alice, Mara, Alisson, Yane, Silvan, Mariana, Charle, e em especial a Jéssica pelos esforços lá no início com o bijupirá,

ao Kayck que nem bem entrou no curso de Engenharia de Pesca, mas se mostrou bem proativo e segurou as pontas no experimento, e a Aline, que desde o princípio até o final esteve acompanhando os trabalhos.

Ao Edmilson da jardinagem da UFRB, pela cordialidade e por ter disponibilizado todas as ferramentas necessárias para a construção da estufa.

## Auto-seleção de dieta para tambaqui (*Colossoma macropomum*)

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi investigar a capacidade do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em compor uma dieta equilibrada utilizando mecanismos de percepção pós ingestivas, além de avaliar o consumo energético após desafios nutricionais como a diluição e restrição de proteína. O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Peixes na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, durante o período de março a abril de 2015. Foram utilizados 30 juvenis de *Colossoma macropomum* ( $71,37 \text{ g} \pm 2,58$ ). Os juvenis foram distribuídos em seis tanques de 250L, cinco peixes por tanque. Foram formuladas três dietas contendo ingredientes purificados, de modo que, apenas um macronutriente fosse presente em cada composição: proteína (P) ou carboidrato (C) ou lipídio (L). Estas dietas foram encapsuladas em capsulas de cores distintas, onde os peixes tinham a opção de apenas associar o código de cores com as questões pós ingestivas das dietas. O período experimental foi composto por três etapas: etapa 01 - macronutrientes puros; etapa 02 – proteína diluída em 15%; etapa 03 - restrição de proteína. Todas essas etapas tiveram o intuito de oferecer um desafio nutricional e avaliar a capacidade dos peixes em compor uma dieta equilibrada. Os dados obtidos foram analisados usando um one-way ANOVA e teste de Tukey post hoc para examinar comparações de pares significativos. A evolução da seleção de macro nutrientes foi expressa considerando o total de P, C e L como 100%, de dieta total. Durante a primeira etapa os peixes selecionaram uma dieta contendo em média 46,19% de proteína (P); 32,91% de carboidrato (C); 20,90% de lipídio (L). Na segunda fase a dieta de proteína foi diluída em 15%, entretanto a ingestão proteica foi mantida, pelo aumento da ingestão da dieta diluída. Dessa forma os peixes mantiveram a porcentagem de seleção entre os nutrientes. Contudo, foi observado que os peixes diminuíram o consumo energético ao final do experimento, provavelmente devido aos animais estarem em um estágio de desenvolvimento. A média de seleção de macronutrientes entre as etapas 1 e 2 tiveram a seguinte conformação: 45,36% P; 33,32% C; 21,32% L representando o alvo de ingestão para essa espécie. Não houve diferença estatística entre as fases. Durante a terceira etapa os peixes foram privados de se alimentarem da cápsula de proteína, contudo, demonstraram a capacidade de manter o consumo energético da etapa anterior, incrementando o consumo das dietas ricas em carboidrato e lipídio. Estes dados, revelam a capacidade do tambaqui em selecionar macronutrientes compondo uma dieta equilibrada atendendo suas necessidades fisiológicas, além de defender um padrão de ingestão quando desafiados com a diluição de proteína.

**Palavras Chaves:** comportamento alimentar; restrição de macronutrientes; seleção de macronutrientes.

## Self-selection of diet for tambaqui (*Colossoma macropomum*)

### ABSTRACT

This work aims to investigate the ability of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in composing a balanced diet using post ingestive perception mechanisms, and to evaluate the energy consumption following nutritional challenges such as protein dilution and restriction. The experiment was carried out in the Fish Nutrition and Feeding Behavior Laboratory at Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, during the period from March to April 2015. A total of 30 juvenile *Colossoma macropomum* ( $71.37 \text{ g} \pm 2.58$ ) were used. Juveniles were distributed in six 250-liter tanks, five fish per tank. Three diets containing purified ingredients were formulated, so that only one macronutrient was present in each composition: Protein (P) or carbohydrate (C) or lipid (L). These diets were encapsulated in capsules of different colors, where the fish had the option to only associate the color code to the diet's post feeding behavior issues. The experimental period was composed by three stages: stage 01 - pure macronutrients; stage 02 - dilute protein at 15%; stage 03 - protein restriction. All these stages were designed to offer a nutritional challenge and assess the fish's ability to compose a balanced diet. Data were analyzed using a one-way ANOVA and post hoc Tukey test to examine comparisons of significant peers. The evolution on the selection of macro nutrients was expressed considering the total P, C and L as 100%, of the total diet. During the first stage the fish selected a diet containing on average 46.19% of protein (P); 32.91% carbohydrate (C); 20.90% lipid (L). In the second phase protein diet was diluted by 15%; however the protein intake was maintained by increasing intake of diluted diet. Thus the fish kept the percentage of selection between nutrients. However, it was observed that fish decrease the energy consumption at the end of the experiment, probably because the animals are in a developmental stage. The average macronutrient selection between steps 1 and 2 had the following conformation: 45.36% P; 33.32% C; 21.32% L representing the intake target for this species. There was no statistical difference among the stages. During the third stage the fish were deprived of the protein capsule but they demonstrated the ability to maintain energy consumption from the previous stage, increasing the consumption of diets rich in carbohydrates and lipids. These data reveal the tambaqui's ability to select macronutrients composing a balanced diet given their physiological needs, in addition to defending a feeding pattern when challenged with protein dilution.

**Key words:** feeding behavior; macronutrient restriction; selection of macronutrients.



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>11</b>
2.1. COMPORTAMENTO ALIMENTAR .....	11
2.2. REGULAÇÃO DE INGESTÃO EM PEIXES .....	12
2.3. METODOLOGIAS UTILIZADAS PARA AUTO SELEÇÃO DE DIETAS POR PEIXES .....	15
2.3.1. Método de auto demanda .....	15
2.3.2. Metodologia de encapsulamento de dietas.....	15
2.4. SELEÇÃO DE NUTRIENTES .....	17
2.5. TAMBAQUI ( <i>COLOSSOMA MACROPOMUM</i> ) .....	21
2.6. BEM ESTAR .....	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
3.1. ACONDICIONAMENTO DOS ANIMAIS .....	25
3.2. DIETAS EXPERIMENTAIS.....	26
3.2.1. Encapsulação das dietas .....	27
3.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	27
3.3.1. Etapa 1 (Seleção de macronutrientes) .....	28
3.3.2. Etapa 2 (Diluição da proteína) .....	29
3.3.3. Etapa 3 (Restrição da proteína) .....	29
3.3.4. Análise dos dados.....	29
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>36</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>37</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Ao elaborar dietas comerciais, normalmente são levados em consideração de uma maneira geral, apenas questões referentes ao baixo custo de fontes alimentares e de maior desempenho em peso e comprimento, estabelecendo intervalos de níveis de diversos nutrientes ou energéticos em uma dieta fixa, ignorando componentes importantes como aceitabilidade da dieta pelos animais. Volpato, (2007), sugere que a necessidade de se obter mais informações sobre as questões que envolvem o animal e sua relação com o alimento, como por exemplo a capacidade de regulação e seleção de nutrientes. A quantidade ideal de nutrientes que o animal deve ingerir para atender suas necessidades é denominado alvo de ingestão. (SIMPSON e RAUBENHEIMER, 2001). Para entender os mecanismos que envolvem a regulação da ingestão de nutrientes separadamente, Simpson e Raubenheimer (2001), propuseram um estudo multidimensional onde os peixes possuem uma “regra de compromisso”, para regular a ingestão de dietas não equilibradas. Neste estudo, foi possível observar o alvo de ingestão dos macronutrientes, como proteína, carboidratos como pontos isolados no espaço, e dessa forma visualizar o alvo nutricional para cada nutriente.

Vários estudos têm demonstrado que os peixes possuem capacidade de compor uma dieta equilibrada a partir da ingestão de macronutrientes puros (SANCHEZ-VAZQUEZ 1999; MONTOYA, 2012). Essa capacidade também é chamada de “sabedoria nutricional” (WHITE et al., 2000; FORBES, 2001). Por exemplo, O *Solea senegalensis*, que é um peixe carnívoro, é capaz de selecionar dietas contendo 68% de proteína (P), 16,3 % de carboidrato (C) e 15,7 % de lipídio (L) (RUBIO et al., 2009), enquanto a tilápia que é onívora, prefere uma dieta com a seguinte composição 45,4% P, 32,2% C, 22,4% L (FORTES-SILVA et al., 2011a).

