

NUTRItime

REVISTA ELETRÔNICA

www.nutritime.com.br

ISSN-1983-9006

Revista Eletrônica Nutritime, Artigo 158
v.9, n° 02 p.1740- 1754 – Março/Abril 2012



Artigo Número 158

AUTOSSELEÇÃO DE DIETAS: UM NOVO ENFOQUE PARA ESTUDOS DE NUTRIÇÃO E FREQUÊNCIA ALIMENTAR EM PEIXES MARINHOS E DE ÁGUA DOCE

SELF-SELECTION OF DIETS: A NEW APPROACH FOR STUDIES ON NUTRITION AND FEEDING RHYTHMS IN MARINE AND FRESHWATER FISH

Rodrigo Fortes da Silva^{1,2}; Priscila Vieira e Rosa³

1 Professor-Departamento de Agronomia e Zootecnia, UNIFENAS – fortesrs@yahoo.com.br

2 Pós-doutorando em Zootecnia/UFLA

3 Professora Adjunta - Departamento de Zootecnia/UFLA



INTRODUÇÃO

A aquicultura vem alcançando, em todo mundo, índices de desenvolvimento espetaculares, sendo um dos setores de mais rápido crescimento. Estes índices de desenvolvimento tendem a continuar para manter os atuais níveis de consumo de produtos pesqueiros (FAO, 2009, Bosma e Verdegem 2011). Prova do crescimento aquícola no Brasil é o crescente interesse por cultivo de novas espécies, como algumas espécies marinhas: beijupira (*Rachycentron canadum*) Benetti (2010), robalo peva (*Centropomus parallelus*) Baldan e Bendhack (2009) e outras espécies como Cioba (*L. analis*), Guaiúba (*L. chrysurus*), Ariacó (*L. synagris*), que apresentam algum potencial para produção em cativeiro.

A eficiência com que os peixes ingerem e utilizam o alimento é o fator principal para determinar o balanço econômico da atividade, de modo que o aquicultor deve ter um controle preciso no fornecimento do alimento de forma a conseguir o máximo crescimento com o mínimo de desperdício. A piscicultura vem ganhando novas ferramentas de estudo em nutrição na mesma proporção do seu crescimento. Algumas metodologias estão sendo consideradas como essenciais para estimular novos conceitos de estudo em nutrição de peixes. Por exemplo, a técnica de isótopos estáveis tem sido utilizada para o estabelecimento de um esboço geral da via metabólica, empregando a forma isotópica de um dado elemento químico para marcar um metabólito (Manetta e Benedito-Cecilio 2003).

Outra técnica utilizada é o método *Tube-feeding* controlado de nutrientes radiomarcados, que permite estimar a fração evacuada, catabolizada e retida de cada nutriente pelas larvas de peixe. Este método tem sido aplicado para estudar a digestão, absorção e metabolismo de proteínas e lípidos em larvas de diferentes espécies de

peixes (Rust et al., 1993; Conceição et al., 2009).

Recentemente, Ruohonen et al., (2007) apresentaram um estudo exemplar em que desenvolveram e testaram uma metodologia de desenhos geométricos e modelos espaciais de nutrição para definir a composição ideal dos macronutrientes na dieta de (*Coregonus lavaretus*), além de quantificar as respostas comportamentais dos peixes sobre as dietas em estudo. Os autores consideraram a abordagem eficiente para explorar os efeitos de um alimento, usando o comportamento animal, para explorar soluções econômicas de utilização de ingredientes na dieta.

Segundo a FAO (2011) a inovação tecnológica depende de avanços que devem ser difundido para melhorar a as técnicas de produção piscícola. Muitas formas e composições de dietas para peixes têm sido elaboradas, mas são poucos os estudos que correlacionam os mecanismos de digestão e as exigências das diferentes espécies a seus comportamentos alimentares e sociais, havendo ainda a busca pelo manejo ideal e pela determinação do alimento "ideal" e economicamente viável (Pereira-da-Silva et al., 2004). Ainda segundo estes autores, são muitos os benefícios decorrentes da livre escolha do alimento pelo animal, que se caracteriza como o sistema mais natural e delicado de alimentação.

Outras metodologias, como a de comedouros a demanda e dietas encapsuladas estão sendo utilizadas para otimizar estudos de ingestão e preferência alimentar. Com o advento dos comedouros a demanda, a investigação sobre alimentação se tornou mais realística. A alimentação a demanda permite responder cada uma das quatro perguntas chaves que são necessárias quando se trata de desenvolver um alimento para uma determinada espécie: Quando alimentar? Como alimentar? Quanto alimento deve ser oferecido? e, finalmente, que tipo de



alimento devemos oferecer? (Madrid *et al.*, 2009). A maioria das questões relevantes em alimentação pode ser resolvida com menor investimento de tempo, com o estudo em conjunto das múltiplas variáveis que atuam na nutrição dos peixes (Madrid *et al.*, 2009).

Seria ideal, em termos nutricionais e econômicos, que as dietas práticas para os peixes fossem estabelecidas em função de experimentos em que os próprios peixes regulassem o tipo de alimento a ser consumido e sua quantidade ingerida (Rubio *et al.*, 2003, Pereira-da-Silva *et al.*, 2004, Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994, 1995, Fortes-Silva 2010). Além de questões econômicas, a regulação ou preferência alimentar de um determinado alimento leva implícito o conceito de bem-estar em peixes. Volpato *et al.*, (2007) propõem como estado de bem-estar aquele estado interno quando o peixe está em condições para as quais teve livre opção de escolha.

Este trabalho dispõe de uma revisão sobre comportamento alimentar, sistemas de autoalimentação e nutrição de peixes, em sua maioria peixes marinhos, e informações úteis sobre novas tecnologias empregadas no comportamento alimentar de peixes.

MECANISMOS COMPORTAMENTAIS DA REGULAÇÃO DA INGESTÃO DE NUTRIENTES

Os animais ingerem o alimento contendo dezenas de diferentes tipos de moléculas de nutrientes que proporcionam ao animal sobreviver, crescer e reproduzir-se. Dessa forma, muitos desses animais evoluíram a partir de uma extraordinária diversidade de meios e desafios para conseguir os nutrientes adequados para seu crescimento. À medida que tais estratégias evoluíram, os animais

adquiriram mecanismos de regulação da ingestão como, expansão do estômago e percepção do conteúdo energético de um determinado alimento, e até mesmo mecanismos complexos como a regulação da ingestão de nutrientes específicos. Hipoteticamente, um animal adaptado à alimentação de um único tipo de alimento "composição de nutrientes invariante" só precisa regular a quantidade de comida que ingere para assegurar uma regulação nutricional, por exemplo, usando receptores de estiramento do intestino (Simpson e Raubenheimer 2001).

No outro extremo, um animal que evoluiu dentro de um ambiente espacialmente e temporalmente heterogêneo, composto por inúmeros tipos de alimentos que variam muito em sua composição, pode ser capaz de alimentar-se de uma mistura de dieta nutricionalmente ideal, regulando a quantidade total de cada alimento ou nutriente consumido ao longo do tempo. Em nenhum desses casos extremos o animal requer sistemas de regulação específicos para cada nutriente para conseguir uma dieta equilibrada. No entanto, onde os alimentos variam em composição nutricional, há um grau de regularidade no ambiente de alimentação e as necessidades relativas nutricionais do animal para diferentes nutrientes podem mudar com o tempo, o que se torna vantajoso do ponto de vista da sobrevivência de uma espécie (Simpson e Raubenheimer 2001). Alguns autores preferem utilizar o termo "nutritional wisdom" ou sabedoria nutricional para a habilidade que os peixes possuem para regular o consumo de nutrientes (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994, 1995; Simpson e Raubenheimer, 2001; Fortes-Silva *et al.*, 2010; Fortes-Silva *et al.*, 2011). Esse termo foi pela primeira vez utilizada em animais no século passado, quando os animais ingeriam substâncias específicas, e dessa forma, mantinham a homeostase. Esse conceito também



foi utilizado para explicar o apetite dos bovinos pelo sódio (Katz, 1937).