O Tambaqui (*Colossoma macropomum*), é a espécie nativa mais cultivada no Brasil com uma produção de 111.084,1 toneladas em 2011 e um crescimento de 139% de 2009 a 2011 (BRASIL, 2013). É um peixe preferencialmente onívoro frugívoro e filtrador planctófago, oriundo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (ZANIBONI FILHO e MEURER, 1997; CAMARGO et al, 1998; VIDAL JÚNIOR et al.1998, além do que, apresentando peculiaridades quanto a utilização de nutrientes das dietas por ter uma alta capacidade de acumulação de lipídios na carcaça (CAMARGO et al, 1998)

Investigações sobre a seleção de nutrientes e sua relação com o equilíbrio energético em peixes ainda são poucas apesar da importância da compreensão do comportamento alimentar, regulação da ingestão, requerimentos nutricionais desses animais, sobretudo se considerarmos as investigações direcionadas aos peixes de regiões tropicais e subtropicais que ainda são incipientes. Deste modo faz-se necessário estudos voltados para espécies de peixes de águas quentes permitindo a comparação dos resultados de auto-seleção e dos demais comportamentos dos peixes das regiões temperadas. Portanto o tambaqui é uma espécie interessante tanto do ponto de vista científico já que nenhuma espécie frugívora foi avaliada, quanto do ponto de vista comercial prático, dada a sua importância no cenário aquícola e as demandas de informações que forneçam subsídios para elaboração de dietas que sejam mais eficientemente aproveitadas pelos peixes.

O objetivo do presente trabalho foi investigar a capacidade do tambaqui em compor uma dieta balanceada, utilizando mecanismos de percepção pós ingestivas das características sensoriais do alimento, além de avaliar o consumo energético após desafios nutricionais como a diluição e restrição da dieta proteica.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Comportamento alimentar**

Ingestão de alimentos, hábitos alimentares e de alimentação, mecanismos de detecção de alimentos, preferência alimentar e frequência de alimentação são fatores que estão intimamente correlacionados com o complexo comportamento alimentar, que tem sido extensivamente estudado a partir de dois pontos de vista: Ecológico e comportamental (VOLKOFF e PETER, 2006). Os hábitos alimentares variam de peixes herbívoros e detritívoros, para carnívoros predatórios, em uma ampla gama de habitats ecológicos. Em aspectos de variabilidade na ecologia alimentar, existem espécies de peixes generalistas, outras são extremamente especializadas e algumas são oportunistas (GERKING, 1994). Por conta dessas variedades de hábitos alimentares e padrões de alimentação, os peixes se tornam excelentes modelos experimentais para o estudo da regulação do comportamento alimentar. (VOLKOFF e PETER, 2006)

Os animais desenvolveram uma grande diversidade de meios de aquisição, processamento e utilização de alimentos, conforme a necessidade de ingestão de uma dieta que contenha diferentes tipos de moléculas de nutrientes que permitam a sobrevivência, o crescimento e a reprodução (SIMPSON e RAUBENHEIMER, 2001). Tais capacidades só se fazem possíveis através de experiências anteriores dos animais com os alimentos disponíveis no meio. Forbes, (2001) relatou que a memorização de experiências positivas e negativas em relação ao alimento permitem que o animal associe uma percepção anterior do alimento com sua necessidade imediata dos mesmos.

Segundo Simpson e Raubenheimer, (2001), para um animal que se adaptou a utilizar um único alimento como fonte de todos os nutrientes imprescindíveis, é necessário apenas regular a quantidade de ingestão desse alimento para assegurar uma regulação nutricional, entretanto, um animal que evoluiu num ambiente heterogêneo, composto por vários alimentos de composições variadas, pode ser capaz de misturar e selecionar uma dieta ideal, regulando o montante total comido ao longo do tempo e alternar frequentemente entre alimentos. Os nutrientes que serão regulados, dependerão da sua importância metabólica para o animal, a natureza da correlação entre os nutrientes

que ocorrem dentro e entre os alimentos, e a extensão na qual os nutrientes são Inter convertíveis uma vez ingeridos. (SIMPSON e RAUBENHEIMER, 2001).

Um animal será forçado a ingerir alguns nutrientes em excesso ou em falta, frente aos seus requerimentos, caso a sua alimentação seja restringida a uma única dieta de composição desequilibrada (SIMPSON e RAUBENHEIMER, 2001), que é o caso da maioria das rações comerciais, que por serem formuladas levando em consideração apenas o desempenho sem levar em consideração a auto seleção de macronutrientes pelos peixes, dificilmente estarão equilibradas de acordo com o alvo nutricional do animal.

## **2.2. Regulação de ingestão em peixes**

A regulação da ingestão alimentar é um mecanismo complexo que envolve interações entres o sistema nervoso central, o trato gastrointestinal e o ambiente. O hipotálamo dos peixes recebe, integra e transmite relevantes sinais internos e externos sendo assim o principal centro regulador desse processo. (NASLUND e HELLSTROM, 2007).

Devido ao consumo de dietas com variados tipos de nutrientes, os animais desenvolveram uma diversidade de estratégias para adquirir, processar e usar os alimentos e destes extrair seus nutrientes. Assim, tornaram-se capazes de selecionar os alimentos de acordo com suas preferências nutritivas e adquiriram a capacidade de regular a ingestão de alimento e de macronutrientes (SIMPSON e RAUBENHEIMER, 2001).

Badman e Flier, (2005), sugeriram que os receptores do trato gastrointestinal detectam os macronutrientes liberados no estômago durante a digestão, ativando nervos e vias endócrinas desencadeando sinais neuro-hormonais, informando os centros cerebrais sobre as propriedades nutricionais dos alimentos, modificando o comportamento alimentar. De acordo com Forbes (2001), além da influência desses fatores, o resultado do aprendizado adquirido sobre as consequências da alimentação prévia também interfere na regulação do consumo de alimentos dos animais. Por exemplo, a quantidade da refeição seguinte e o intervalo entre elas depende do que se tenha aprendido sobre as implicações da alimentação prévia.

As propriedades organolépticas como sabor, cheiro e textura, influenciam diretamente na preferência por um alimento e sua quantidade consumida. Todavia,

segundo Forbes (2001), esses fatores não exercem efeitos prolongados sobre o consumo ou a preferência pelo alimento. Almáida-Pagán et al., (2006) observaram que a composição da dieta final selecionada pelo *Diplodus puntazzo*, em duas metodologias diferentes, foram muito semelhantes, confirmando que a informação a partir dos receptores orofaríngeais não é a única envolvida na regulação da ingestão de alimentos e que os receptores pós ingestivos de fato existem, e que seriam suficientes para a regulação ocorrer.

Distensores do estômago, a concentração de glicose sanguínea, a reserva de gordura corporal e a concentração de aminoácido no plasma, são fatores envolvidos na regulação da ingestão de alimento, agindo de forma integrada. Tais fatores agiriam no sistema nervoso central, regulando a ingestão do alimento e, dessa maneira, a saciedade induzida por sinais viscerais que atingiriam o cérebro, controlando o comportamento alimentar (FORBES, 2001). O hipotálamo, como órgão controlador do consumo de alimento, administra a interação entre o sistema nervoso central, o trato gastrointestinal, além do meio ambiente, sendo o receptor e transmissor dos sinais (NASLUND e HELLSTROM 2007). Fatores neuroendócrinos originados do hipotálamo são reguladores do consumo alimentar dos peixes, tanto estimulando (fatores orexigênicos) quanto inibindo (fatores anorexigênicos) a ingestão de alimentos (KULCZYKOWSKA e SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2010).

Peptídeos, semelhantes aos já encontrados em mamíferos, foram também identificados em peixes. Esses hormônios agem no cérebro, que funcionam como um ponto central de comando responsável por interpretar e integrar os sinais estimuladores e inibidores do apetite (NARNAWARE e PETER 2002). De acordo com Kulczykowska e Sánchez-Vazquez (2010), os neuropeptídeos Y (NPY) e fatores orexígenos, são potentes estimuladores do apetite em peixes.

A expressão gênica de NPY em áreas específicas do cérebro, associada ao controle do comportamento alimentar, pode ter influenciado na seleção da dieta de algumas espécies de peixes, por exemplo, alterando conteúdos de carboidrato e de gordura. Assim, supõe-se que NPY podem estar envolvidos não apenas no controle do consumo alimentar, mas também na escolha de macronutrientes (NARNAWARE; PETER 2002). Também já foram isoladas substâncias inibidoras do apetite de peixes, como anorexigênicos CART, e CCK (colicistoquinina). Essas substâncias já foram identificadas em salmão do atlântico

(*Salmo salar*) (MURASHITA et al., 2009) e *Cyprinus carpio* (WAN et al., 2012). Segundo Rubio (2004), a melatonina fornecida oralmente afetou tanto o consumo alimentar, quanto a seleção de dieta do robalo europeu. Resultados que, segundo o autor, são uma evidência da existência de mediadores neuro-humorais que afetam a seleção de macronutriente em peixes.

A proteína leptina já foi isolada em diversas espécies de peixes, se destacando como um provável fator anorexigênico nesses animais, semelhante à de mamíferos (DE PEDRO, MARTINEZ-ALVAREZ; DELGADO, 2006). Segundo Volkoff (2006), o efeito dessa substância sobre a ingestão alimentar parece ser mediado pela CCK. Outros fatores inibidores do apetite foram identificados em teleósteos, como grelina (VOLKOFF, 2006), bombesina (BBS), hormônio estimulador de melanócito (MSH) (LIN et al., 2000; VOLKOFF et al., 2005). Além dessas moléculas anorexigênicas, a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) está também envolvida no controle do comportamento alimentar de peixes. Em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), sua administração liberou fenfluramina, agente inibidor da ingestão alimentar (RUIBAL, SOENGAS; ALDEGUNDE, 2002). Outras moléculas peptídicas, como neurotransmissores dopamina (DO) e norepinefrina (NE) envolvidos na regulação alimentar em peixes em resposta à situação de fome (DE PEDRO, DELGADO; ALONSO-BEDATE, 2001).