As consequências metabólicas, devido ao consumo de uma dieta desequilibrada, podem levar o indivíduo a ter um comportamento característico de seleção de dietas. De acordo com Peters e Harper (1984), a ingestão de proteínas em ratos jovens não é regulada a uma proporção constante do total de calorias, mas é controlado entre um nível mínimo que vai apoiar o crescimento rápido através da disponibilidade de aminoácidos essenciais e um máximo que, se ultrapassado, o animal sofreria algumas consequências metabólicas substanciais. Da mesma forma, de acordo com Simpson e Raubenheimer (2001), um peixe que cumpre o seu objetivo de ingestão de cada nutriente específico irá fornecer aos seus tecidos, nutrientes em concentrações ideais para o bom crescimento e reprodução. Dessa forma, existem fortes evidências na literatura de que a maioria dos vertebrados possui alguma habilidade para selecionar uma dieta balanceada em nutrientes através de mecanismos pós-ingestivos numa tentativa de controlar os efeitos adversos de uma alimentação desequilibrada.

Em todos os vertebrados, a regulação do consumo, apetite e do peso corporal é um fenômeno complexo que envolve interações elaboradas entre o cérebro e sinais periféricos. O cérebro, principalmente o hipotálamo, produz fatores chaves que tanto podem estimular (orexígenos) ou inibir (anorexígenos) a ingestão de alimentos. Esses fatores podem estar diretamente relacionados com a busca ou rejeição por um determinado alimento e por sua vez, no comportamento alimentar. O hipotálamo é continuamente informado sobre o estado nutricional, energético e ambiental do organismo através de mensagens anorexígenicas e orexígenicas do sistema periférico e central. Os sinais periférico de feedback, incluem impulsos nervosos, peptídeos GIT, leptina, cortisol, glicose e insulina. Essas substâncias

estão integradas pelo centro da alimentação no hipotálamo. Neuropeptídeos e monoaminas transmitem os sinais do sistema central (Kulczykowska e Sánchez-Vázquez 2010).

Nos peixes, uma série de peptídeos homólogos aos mamíferos foram isolados ou sua sequência deduzido de sequências de cDNA clonado. Esses peptídeos incluem colecistoquinina, CCK (Peyon *et al.*, 1998), bombesina (Volkov *et al.*, 1999), neuropeptídeo Y (Blomqvist *et al.*, 1992; Cerdá-Reverter *et al.*, 2000), hormônio melanina concentrando (Baker *et al.*, 1995), galanina (Anglade *et al.*, 1994; Unniappan *et al.*, 2002; Wang e Conlon, 1994), propiomelanocorticoide (Cerdá-Reverter *et al.*, 2003), fator de liberação corticotropina (Bombardelli *et al.*, 2006) e as orexinas (Kaslin *et al.*, 2004). Informações sobre o papel desses neuropeptídeos no controle da ingestão alimentar e seu mecanismo de ação, bem como, o comportamento alimentar ou regulação de consumo de nutrientes em peixes, é crescente, mas ainda é muito limitada.

Em outras espécies como aves e suínos, vários estudos foram realizados, visando quantificar o controle da ingestão de nutrientes, como a proteína, por meio de técnicas de auto-seleção de dietas. Em bovinos, estudos de décadas atrás mostraram a importância do comportamento alimentar e a seleção de dietas para estudos de nutrição. Os ruminantes se deparam com uma enorme variedade de alimentos a pasto com concentrações de nutrientes e toxinas que variam conforme o tipo de forragem, estação do ano, etc... (Freeland e Janzen, 1974; Provenza *et al.*, 1998). Apesar deste desafio, os animais conseguem selecionar dietas com níveis adequados de nutrientes e menor em toxinas, indicando que a seleção de alimentos não é aleatória nesses animais (Newman *et al.*, 1992; Illius e Gordon, 1993). Porque não utilizar



informações comportamentais de autoseleção de dietas em estudos que preconizam ingestão e regulação de nutrientes em peixes?