De acordo com Sclafani (2000), além da regulação pós-ingestiva, o papel de fatores sensoriais sobre a regulação da ingestão de alimento deve ser considerado. Tem sido atribuída a participação de mecanismos de aprendizado e processos fisiológicos na regulação da ingestão alimentar. O animal, uma vez consumindo um item alimentar, aprende a associar suas propriedades orosensoriais às suas consequências pós-ingestivas. Deutsch e Heinrichs (1989) consideram que essas associações estabelecidas entre sabor e nutriente podem ser aprendidas por meio de experiência individual influenciada por interações com os pais ou outro tipo de interação.

## **2.3. Metodologias utilizadas para auto seleção de dietas por peixes**

### **2.3.1. Método de auto demanda**

Desenvolvido para testar o comportamento alimentar de trutas na década de 70, o sistema de alimentador de auto demanda criado por Adron, (1973) é utilizado até os dias de hoje com dispositivos parecidos. Neste trabalho, as trutas tiveram que aprender a pressionar uma alavanca que após acionada, enviava corrente elétrica necessária para que o compartimento de armazenamento de ração liberasse o alimento. Algumas adaptações foram feitas ao longo do tempo para possibilitar uma melhor adequação para espécies com hábitos diferentes e para peixes menores que são incapazes de acionar a alavanca. O sensor de estiramento hoje é o mais utilizado, e a forma de acionar o dispositivo foi alterada de modo que possibilita aos peixes puxarem um pedaço de borracha amarrada a um dispositivo por meio de um cabo de aço ou fio de nylon. Em casos onde o peixe não consegue pressionar a alavanca ou puxar a borracha como por exemplo alevinos ou espécies pequenas, são utilizados foto sensores que captam a passagem de peixes em um determinado lugar, para acionar o alimentador.

De acordo com Simpson e Raubenheimer (2001), a técnica de comedouro a demanda é uma prática bem sucedida e aplicável aos estudos de seleção de dietas, sendo uma estratégia importante para investigação da preferência nutricional em peixes. Por meio dessa estratégia, realizaram-se estudos investigando em muitas espécies peixes a habilidade em selecionar dietas com três macronutrientes, proteína, carboidrato e lipídio, em função de seus hábitos alimentares, com a utilização de alimento granulado em forma de pellets.

### **2.3.2. Metodologia de encapsulamento de dietas**

Quando dietas peletizadas são ofertadas a peixes, o primeiro mecanismo de discriminação de macronutrientes é a detecção orofaríngea de características sensoriais do alimento. Segundo Almáida-Pagán et al. (2008), cheirar, saborear e engolir alimentos



são considerados os primeiros passos para avaliar a composição qualitativa e o conteúdo energético do alimento. Sentir o cheiro, o sabor e a textura, podem influenciar na preferência e a quantidade de alimento a ser ingerido. (Fortes-Silva et al, 2011)

Embora a estratégia de comedouro a demanda seja, segundo Simpson e Raubenheimer (2001), eficiente para estudos com preferência alimentar de peixes, Lamb (2001) atenta quanto ao papel central dos quimiorreceptores na seleção de dietas em pellets. Esses receptores podem mascarar a real preferência dos animais pelos macronutrientes devido à presença de possíveis fatores atraentes ou repelentes nos macronutrientes. Assim, Rubio et al. (2003) desenvolveram uma metodologia capaz de fornecer diferentes macronutrientes, carboidratos, proteína e lipídios, com mesmo sabor e textura, protegidos dentro de uma cápsula de gelatina

Esta metodologia, foi desenvolvida com o único intuito de avaliar a capacidade dos peixes em compor uma dieta balanceada em macronutrientes, apenas por receptores pós ingestivas, eliminando as características orosensoriais. Dessa forma, foi possível estudar mais a fundo os mecanismos que envolvem a regulação de ingestão de alimentos pelos peixes.

Todas as propriedades organolépticas da dieta, como cheiro sabor e textura são igualadas no momento da encapsulação, para que a seleção de macronutrientes seja feita exclusivamente pela associação dos mecanismos pós ingestivos de percepção, com as cores das cápsulas. Quando a diferença entre a propriedades nutricionais dos alimentos não geram diferenças sensoriais, os animais só serão capazes de distingui-los, se for disponibilizado algum sinal sensorial adicional (FORBES, 2001). Portanto três cores de cápsulas são utilizadas para a associação com cada macro nutriente. Em um determinado momento do experimento ocorre a alteração do conteúdo das cápsulas com as cores para comprovar a capacidade do peixe em associar a cor com o macronutriente, e conseqüentemente excluir o viés da preferência por uma cor de cápsula. Rubio et al., 2003, registraram a primeira evidência de uma espécie animal discriminar a composição de macronutriente do alimento encapsulado usando apenas a cor como estímulo condicionado. Testaram a capacidade do robalo europeu em selecionar cápsulas distintas com proteína, carboidrato e lipídio. A espécie estudada foi suficientemente hábil em regular sua ingestão de energia e selecionar macronutrientes

Diversos estudos comprovam essa capacidade de algumas espécies de peixes em associar as cápsulas coloridas, com o seu conteúdo, distinguindo mudanças espectrais na gama de cores vermelhas, laranjas e amarelas. (RUBIO et al., 2003; ALMAIDA-PAGÁN et al 2006; FORTES-SILVA et al., 2011)

Todas as metodologias apresentam limitações na execução dos experimentos. No caso da metodologia de auto demanda, as dietas ofertadas são pares de macronutrientes peletizados, e para sua confecção é necessário um elevado nível de fibra o que restringe a gama de seleção dos macronutrientes (VIVAS et al, 2006). Enquanto que a metodologia das cápsulas permite a confecção de dietas contendo individualmente macronutrientes que podem chegar a uma composição próxima de 100%, aumentando assim as possibilidades de seleção para espécie a ser estudada.

#### **2.4. Seleção de nutrientes**

Apesar dos estudos com seleção de dieta em mamíferos e aves terem surgido desde a década de 30 (RICHTER, 1938), tais pesquisas com peixes só se tornaram realidade a partir dos estudos iniciais com alimentador por demanda (ADRON, 1973), o qual permitiu à truta arco-íris obter o alimento ao pressionar uma alavanca que ativava um dispositivo, dispensando o alimento. A possibilidade de conectar esse sistema a um registro de dados assegurou um monitoramento da preferência e comportamento alimentar em peixes. A popularização do uso de computadores nos anos noventa, permitiu o surgimento de novos sistemas de auto-alimentação, no qual distribuidores de alimentos foram conectados a computadores para registrar com precisão a atividade de demanda alimentar dos peixes (SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al.,1994, 1998).

Segundo Simpson e Raubenheimer, (2001), os estudos acerca de seleção de dieta em peixes se baseiam na proposição de Curt Richter (1992), de que os animais selecionam uma dieta que otimamente restabeleça qualquer desequilíbrio metabólico, atendendo seus requerimentos nutricionais e mantenha seu estado fisiológico e que, portanto, possuem “sabedoria nutricional”. A predileção por uma dieta tem um fim claro de suprir suas necessidades nutricionais e não um fenômeno casual. Os efeitos benéficos de um macronutriente determinarão a escolha do animal, em detrimento de outro que traria consequências insatisfatórias.

A seleção de macronutrientes em peixes foi investigado pela primeira vez, em estudos laboratoriais, por meio da utilização de técnicas de auto-alimentação, dando aos peixes diferentes macronutrientes na forma de alimento granulado (ARANDA et al., 2000; YAMAMOTO et al., 2003) ou macronutrientes puros por meio da utilização de cápsulas de gelatina codificada em cores (RUBIO et al., 2003; RUBIO et al., 2004). A partir dessas pesquisas tem sido possível avaliar o requerimento nutricional das diferentes espécies de peixes, a frequência de alimentação e a regulação da ingestão dos macronutrientes (FORTES-SILVA et al., 2011). Os resultados de estudos recentes têm mostrado que os peixes teleósteos são capazes de compor uma dieta completa de acordo com seus hábitos nutricionais específicos, sejam eles carnívoros ou onívoros, e de regular a ingestão energética pela seleção de macronutrientes. No entanto, os mecanismos envolvidos na regulação da ingestão dos macronutrientes ainda não são bem esclarecidos (RUBIO et al., 2005).

Buscando a explicação da existência de preferência alimentar pelos animais, têm sido propostos mecanismos relacionados a aprendizagem, e processos fisiológicos (RUBIO et al., 2003). Em se tratando da aprendizagem, estudos demonstram que experiências negativas podem influenciar na seleção de dietas, como por exemplo, se um animal ingeriu algum alimento de sabor ruim, essa experiência será memorizada para utilização em escolhas futuras. (FORBES, 2001). Diferentes processos inatos relacionados aos mecanismos fisiológicos foram propostos por alguns autores para explicar a existência de apetites específicos para macronutrientes. Ratos demonstraram ter uma preferência inata para o gosto de alguns nutrientes, como lipídios, proteínas, açúcar, maltodextrinas e alguns tipos de amido (ACKROFF et al., 1990; SCLAFANI, 1991). Além disso, Rubio et al., (2003) observou que há exemplos de neurotransmissores, como a serotonina, dopamina, neuropéptido Y e da galanina, os quais afetam o consumo de lipídios e de carboidratos. A detecção orofaríngea das características sensoriais dos alimentos seja através da aprendizagem ou por processos inatos tem sido proposto para discriminação de macronutrientes. (RUBIO et al., 2003).

Na presente revisão de literatura foi possível encontrar vários trabalhos com várias espécies que relataram a capacidades dos peixes em utilizar os sistemas mencionados acima para compor uma dieta equilibrada pelo alvo de ingestão (Quadro 1).

Quadro 1 - Seleção de dietas nas diferentes metodologias

Espécie	Metodologia	Seleção			Referência
		P	C	L	
Tilápia	auto demanda	42,5	35,5	22,0	FORTES-SILVA et al., 2012
	cápsulas	45,4	32,2	22,4	FORTES-SILVA et al., 2012
Truta arco-íris	auto demanda	63,8	17,7	18,5	SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al., 1999
Robalo Europeu	cápsulas	55,0	23,0	22,0	RUBIO et al., 2003
<i>Solea Senegalensis</i>	auto demanda	68	16,3	15,7	RUBIO et al., 2009
<i>Diplodus puntazzo</i>	auto demanda	47	10	-	ATIENZA et al., 2004
	auto demanda	63	18	19	VIVAS et al, 2006
	cápsulas	62,7	21,3	16	ALMAIDA-PAGÁN et al, 2006
	cápsulas	67,36	19,08	13,57	ALMAIDA-PAGÁN et al, 2008
GoldFish	auto demanda	18,9	47,4	33,8	SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al., 1998

Sánchez-Vázquez et al. (1998) apresentaram a primeira evidência de seleção de dietas em goldfish, utilizando comedouros a demanda, testando a capacidade dessa espécie em selecionar dietas puras de macronutrientes. Os peixes foram desafiados a três dietas experimentais, compostas distintamente por proteína, lipídio e carboidrato, e compuseram uma dieta completa apresentando a seguinte seleção: 18% de proteína e 33% de lipídio, regulando sua ingestão de energia. Segundo os autores, o resultado desse trabalho é uma evidência que sustenta a hipótese estabelecida de que os animais são capazes de selecionar dieta nutricionalmente adequada (RICHTER, 1992). Ainda nessa vertente, Sánchez-Vázquez et al. (1999) observaram a mesma habilidade de escolha dentre diferentes macronutrientes e composição de uma dieta adequada com o uso de alimentadores a demanda, no qual a truta arco-íris selecionou 63,8% de proteína e 18,5% de lipídios. Aranda et al. (2000), em trabalho semelhante com o robalo europeu, constatou que essa espécie exibiu uma preferência de 58,8% proteína e 19,4% de lipídios. De posse desses resultados, Aranda et al. (2001), buscaram observar se o robalo europeu, mesmo após condições de jejum, era capaz de selecionar sua dieta, imprimindo assim um novo desafio a espécie na investigação dessa característica. Os resultados mostraram que o período de jejum provocou ingestão compensatória para todos os macronutrientes. Exceto

para a proteína que demonstrou um aumento significativo após o período de carência alimentar, de forma geral, não houve uma preferência alimentar por macronutriente específico, após o jejum. Yamamoto et al. (2003), estudando a influência do jejum por duas semanas em carpa sobre a seleção de macronutriente, concluíram que esse período não interferiu na preferência dos animais.

Rubio et al. (2009) realizaram estudo buscando avaliar a competência do *Solea senegalensis* em selecionar macronutriente e regular sua ingestão de energia quando submetido ao desafio de proteína diluída. O peixe foi capaz de, a partir de uma dieta incompleta, compor uma dieta equilibrada rica em proteína, bem como de, a partir de dieta com proteína diluída, regular a ingestão de energia por mudança nos níveis de proporções relativas de macronutrientes. O *Solea senegalensis* selecionou uma dieta característica de peixe de hábito carnívoro (64.6% proteínas, 24.5% lipídios e 10.9% carboidratos). Esses resultados corroboram os achados de Almáida-Pagán et al. (2006) e Vivas et al. (2006), que identificaram o mesmo padrão alimentar ao estudarem a habilidade do *Diplodus puntazzo* em regular a ingestão energética a partir de dietas encapsuladas.

Fortes-Silva et al. (2010) se aprofundaram nos estudos seleção de alimentos e avaliaram a preferência das tilápias quanto à fonte de óleo na dieta, testando assim três diferentes dietas elaboradas com óleos de soja, de peixe e de linhaça. Dentre as fontes disponíveis, os peixes exibiram preferência pela dieta com óleo de linhaça, mesmo quando os peixes foram submetidos ao desafio das trocas de posição dos alimentadores que continham as respectivas dietas. Também foi observado que apesar da clara preferência pela dieta a base de óleo de linhaça, as tilápias continuaram a consumir as dietas a base de óleo de soja e de peixe, levando os autores a crer que os peixes estabeleceram níveis de consumo de cada dieta contendo os diferentes óleos. A preferência significativamente maior pelas dietas a base de óleo de linhaça, fizeram com que os pesquisadores ponderassem sobre um possível efeito da melhor palatabilidade deste óleo em relação aos outros, ou mais provavelmente, devido ao seu maior valor nutricional, corroborando assim com a proposição de que os peixes se apropriam de sua “sabedoria nutricional” para selecionar e compor sua dieta de forma balanceada e que melhor atenda a seus requerimentos nutricionais.

Almáida-Pagán et al. (2008) avaliaram os efeitos do nível de lipídio sobre a seleção de macronutriente e regulação da ingestão alimentar da espécie *Diplodus puntazzo*, alimentada com macronutrientes encapsulados. Os peixes foram desafiados com diluição e restrição de lipídio. O estudo confirmou a habilidade do *Diplodus puntazzo* em manter seu padrão de seleção de macronutriente e de ingestão de energia, a partir de macronutrientes encapsulados (proteína, carboidrato e lipídio). Os achados corroboram os resultados de seleção desses macronutriente para as espécies robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (RUBIO et al., 2003, 2005) e *Diplodus puntazzo* (ALMAIDA-PAGÁN et al., 2006), onde a redução ou privação de lipídio não interferiu na ingestão de energia ou na seleção de macronutriente. A proporção de macronutriente selecionado foi de 67,36% para proteína, 19,08% para carboidratos e 13,57% para lipídios.

Fortes-Silva et al. (2011), fazendo uso da técnica de dieta encapsulada, imprimiram os desafios de diluição e restrição proteica à tilápia do Nilo, observando a capacidade do peixe em defender um padrão de seleção independente dos desafios relacionados a diluição/restrrição de proteína, e aos quimiorreceptores da cavidade orofaríngea, e compondo uma dieta completa através das seguintes seleções de macronutrientes: 45.4% de proteína, 22.4% de lipídio e 32.2%.

Hidalgo et al. (1988) comprovaram a capacidade dos peixes em detectar a ausência de um único aminoácido na dieta, de modo a que uma dieta deficiente em metionina foi evitada por robalos usando auto-alimentadores. Além desse trabalho, trutas, em condições de laboratório, detectaram uma combinação desequilibrada entre gelatina e caseína com a proporção de (5:1), e rapidamente demonstraram preferência pela dieta com combinação na proporção entre gelatina e proteína de (1:5) (YAMAMOTO et al., 2000). Resultados também encontrados em tilápia do Nilo (FORTES-SILVA, et al., 2012).

## **2.5. Tambaqui (*Colossoma macropomum*)**

A criação de espécies nativas tem crescido no país, e o tambaqui tem expandido sua criação das regiões do Norte, Nordeste, Centro-oeste e Sudeste (CHAGAS, 2010). Fernandes et al. (2010), diz que na região norte a criação de tambaqui desponta como principal espécie de peixe cultivada. Essa expansão se deve ao excelente potencial da

espécie na produção intensiva quanto a fácil obtenção de juvenis, bom potencial de crescimento, alta produtividade, resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido na água (DAIRIKI e SILVA, 2011) e ao ótimo uso dos alimentos.

Dos peixes amazônicos, o tambaqui é a espécie que mais se destaca na América latina, principalmente no Brasil (KUBITZA, 2012). Seu crescimento na Amazônia ocorreu devido a implementação do Programa de Desenvolvimento da Aquicultura pelo governo do Amazonas na década de 80, a partir daí a atividade tem crescido e se expandido em todos os estados da região norte (JUNIOR, 2009).