O mecanismo básico proposto para controlar a ingestão de proteínas em peixes já foi descrito em mamíferos em que a proteína pode ser detectada por receptores gastrointestinal durante a digestão (Rubio *et al.*, 2003, Almaida-Pagán *et al.*, 2006, Fortes-Silva *et al.*, 2011) e / ou aminoácidos podem ser detectados no fígado (Bellinger *et al.*, 1996) após a digestão. Esses receptores provocariam sinais (atividade neural e hormonais), informando centros cerebrais sobre as propriedades nutricionais dos alimentos e, desta forma, modificando o comportamento alimentar. Com esta informação chamada de "recompensa nutricional", os animais aprendem a associar a ingestão excessiva ou pouco expressiva de um determinado nutriente com as suas consequências metabólicas em nível pós-ingestivo e / ou pós-absortivo (Forbes 2001).

APRENDIZAGEM E COMPORTAMENTO

Três estados do conhecimento são relevantes para o comportamento alimentar: aprendizado a curto prazo e memória; memória intermediária através de efeitos parental; e memória ancestral que engloba o efeito genético no fenótipo. Assim, um animal nasce com um conjunto de expectativas, por exemplo, sobre quais tipos de alimentos serão encontrados. A aprendizagem com a experiência, permite ao animal avaliar se um alimento pode fornecer, de forma satisfatória ou não, um aporte de nutrientes aos seus "requisitos nutricionais" utilizando este aprendizado para prever consequências futuras.

Três tipos de aprendizagem pelo estado nutricional têm sido relatados para insetos e vertebrados (Simpson e Raubenheimer, 1996;

Berthoud e Seeley, 2000): (a) aprendizagem de associações positivas (por exemplo, lembrando-se de pistas que levem a locais onde antes havia um alimento rico em proteína), (b) aprendizagem de aversões (por exemplo, lembrando-se de pistas que permitam ao animal evitar locais previamente associados com tóxicos ou alimentos pobres em nutrientes), e (c) respostas não-associativa (por exemplo, simplesmente mover-se mais para encontrar novos alimentos atraentes, no que diz respeito ao seu estado de déficit nutricional). Estado do conhecimento pode ter um efeito direto sobre a estratégia de busca utilizada por um organismo. Por exemplo, na ausência de informações locais pertinentes, os indivíduos podem preferir espera a que usar uma estratégia de busca aleatória (Viswanathan *et al.*, 1999; Bartumeus *et al.*, 2005).

Esse tipo de aprendizado foi colocado a prova com sucesso pela primeira vez em uma espécie de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*). Segundo Rubio *et al.*, (2003), os peixes foram capazes, através de vários desafios nutricionais, compor uma dieta equilibrada em nutrientes utilizando simplesmente a cor do alimento e o local de entrega desse alimento como parâmetro para selecionar os devidos nutrientes. Outros autores observaram este mesmo comportamento com outra espécie marinha (*Diplodus puntazzo*). Esses animais associavam uma determinada cor e local com o alimento ingerido, sendo capazes de aumentar a ingestão de proteína quando a mesma foi diluída, mostrando que o animal procurava manter um padrão constante de consumo desse nutriente (Almaida-Pagán *et al.*, 2006).

COMEDOURO A DEMANDA

Para alimentar os peixes adequadamente é necessário um



conhecimento sobre sua necessidade metabólica, mas também sobre seu comportamento alimentar. Esse conhecimento prévio nos permite realizar um manejo mais adequado às espécies cultivadas (Brännäs e Alanära, 1992). Novas técnicas têm sido desenvolvidas para registrar ritmos de atividade alimentar e seleção de alimentos, ou preferência alimentar em peixes.

Pela primeira vez, Sánchez-Vázquez *et al.*, (1994) desenvolveu um alimentador de autodemanda para os peixes. O dispositivo de alimentação é conectado a um microcomputador e permite a gravação contínua do comportamento alimentar e do horário exato de preferência alimentar pelos peixes (ver figura 1).

A ativação do comedouro é controlada por um pulso elétrico gerado a cada ativação realizada pelos peixes através de um sensor de estiramento colocado na superfície da água. Esse pulso elétrico passa por um solenóide que movimenta uma peça responsável pela dispensa do alimento. Dessa forma, o peixe consegue se autoalimentar ou mesmo, praticar a seleção entre dietas em comedouros distintos. Esse sistema foi considerado um avanço para o estudo de comportamento alimentar em peixes, pois permitiu o desenvolvimento de um sistema computacional que proporcionou registros mais precisos dos dados através de um software cronobiológico que registra as atividades. De acordo com Azzaydi *et al.*, (1998) a autoalimentação, é baseada na capacidade de aprendizagem dos peixes e, portanto, é uma técnica que pode melhorar índices de desempenho e reduzir desperdício já que o alimento é entregue dependendo do apetite. Em um sistema de autoalimentação, presume-se que os peixes são capazes de controlar com precisão, o arraçoamento, simplesmente acionando um sensor "gatilho" introduzido na água (Alanära 1996). Além disso, o sistema de comedouros de autodemanda

acoplado a um sistema computacional, permite quantificar a atividade alimentar dos peixes "ritmos circadianos ou anuais", podendo dessa forma, quantificar comportamentos alimentares noturnos, diurnos, crepusculares ou mesmo duais.

Esse sistema foi aprimorado e adaptado com a utilização de comedouros digitais e células fotoelétricas (Fig. 2). Dessa forma, o comedouro é acionado pela presença do animal em um determinado ponto do tanque e pela associação daquele local e a dispensa do alimento "aprendizagem associada à recompensa" (Forbes 2001). Esse sistema é utilizado para animais mais jovens ou animais que possuem formato de boca que impossibilite o acionamento do comedouro através do sensor de estiramento.

RITMOS CIRCADIANOS DE ALIMENTAÇÃO

A maioria dos animais permanece ativa durante o dia ou durante a noite e raramente estão ativos durante as 24h. Os animais adquiriram esses padrões como resultado de um longo período de evolução, por exemplo, com a presença de predadores e a necessidade de otimizar a captura e ingestão do alimento. Na maioria das espécies o comportamento alimentar diurno e noturno foi fixado geneticamente. Porém, entre os peixes, não é raro observar espécies que mostram uma grande flexibilidade de padrões de alimentação e atividade locomotora. Algumas dessas espécies são capazes de mostrar comportamento diurno e noturno em diferentes momentos da sua vida, estas são espécies duais. Para que uma espécie adote um tipo de comportamento são fundamentais dois fatores, a) de um marca-passo circadiano que gera automaticamente oscilações em variáveis



comportamentais e b) do efeito mascarado que exerce a luz sobre a atividade do peixe. As espécies diurnas são aquelas em que seus marca-passos circadianos estão sincronizados com a fase de iluminação (fotofase) do ciclo luz/escuridade, onde a luz estimula seu comportamento alimentar. Por sua vez, nas espécies noturnas a luz exerce um efeito mascarado negativo e seu marca-passo está sincronizado à fase de escuridade (escotofase). A truta é uma espécie predominantemente diurna (Boujard and Leatherland, 1992), enquanto que a tenca (*Tinca tinca*) (Herrero *et al.*, 2005, Vera *et al.*, 2005) e o catfish (*Ameiurus melas*) são estritamente noturnos. No caso das espécies duais, seu marca-passo poderia sincronizar com as duas fases do ciclo de luz e escuridade, enquanto que a luz pode exercer efeito estimulador ou inibidor dependendo da fase comportamental em que se encontra.