O tambaqui, *Colossoma macropum* (CUVIER, 1818) (Figura 1), é uma espécie da classe dos Osteichthyes, subclasse Actinopterygii, ordem Characiformes, família Characidae e subfamília Serrasalminae. É originário da América do Sul, das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, sendo comum em lagos de várzeas (SANTOS et al., 2006; FISCHER, 2004; FERNANDES et al., 2010; DAIRIKI & SILVA, 2011; BALDISSEROTTO e GOMES, 2010). É uma espécie tropical, que pode atingir um metro de comprimento padrão e pesar trinta quilos, é considerada por muitos autores como o segundo maior peixe de escamas de água doce, ficando atrás apenas do pirarucu *Arapaima gigas* (Gomes e Araújo-Lima, 2005; SANTOS et al., 2006). A espécie possui o corpo romboidal, com cor parda na metade superior e preta na metade inferior, escamas, nadadeira adiposa curta, dentes molariformes com margens afiadas para triturar (ROTTA, 2003), rastros branquiais longos e em grande número (NETO e PRADO, 2012), lábios grossos (SANTOS et al., 2006) e boca prognata.

Figura 1 - Tambaqui (*Colossoma macropomum*)



Fonte: Fotografada pelo autor

O tambaqui é uma espécie de águas ricas em nutrientes, com temperaturas médias entre 25° e 34° C. É um animal pelágico, de hábito alimentar onívoro, com tendência a herbívoro, filtrador e frugívoro (NUNES et al., 2006; SILVA et al., 2007). Possui alta aceitação no mercado consumidor, em razão de sua carne saborosa, que tem vida útil de 43 dias se conservada de forma correta entre camadas de gelo (ALMEIDA et al., 2006).

A tecnologia de produção dessa espécie já está consolidada (GOMES et al., 2003; BRANDÃO et al., 2004; JACOMETO et al., 2010). Em piscicultura ele é reproduzido após indução hormonal e as fêmeas podem produzir milhões de ovos em uma única desova (VIEIRA et al., 1999; SEVILLA e GUNTHER, 2000). Segundo Gomes (2011), as fases de criação da espécie do tambaqui resumem-se em duas: a recria e a engorda. A fase de recria compreende animais de 2 a 50g de peso, e a fase de engorda peixes acima de 50g até 3kg. Já Dairiki e Silva (2011) dividem a criação de tambaqui em três fases, a larvicultura, a produção de juvenis, e a engorda. Na larvicultura os peixes são criados da eclosão até o peso médio individual de 0,5 a 1g, com duração de 30 a 45 dias. A produção de juvenis dura em torno de 60 dias e o peso médio individual é entre 40 e 50g. Na fase da engorda o tempo varia, pois depende do peso de abate. O tempo de criação da espécie em cada uma dessas fases fica em torno de dois meses e dez meses para a fase de alevinos/juvenis e de engorda respectivamente.



## 2.6. Bem Estar

A indústria aquícola está em crescimento contínuo, e com isso, surge a necessidade de uma maior atenção direcionada ao bem-estar dos organismos aquáticos, que está relacionado com impactos significativos sobre respostas ao estresse e resistência a doenças, implicando diretamente no desenvolvimento sustentável da aquicultura (ASHLEY 2007). Grandes mercados consumidores de pescado na Europa buscam cada vez mais a rastreabilidade dos produtos importados, inclusive preocupações relacionadas ao bem estar no processo de produção dos animais estão cada vez mais evidentes.

Segundo Volpato et al. (2007) o estado interno em que o peixe está em condições de ter livre opção de escolha, é denominado bem-estar.

Dietas entre outros fatores, influenciam diretamente sobre a tolerância ao estresse e a manutenção da saúde, portanto, os peixes devem ser alimentados em quantidades adequadas de nutrientes para que atendam suas necessidades, e conseqüentemente obter uma diminuição no estresse e uma maior resistência a doenças (TRICHET 2010). Além de aumentar a suscetibilidade a doenças, dietas desequilibradas também podem induzir interações negativas ou antagonismo entre nutrientes provocando sinais semelhantes à deficiência de nutrientes.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Acondicionamento dos animais

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Peixes da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB (Figura 2). Os tambaquis foram doados pela Estação de Piscicultura de Pedra do Cavalo da Bahia Pesca S.A. e tinham peso inicial médio de  $71.37 \pm 2,58$ . Os mesmos foram distribuídos e acondicionados aleatoriamente em seis tanques de polietileno com capacidade de 250 L, numa proporção de cinco tambaquis por tanque, totalizando 30 peixes no experimento. As caixas possuíam um sistema de recirculação fechado de água com filtro mecânico e biológico, além de esterilizador ultravioleta. A temperatura da água foi controlada em  $28 \pm 1$  °C e todos os parâmetros de qualidade da água como pH, Oxigênio dissolvido e amônia, foram monitorados diariamente e mantidos em torno de 6,2mg/L e 0,25ppm respectivamente.

Antes do início das etapas experimentais, os peixes passaram por adaptação ao sistema durante uma semana sendo alimentados com cápsulas de gelatina contendo dieta comercial para peixes onívoros.

Figura 2 - Estufa anexa do Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Peixes da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB.



Fonte: Fotografada pelo autor

### 3.2. Dietas Experimentais

Três dietas foram formuladas com base em macronutrientes puros (tabela 1). A dieta proteica (P: caseína e gelatina numa proporção de 5:1); lipídico (L: óleo de soja e óleo de peixe a 3:1), e a de carboidrato (C: dextrina). Todas as três dietas foram calculadas para conter 5,5% de celulose, 1% de premix mineral e vitamínico, 0,5% de antioxidante BHT (Butil Hidroxi Tolueno) e 3% de CaHPO<sub>4</sub>. Dessa forma, as dietas variaram apenas em termos de macro nutrientes. Outra dieta foi elaborada com diluição da proteína em 15% (P15), com ingredientes inertes (celulose 2,5% e dióxido de silício 12,5%), fazendo com que o nível de celulose na dieta atingisse 8% que está dentro da tolerância dos peixes segundo Rodrigues et al, (2010), pois níveis superiores poderiam ocasionar variação na taxa de passagem, diminuição da absorção de nutrientes e por consequência mal-uso dos macronutrientes da dieta. Estas dietas foram elaboradas para observar o impacto da diluição da proteína no padrão de seleção dos macronutrientes.

Para realizar o enchimento das cápsulas com o lipídico, dióxido de silício foi adicionado em 23% da composição da dieta. Dessa forma, o óleo foi solidificado, seguindo o protocolo de RUBIO, et al (2003).

Tabela 1 – Tabela de composição das dietas.

Ingredientes (g/kg de peso seco)	Dietas			
	P	F	C	P15
Caseína: gelatina (5:1)	90.0	0.0	0.0	75.0
Óleo de soja: Óleo de peixe (3:1)	0.0	67.0	0.0	0.0
Dextrina	0.0	0.0	90.0	0.0
Premix mineral e vitamínico <sup>1</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
CaHPO <sub>4</sub>	3.0	3.0	3.0	3.0
Celulose	5.5	5.5	5.5	8.0
SiO <sub>2</sub>	0.0	23.0	0.0	12.5
BHT	0.5	0.5	0.5	0.5
Energia <sup>2</sup>	21,3	15,5	26,4	17,7

<sup>1</sup> - Níveis de Garantia por Kg do produto: Vit. A (min) 1,000,000 UI, Vit. D3 (min) 250,000 UI, Vit. E (min) 12,500 UI, Vit. K3 (min) 1,250 mg, Vit. B1 (min) 1,875 mg, Vit. B2 (min) 1,875 mg, Vit. B6 (min) 1,250 mg, Vit. B12 (min) 2,500 mcg, Vit. C (min) 12.5 g, Ácido Pantotênico (min) 5,000 mg, Niacina (min) 10.0 g, Ácido Fólico (min) 625 mg, Biotina (min) 62.5 mg, Colina (min) 50 g, Cobre (min) 625 mg, Ferro (min) 6,250 mg, Manganês (min) 1,875 mg, Cobalto (min) 12.5 mg, Iodo (min) 62.5 mg, Zinco (min) 6,250 mg, Selênio (min) 12.5 mg, Inositol (min) 12.5 g. <sup>2</sup> - Para o cálculo do consumo de energia foram utilizados os coeficientes oxalóricos de energia metabolizável estimada para peixe onívoro de água doce (23,64 kJ/g Proteína, 17,20 kJ/g Carboidrato, 39,33 kJ/g Lípidio) segundo Shiao and Chen, (1993).

### **3.2.1. Encapsulação das dietas**

Com o propósito de igualar a textura, forma, além de isolar o efeito do sabor e do cheiro para a seleção dos macronutrientes, as dietas foram encapsuladas de acordo com Rubio et al 2003. Para a encapsulação foi utilizado um encapsulador manual (G.A. Tech, Brasil, Belo Horizonte) e cápsulas de gelatina (Genix Indústria Farmacêutica Ltda., Anápolis, Brasil) nº4 com 0,2 ml de volume útil. As dietas foram comprimidas dentro das cápsulas de modo que as preenchesse ao máximo.

Para o cálculo do consumo de cada macronutriente, as cápsulas foram pesadas previamente para obter seus pesos médios, sendo P= 0,180 g, C= 0,190 g e L= 0,175 g. O armazenamento se deu em sacos plásticos separando-as por cor e por macronutriente, evitando qualquer contaminação externa, e em seguida armazenadas em um freezer.