Entre as espécies, a mais estudada foi o robalo europeu (Aranda *et al.*, 1999; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a, 1995b). Em laboratório, robalos procedentes da mesma desova, mantidas em circuito fechado de recirculação e alimentadas com comedouros a demanda, podem mostrar comportamento alimentar noturno em alguns tanques, enquanto que, simultaneamente, em outros tanques, mostram comportamento diurno. Além disso, a mesma espécie pode inverter seu comportamento de diurno a noturno e vice-versa em poucos dias (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a, 1995b). Nessas condições ambientais restritas, se a recompensa "alimento disparado pelo alimentador à demanda" se restringe à fase oposta a da alimentação espontaneamente do peixe, é possível que alguns peixes invertam seu comportamento para adequar a disponibilidade de alimento, entretanto, alguns peixes persistem em suas autodemandas na fase de onde agora não há alimento no comedouro, o que indica certa resistência dos peixes para alimentar

fora da sua fase de atividade espontânea (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b).

Quando se analisa o comportamento alimentar do robalo europeu em condições ambientais naturais, é possível observar também as inversões de comportamento, e neste caso este peixe parece estar sincronizado com as mudanças estacionais de fotoperíodo e de temperatura. Assim, no inverno, os robalos são noturnos, com um pico de atividade alimentar após o sol se pôr e a maioria das demandas alimentares acontece no período noturno, enquanto que no verão, suas demandas alimentares são diurnas. Durante a primavera e o outono, estes peixes mostram padrões de transição de um tipo ao outro (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998).

Além do robalo europeu, outras espécies como o salmão do atlântico (Fraser *et al.* 1995), o goldfish (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1996) e o sargo bicudo (Vera *et al.*, 2006) parecem apresentar este comportamento dual. Recentemente, foi observado em tilápia, espécie de água doce, o mesmo comportamento dualístico, contrariando o que se sabia até o momento sobre esta espécie considerada diurna. As tilápias colocadas individualmente em tanques experimentais com fotoperíodo 12:12LD mudaram seu comportamento e passaram a se alimentar no período noturno (Fortes-Silva *et al.*, 2010). Mesmo que o significado biológico dessa mudança não esteja totalmente desvendado, é possível que este comportamento esteja relacionado com um ou vários dos seguintes fatores: a) evitar predadores; b) aproveitar as mudanças nas disponibilidades de alimento; c) reprodução. Em qualquer destes casos, o dualismo do robalo europeu e das outras espécies nas quais este comportamento pode aparecer, é preciso ter em conta à hora para estabelecer uma estratégia de alimentação adaptada aos seus ritmos de alimentação.



SELEÇÃO DE DIETAS E NUTRIENTES

Com a metodologia de comedouro a demanda, foi possível observar a habilidade de várias espécies de peixes para utilizar os comedouros e discriminar concentrações adequadas de nutrientes. De acordo com Hidalgo *et al.*, (1988), o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) não só foi capaz de selecionar uma dieta equilibrada em metionina, mas também foi capaz de detectar níveis do nutriente considerados adequados para a nutrição da espécie. Já a truta arco-íris foi capaz de detectar níveis adequados de zinco para manter seu estado nutricional (Cuenca *et al.*, 1993). Outra espécie, a *Sparus aurata* detectou e selecionou uma dieta adicionada de vitamina C (Paspatis *et al.*, 1997), mostrando a habilidade da espécie em selecionar um alimento nutricionalmente completo. Todos os autores chegaram a conclusão de que a metodologia de comedouros a demanda é uma ferramenta essencial para o entendimento da relação entre o consumo de um nutriente e seus efeitos comportamentais.

Fortes-Silva *et al.*, (2010) conduziram um experimento com o objetivo de avaliar a preferência alimentar da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para três diferentes fontes de lipídeos, óleo de soja, linhaça e óleo de peixe. Para isso, três comedouros a demanda foram instalados contendo as distintas dietas em termos de lipídeo. Após alguns dias, os peixes estabeleceram uma clara preferência pela dieta que continha óleo de linhaça. Para impor um desafio aos peixes, as dietas foram trocadas entre os comedouros. Após alguns dias os peixes restabeleceram a preferência inicial pela dieta de linhaça. Segundo os autores, apesar das tilápias preferirem a dieta contendo óleo de linhaça, houve um consumo relativamente constante das demais dietas, o que leva a pensar que os

peixes estabeleceram níveis de consumo de cada dieta contendo os diferentes óleos.