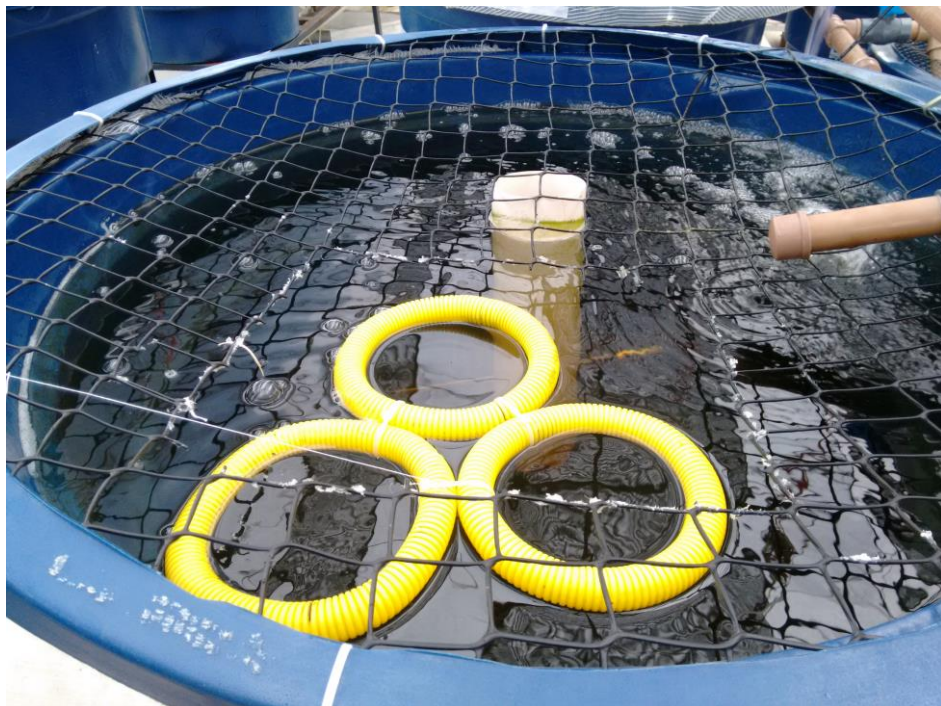
### **3.3. Procedimento experimental**

Após a encapsulação da dieta, foi dado início a fase experimental que teve duração de 51 dias. Os animais tiveram apenas o parâmetro “cor da cápsula”, dentro de cada tanque para selecionar os macronutrientes associando a cor com o efeito pós ingestivo (RUBIO et al 2003). Assim, foram usadas cápsulas amarelas, laranjas e vermelhas. As cores das cápsulas foram alternadas para cada macronutriente nos diferentes tanques para excluir o efeito cor no processo de seleção. Foram realizadas 3 etapas experimentais com o intuito de desafiar os animais a manterem o alvo de ingestão e o padrão de seleção entre os macronutrientes, além de defender o nível energético consumido nas etapas 2 e 3. Todos os dias, as cápsulas eram ofertadas aos peixes uma única vez as 9:00h. Após 5 minutos as cápsulas restantes eram retiradas dos comedouros e contadas pelas respectivas cores para cálculo do consumo de cada macronutriente. Todo este procedimento está de acordo com trabalhos anteriores que utilizaram a mesma metodologia (FORTES-SILVA et al, 2011; RUBIO et al 2003).

### 3.3.1. Etapa 1 (Seleção de macronutrientes)

As cápsulas foram ofertadas em três flutuadores em posições separadas no primeiro momento (Figura 3). Estes flutuadores poderiam mover de forma aleatória dentro do tanque, de forma que o efeito da posição dos mesmos não influenciou na seleção da dieta. Após a observação de um padrão claro de seleção dos macronutrientes, ou seja, quando os valores de consumo de cada macronutriente se mostraram estáveis durante aproximadamente cinco dias, as cápsulas foram ofertadas juntamente em um único flutuador (Figura 4), para desafiar a capacidade do tambaqui em manter seu alvo nutricional e porcentagem de seleção.

Figura 3 – Flutuadores independentes para separação de macronutrientes.



Fonte: Fotografada pelo autor.

Com o intuito de analisar a capacidade de discriminação dos macronutrientes utilizando o código de cores, os peixes foram desafiados novamente com a troca de conteúdo das cápsulas. Assim, por exemplo, as cápsulas que continham a proteína (P)

passaram a conter lipídio (L), as que anteriormente continham lipídio passaram a ter carboidrato (C), e as cápsulas que continham C, foram preenchidas com P.

A mudança de desafios não tinha tempo específico, e só ocorria a medida que os peixes demonstravam um padrão claro de seleção.

### **3.3.2. Etapa 2 (Diluição da proteína)**

Para avaliar a capacidade dos peixes em manter a ingestão proteica da fase anterior, a cápsula que continha proteína foi diluída em 15% com a inclusão de celulose e dióxido de silício. Este nível de diluição com celulose está dentro dos limites recomendados para a espécie que é de no máximo 8% (RODRIGUES et al, 2010), simplesmente para caracterizar o desafio.

### **3.3.3. Etapa 3 (Exclusão da dieta proteica)**

Por fim, as cápsulas de proteína foram retiradas da dieta para investigar a capacidade de balancear o consumo energético apenas com a ingestão de cápsulas de carboidrato e lipídio. Pelo fato da composição das cápsulas ser de gelatina, as dietas de carboidrato e lipídio continham incremento proteico, fazendo com que a proporção de proteína fornecida pelas cápsulas fosse incluída nos cálculos. Assim, o peso da cápsula vazia representava 21,1% e 22,9% do peso total da cápsula cheia de carboidrato e lipídio respectivamente. Os mesmos indivíduos foram usados nas três etapas experimentais e ao final de cada etapa os mesmos eram pesados.

## **3.4. Análise dos dados**

Os resultados foram apresentados e analisados como os valores médios diários de cada etapa 1, 2 e 3, com o erro padrão correspondente da média. As análises estatísticas foram realizadas com o software SPSS, versão 22.0. A ingestão de alimentos e energia metabolizável foram expressos em g / 100g de peso corporal e kJ / 100g de peso corporal respectivamente, estimados pelo número de cápsulas consumidas excluindo o dióxido de

silício e celulose nos cálculos. O consumo energia foi analisado pelo teste T. A normalidade e homogeneidade da variância foi avaliada por Kolmogorov-Smirnov e teste F, respectivamente. Média de seleção de dietas, expressada como porcentagem, foi analisada utilizando one-way (ANOVA), após transformação arco seno e então submetida ao teste de Tukey. O nível de significância foi de  $P < 0.05$  e os resultados expressados como média  $\pm$  desvio padrão (S.D.). A evolução da seleção de macro nutrientes foi expressa considerando o total de P, C e L como 100%, de dieta total.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as etapas experimentais não foi observado mortalidade. Ao final dos 51 dias do período experimental os peixes atingiram peso final de  $110,93\text{g} \pm 4,95$  e mantiveram o padrão de seleção da dieta nos diferentes desafios propostos. A rapidez na estabilização dos padrões de seleção nos mostra que a metodologia de encapsulamento de dietas para esta espécie é eficiente para mostrar o alvo de ingestão, contudo é possível que os animais tivessem em algum momento contato com as propriedades organolépticas mordendo as cápsulas.

No desafio 1, as cápsulas foram disponibilizadas separadamente em 3 containers. Nesta condição, os animais selecionaram as seguintes porcentagens: 45,8% P, 33,1 % C e 21,1% L, mantendo o padrão de seleção até o final da etapa (Figura 4). Quando as dietas foram proporcionadas em um único container no desafio 2, os animais mantiveram o padrão de seleção (47,3% P, 32,5% C, 20,2% L). Já no desafio 3 da etapa 1, os animais foram desafiados com a mudança do conteúdo das cápsulas para avaliar se os animais eram capazes de manter o alvo de ingestão observado na etapa anterior. Nessa condição os animais voltaram a manter o padrão de seleção desde o primeiro dia da etapa experimental, sendo observado a seguinte % de seleção (45,4% P, 33,1% C, 21,5% L). Estes resultados não diferiram estatisticamente da etapa anterior [F (2,23) = 1.603, P = 0,651].

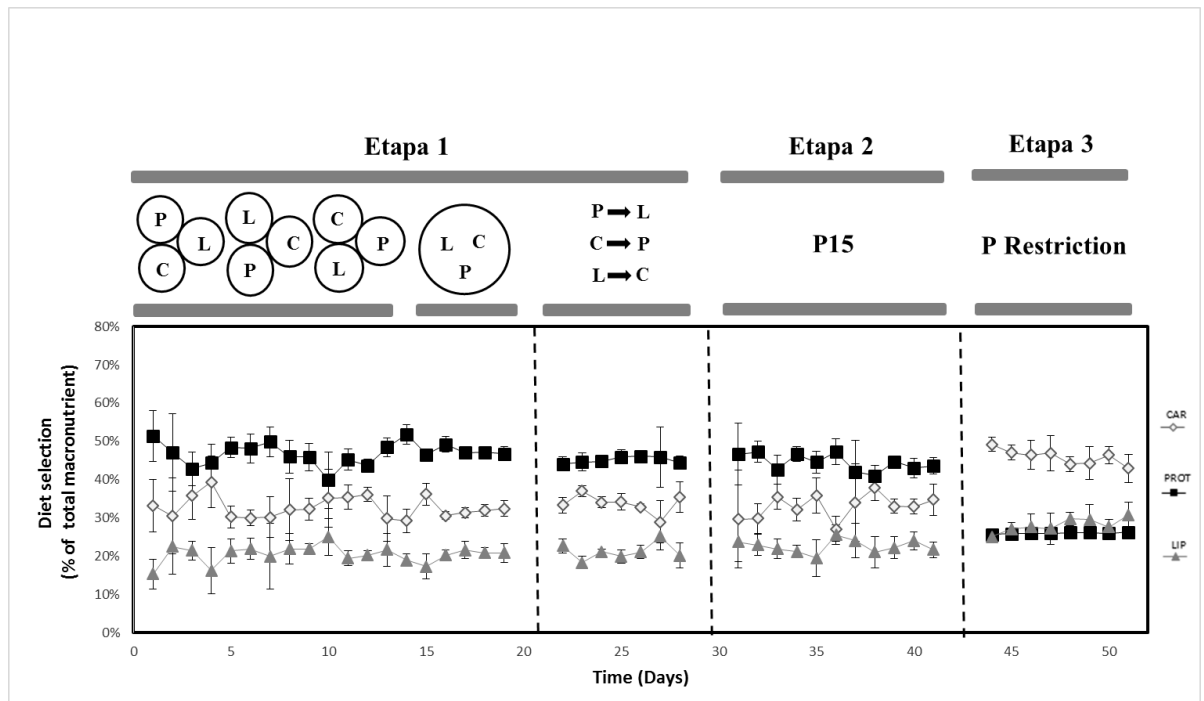
Foi possível observar que havendo uma possibilidade de seleção, os animais optam por selecionar uma porcentagem relativamente alta de proteína (46,2% P) na etapa 1 e na etapa 2 (42,9%).

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com vários outros estudos de seleção de dietas em peixes que concluíram a capacidade dos peixes em manter um alvo nutricional (SANCHEZ-VAZQUEZ et al, 1998 RUBIO et al., 2005; ALMAIDA-PAGÁN et al., 2006; FORTES-SILVA et al., 2012). Este mesmo comportamento alimentar também foi observado em peixe onívoro como a tilápia do Nilo que apresentou uma seleção também relativamente alta (45,4% P) (FORTES-SILVA et al., 2011). Já o *Solea senegalensis*, que é um peixe carnívoro, quando lhe foi oferecido a possibilidade de selecionar uma dieta em termos de macronutrientes em pares, foi observado uma porcentagem de seleção de 68.0% P, segundo Rubio et al. (2009). Contudo, de uma forma



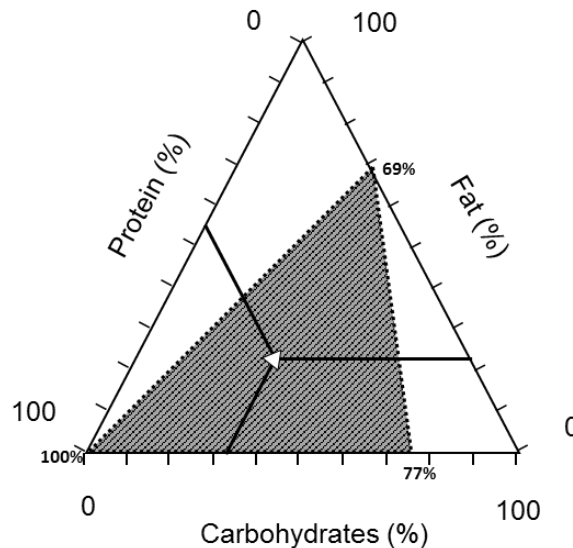
geral, os peixes expressam seu hábito alimentar onde carnívoros selecionam dietas com porcentagens ainda maiores de proteína como o *Solea senegalensis* que apresentou a seleção de 68,0% P; 16,3% C; 15,7% L, (Rubio et al, 2009), e a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (63,8% P; 17,7% C; 18,5% L) (SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al., 1999), além dos onívoros marinhos como o (*Diplodus puntazzo*) (64,5% P; 17,8% C; 17,7% L) (VIVAS et al, 2006). Já o Goldfish que é um peixe onívoro de água doce, apresentou um consumo proteico baixo, selecionando as seguintes porcentagens: 18,9% P; 47,4% C; 33,8% L (Sánchez-Vázquez et al 1998).

Figura 4 – Seleção de macronutrientes



Dessa forma, os peixes mantiveram um alvo de ingestão dos macronutrientes, mostrando uma média geral de 46,2% P, 32,9% C, 20,9% L entre as etapas 1 e 2, após os desafios. Esta média está representada na figura 5.

Figura 5 - Seleção final de macronutrientes nas fases 1 e 2, expressa como a percentagem de dieta, considerando o total de P, C e L como 100%. O alvo de ingestão está representado pelo ponto onde há a intercessão entres as linhas dentro do triângulo. A área cinza indica a possibilidade de seleção que os animais poderiam realizar, de acordo com as dietas experimentais elaboradas.



Na terceira etapa do experimento as cápsulas contendo dieta proteica foram excluídas para avaliar se os peixes eram capazes de manter o consumo energético sem esse aporte proteico. (figura 6). Mesmo os peixes mantendo o padrão da porcentagem de seleção dos nutrientes, o consumo das dietas foi diminuindo até o final do experimento.

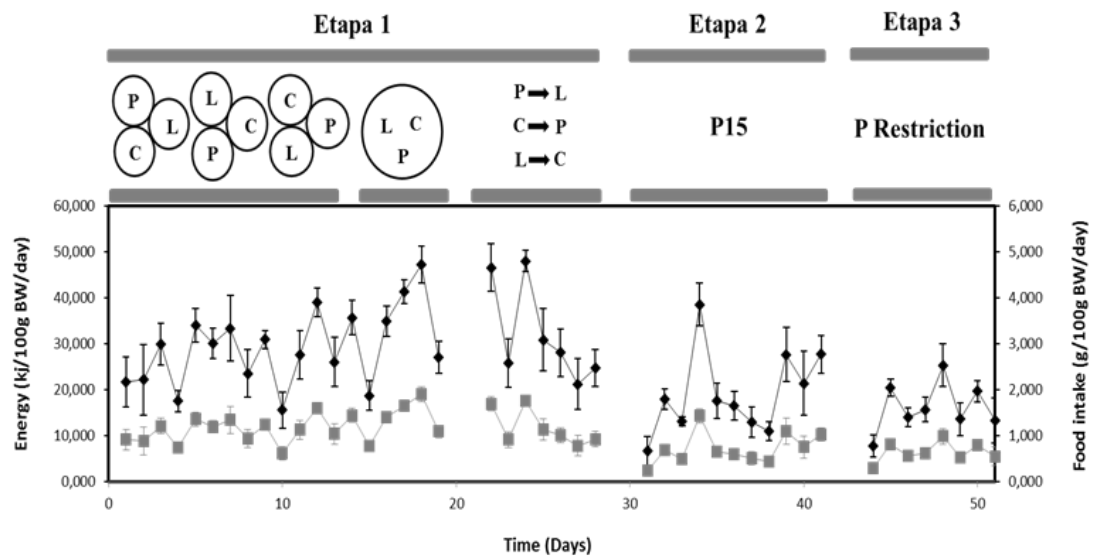
Os peixes ingeriram as dietas até estabilizar o valor médio do consumo energético na etapa 1 em 31,05 kJ/100g PC e das dietas (1,22 g/100gBW). Na etapa 2 (diluição da proteína) os peixes apresentaram um valor médio de 20,11 kJ/100g PC ( $p < 0,05$ ) para energia e 0,76 g/100g BW para consumo de dieta, e na etapa 3 (privação da proteína) foi de 17,50 kJ/100g para consumo energético e 0,69 g/100g para consumo das dietas. Apenas houve diferença do consumo de dieta e da energia entre a etapa 1 e a 2 ( $p < 0,05$ ), onde o consumo se estabilizou da etapa 2 para a 3 ( $p > 0,05$ ).

O valor do consumo energético da etapa 1 não condiz com valores encontrados em outros trabalhos com peixes onívoros como o *Diplodus puntazzo*, 16,8 kJ/100g PC (ALMAIDA-PAGÁN et al., 2005), e 21,25 kJ/100g PC (ALMAIDA-PAGÁN et al., 2008), e com a Tilápia do Nilo, 17,0 kJ/100g PC (FORTES-SILVA et al., 2011) e 18,7

kJ/100g PC (FORTES-SILVA et al., 2012), entretanto os valores das etapas 2 e 3, se assemelham muito aos resultados de consumo de energia encontrados para essas espécies (veja figura 5). Os tambaquis apresentam uma peculiaridade quanto ao seu metabolismo de deposição de gordura na carcaça, mais facilmente do que os outros peixes ao longo do tempo (CAMARGO et al, 1998; ARBELÁEZ-ROJAS et al., 2002).

Essa característica pode ser explicada como um acúmulo de reserva energética para a necessidade de migrações de longa distância. Dessa forma, acreditamos que o consumo de dieta e energético teve uma diminuição pois os animais não estavam gastando energia suficiente por estarem em uma condição de confinamento. Dessa forma, os animais regularam a ingestão de acordo com suas necessidades energéticas para a etapa 2 e 3.