Uma das principais preocupações sobre alimentos utilizados na aquicultura são os efeitos antinutricionais, como o fósforo fítico ou fitato, presente nas farinhas de origem vegetal. A presença deste componente em uma dieta pode provocar diminuição do consumo e, por consequência perda de peso entre os peixes. Fortes-Silva *et al.*, (2010), observaram uma substancial preferência alimentar da tilápia do Nilo, através dos comedouros a demanda, pela dieta a base de farinha de soja adicionado da enzima fitase em comparação à mesma dieta, porém, sem a enzima. Esta enzima é capaz de hidrolisar o fósforo fítico e promover a liberação de minerais quelatados na dieta. Os autores observaram ainda, que quando foi adicionado ácido fítico exógeno, para aumentar a concentração deste composto na dieta, houve uma diminuição progressiva do consumo do alimento. Esses dados também foram observados em robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), que diminuiu consideravelmente as demandas nos comedouros que havia uma dieta com 30% de farinha de soja sem adição de fitase (Fortes-Silva *et al.*, 2011). O efeito positivo da fitase no incremento de cálcio e fósforo nos ossos do robalo foi observado pelos autores.

Em um grau de desafio ainda maior, a metodologia de comedouros a demanda permitiu estudar a habilidade dos peixes em compor uma dieta equilibrada em nutrientes. Almada pagan *et al.*, (2006) ao oferecerem ao *Diplodus puntazzo* a possibilidade de demandar três macronutrientes puros (proteína, lipídeo e carboidrato) separadamente em três comedouros a demanda, observaram a capacidade desse peixe em compor uma dieta equilibrada nesses nutrientes e rica em proteínas, dieta essa muito semelhante ao relatados para peixes carnívoros como a truta arco-íris que selecionou uma



dieta com 63,8% proteína e 18,5% lipídeos (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1999). Esses dados também foram semelhantes à de outra espécie carnívora, como o robalo europeu que selecionou (58,8% proteína e 19,4% de lipídeos) utilizando a mesma metodologia de comedouros a demanda (Aranda *et al.*, 2000). Porém, esses dados foram distintos do observado para o goldfish que é uma espécie onívora. Este peixe selecionou uma dieta de baixo teor em proteína (18,9% proteína e 33,8% lipídeos) (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998). Em todos os casos, foi preciso oferecer aos peixes um desafio para comprovar a preferência pelos níveis selecionados das dietas. Mesmo realizando a mudança dos nutrientes entre os comedouros após os peixes estabelecerem um consumo constate dos nutrientes, foi possível observar que os animais voltam a restabelecer os níveis de ingestão de cada nutriente. Quando se diluía o nutriente em questão, rapidamente as demandas por este nutriente eram incrementadas, mostrando a capacidade de regulação do consumo das espécies estudadas e um "alvo" ou preferência por ingestão de uma determinada concentração do nutriente.

A metodologia de comedouro a demanda proporciona avaliar a preferência alimentar dos peixes e uma meta de consumo dos peixes por cada nutriente oferecido. Contudo, essa metodologia não é capaz de separar os efeitos fisiológicos da ingestão dos nutrientes e suas propriedades organolépticas. Foi preciso desenvolver uma nova metodologia que isolasse esse efeito de sabor, textura e cheiro para determinar até que ponto a regulação dos nutrientes é influenciada por fatores endógenos. A regulação da ingestão envolve múltiplos mecanismos que se interagem para o controle fisiológico e comportamental. Entre os mecanismos utilizados para esses controles, os sinais pré e pós-ingestivos oferecem ao animal uma resposta comportamental

antecipatória à alimentação. Dessa forma, os peixes aprendem a relacionar as consequências metabólicas da ingestão de um alimento a comportamentos específicos futuros (Forbes 2001).