Figura 6 – Consumo de dietas e de energia nas diferentes etapas e desafios



A capacidade de regular o balanço energético através do consumo de dietas ricas em carboidrato e lipídio já foi observada em peixes onívoros, como a tilápia nilótica (FORTES-SILVA et al 2011; FORTES-SILVA et al 2012), demonstrando um comportamento mais flexível, o que não ocorreu com o carnívoro robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), que inibiu a ingestão, quando a dieta rica em proteína foi restringida. (VIVAS et al., 2003).

## 5. CONCLUSÃO

Os tambaquis foram capazes de compor uma dieta balanceada, mostrando um alvo de ingestão dos macronutrientes após os desafios nutricionais.

A metodologia de dietas encapsuladas é uma ferramenta importante nos estudos relacionados a seleção de dietas.

Os resultados obtidos deste experimento poderão ser utilizados para discutir questões relacionadas a capacidades dos peixes em regular a ingestão das diferentes dietas elaboradas na prática e a própria aceitabilidade das diferentes fontes de insumos utilizadas pela indústria.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho é pioneiro na investigação da capacidade de auto-seleção de macronutrientes puros pelo tambaqui, para composição de uma dieta equilibrada capaz de atender seus requisitos nutricionais atingindo seu alvo de ingestão e deve fornecer informações valiosas na melhoria da elaboração de dietas, no sentido de aprimorar a eficiência da espécie quanto ao aproveitamento do alimento.

Compreender os fatores que englobam o comportamento alimentar em peixes é fundamental para assegurar boas condições nutricionais, de bem-estar aos animais e do ambiente, bem como de equilíbrio econômico à atividade aquícola. Assim, é importante ampliar os estudos sobre a preferência e a seleção alimentar dos peixes.

As dificuldades encontradas ao longo desta pesquisa, enriqueceram minhas formações profissional e pessoal.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKROFF, K.; VIGORITO, M.; SCLAFANI A., Fat appetite in rats: the response of infant and adult rats to nutritive and nonnutritive oil emulsions. **Appetite**, 15, 171–88, 1990.

ADRON, J.W.; Grant, P.T.; Cowey, C.B.A., System for the quantitative study of the learning capacity of rainbow trout and its application to the study of food preferences and behaviour. **J. Fish Biol.** 5, 625– 636, 1973.

ALMAIDA-PAGÁN, P.F.; RUBIO, V.C.; MENDIOLA, P.; COSTA, J.; MADRID, J.A., Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpsnout seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution, **Physiology & Behavior**, 88, 550–558, 2006.

ALMAIDA-PAGÁN, P.F.; SECO-ROVIRA, V.; HERNÁNDEZ, M.D.; MADRID, J.A.; Costa, J.; MENDIOLA, P., Energy intake and macronutrient selection in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) challenged with fat dilution and fat deprivation using encapsulated diets, **Physiology & Behavior** 93, 474–480, 2008.

ARANDA, A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J.; ZAMORA, S.; MADRID, J.A., Self-design of diets by means of self-feeders: validation of procedures. **Journal of Physiology and Biochemistry**, 56, 55 – 166, 2000.

ARBELÁEZ-ROJAS, G.A.; FRACALOSSO, D.M.; FIM, J.D.I., Composição Corporal de Tambaqui, *Colossoma macropomum*, e Matrinxã, *Brycon cephalus*, em Sistemas de Cultivo Intensivo, em Igarapé, e Semi-Intensivo, em Viveiros, **Revista Brasileira de Zootecnia**, 31, 1059-1069, 2002.

ASHLEY, P.J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, 104, 199–235, 2007.

BADMAN, M.K.; FLIER, J.S., The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. **Science**, 307, 1909–1914, 2005.

BRASIL, 2013, Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura: Brasil 2011. **Ministério da Pesca e Aquicultura**, Brasília, 128 p.

CAMARGO, A.C.S.; VIDAL-JÚNIOR M.V.; DONZELE, J.L.; ANDRADE, D.R.; SANTOS, L.C., Níveis de Energia Metabolizável para Tambaqui (*Colossoma macropomum*) dos 30 aos 180 gramas de Peso Vivo, **Revista Brasileira de Zootecnia**, 27, 409-415, 1998.

FIÚZA, L.S.; ARAGÃO, N.M.S.; RIBEIRO-JUNIOR, H.P.; MORAES, M.G.; ROCHA, I.R.C.B.; LUSTOSA-NETO, A.D.; SOUSA, R.R.; MADRID, R.M.M.; OLIVEIRA, E. G.; COSTA, F.H.F., Effects of salinity on the growth, survival, haematological parameters and osmoregulation of tambaqui *Colossoma macropomum* juveniles, **Aquaculture Research**, 46, 1–9, 2015

FORBES, J.M., Consequences of feeding for future feeding. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, 128, 463–470. 2001

FORTES-SILVA, R.; MARTÍNEZ, F.J.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. Macronutrient selection in Nile tilapia fed gelatin capsules and challenged with protein dilution/restriction. **Physiology & Behavior** 102, 356–360, 2011.

KULCZYKOWSK A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., Neurohormonal regulation of feed intake and response to nutrients in fish: aspects of feeding rhythm and stress, **Aquaculture Research**, 41, 654-667, 2010.

MONTOYA, A.; ZAMORA, S.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., Dietary selection by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) provided with unbalanced mixed-macronutrient feeds dispensed from self-feeders. **Aquaculture** 358–359, 35–40, 2012.

NASLUND, E.;HELLSTROM, P.M., Appetite signalling: from gut peptides and enteric nerves to brain, **Physiology and Behaviour**, 62, 256-262, 2007.

RODRIGUES L.A.; FERNANDES,J.B.K.; FABREGAT,T.H.P.; SAKOMURA,N.K., Desempenho produtivo, composição corporal e parâmetros fisiológicos de pacu alimentado com níveis crescentes de fibra, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,45,897-902, 2010.

RUBIO, V.C.; NAVARRO D.B.; MADRID J.A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J., Macronutrient self-selection in *Solea senegalensis* fed macronutrient diets and challenged with dietary protein dilutions. **Aquaculture**, 291, 95–100, 2009

RUBIO, V.C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J.; MADRID J.A., Macronutrient selection through postingestive signals in sea bass fed on gelatine capsules. **Physiology & Behavior**, 78, 795– 803, 2003.

RUBIO, V.C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; Madrid, J.A., Fish macronutrient selection through post-ingestive signals: Effect of selective macronutrient deprivation. **Physiology & Behavior**, 84, 651–657, 2005.

RUBIO, V.C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; MADRID, J.A., Macronutrient selection through postingestive signals in sea bass fed on gelatine capsules. **Physiology & Behavior**, 78, 795– 803, 2003

RUBIO, V.C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; MADRID, J.A., Oral administration of melatonin reduces food intake and modifies macronutrient selection in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). **Journal of Pineal Research**, 37, 42– 47, 2004.

SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; YAMAMOTO, T.; AKIYAMA, T.; MADRID, J.A.; TABATA, M., Macronutrient self-selection through demand-feeders in Rainbow Trout. **Physiology & Behavior**, 66, 45–51, 1999.



SCLAFANI A., Starch and sugar tastes in rodents: an update. **Brain Research Bulletin**, 27, 383– 86, 1991.

SHIAU, S.Y.; CHEN, M.J., Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*) as influenced by different chromium sources. **The Journal of Nutrition**, 123, 1747–1753, 1993.

SIMPSON, S.J.; RAUBENHEIMER, D., A framework for the study of macronutrient intake in fish. **Aquaculture Research**, 32, 421–432, 2001.

TRICHET, V.V., Nutrition and immunity: an update, **Aquaculture Research**, 41, 356–372, 2010.

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

VIDAL-JÚNIOR, M.V.; DONZELE, J.L.; CAMARGO, A.C.S.; ANDRADE, D.R.; SANTOS, L.C., Níveis de Proteína Bruta para Tambaqui (*Colossoma macropomun*), na fase de 30 a 250 gramas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 27, 421-426, 1998

VIVAS M.; RUBIO V.C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J.; MENA C.; GARCÍA-GARCÍA B.; MADRID J.A., Dietary self-selection in sharpsnoutseabream (*Diplodus puntazzo*) fed paired macronutrient feeds and challenged with protein dilution, **Aquaculture**, 251, 430 – 437, 2006.

VOLKOFF H.; PETER, R.E., Feeding Behavior of Fish and Its Control, **Zebrafish**, 3, 131-140, 2006.

VOLPATO, G.L., Considerações metodológicas sobre os testes de preferência na avaliação do bem-estar em peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 36, 53-61, 2007.

VOLPATO, G.L.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; CASTILHO, M.F. Insight into the concept of fish welfare. **Diseases of Aquatic Organisms**, 75, 165-171, 2007.

WHITE, B.D.; PORTER, M.H.; MARTIN R.J., Protein selection, food intake, and body composition in response to the amount of dietary protein. **Physiology & Behavior**, 69, 383–389. 2000.

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

ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S., Limitações e potencialidades do cultivo do tambaqui, **Boletim do Instituto de Pesca**, 24, 169-172, 1997.