Rubio *et al.*, (2003), propôs uma nova metodologia de autosseleção por encapsulamento de macronutrientes como proteínas, carboidratos e lipídeos a fim de demonstrar a capacidade de aprendizagem associativa entre a cor das cápsulas e a ingestão de nutrientes do robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*). Essa técnica veio complementar à dos comedouros a demanda. A técnica consiste em mascarar as propriedades sensoriais do alimento, numa tentativa de demonstrar os efeitos da ingestão de determinados nutrientes no comportamento dos peixes. Dessa forma, cada macronutriente era encapsulado em cápsulas de cores distintas, de mesma textura, cheiro e sabor. Estas cápsulas eram administradas a mão, sem uso de comedouros, aos peixes que as ingeriram de forma que, o único padrão para seleção das dietas era os efeitos endógenos associados às cores das cápsulas. Passado algum tempo, os autores observaram que os peixes estabeleciam um padrão constante de consumo de cada cápsula. Esse padrão de consumo condizia com o hábito alimentar da espécie estudada, que foi capaz de consumir uma dieta equilibrada.

Almaida-Pagán *et al.*, (2006), utilizando a mesma metodologia em (*Diplodus puntazzo*), observou que os animais não só estabeleciam um padrão de consumo dos macronutrientes, mas também era capaz de aumentar o consumo do alimento fornecido quando a proteína lhes era fornecida em menor proporção, ajustando dessa forma o consumo do nutriente. A composição da dieta selecionada pelo *Diplodus puntazzo* foi 62.7% de proteína, 21.3% de carboidratos e 16.0% de lipídeos em termos de porcentagem de macronutrientes puros. Esses



dados eram semelhantes aos encontrados por Vivas *et al.*, (2006) que utilizaram a metodologia de comedouras a demanda citada anteriormente. Almáida-Pagán *et al.*, (2008), observaram que mesmo trocando o conteúdo das cápsulas, ou seja, cápsulas que anteriormente continham proteínas, agora foram recheadas com carboidratos e as de carboidratos foram recheadas com lipídeos, os peixes foram capazes de perceber essa mudança e restabelecer seu padrão de consumo de cada macronutriente, mostrando uma forte influência pós-ingestiva no comportamento de ingestão de cada macronutriente.

Recentemente Fortes-Silva *et al.*, (2011), testaram a metodologia de dietas encapsuladas em tilápia. Os autores observaram que este ciclídeo também possui capacidade de compor uma dieta equilibrada. Quando a proteína era diluída, os peixes aumentavam a ingestão da dieta para manter o padrão de consumo de proteínas e quando foi oferecido aos animais somente cápsulas de carboidrato e lipídeo, os peixes mantinham a ingestão dessas cápsulas para regular a ingestão energética. Esse comportamento não foi observado no robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), já que esta espécie deixava de se alimentar quando não lhes era fornecido cápsulas de proteína, comportamento característico de peixes carnívoros (Rubio *et al.*, 2005). Dessa forma, foi possível observar que a tilápia "onívora" possui uma maior tolerância a dietas de baixo conteúdo protéico, já o robalo europeu "carnívoro" deixa de se alimentar se os níveis protéicos não correspondem a suas exigências nutricionais.

Os desafios impostos aos peixes pela diluição do nutriente, e

consequentemente, o aumento no consumo das cápsulas na tentativa de restabelecer o padrão de ingestão, ou mesmo a paralisação do consumo pelo robalo quando a proteína não era oferecida, mostraram uma forte influência endógena no consumo, o que é independente das características organolépticas do alimento. A metodologia de nutrientes encapsulados contribuiu para elucidar as observações feitas quando a seleção de dietas era praticada por comedouros a demanda, de que os animais são capazes de selecionar uma dieta de acordo com suas necessidades nutricionais. Todos os dados apresentados aqui, sobre seleção de dietas, devem ser usados para discutir questões como regulação do consumo, preferência alimentar e bem-estar relacionado à alimentação, quando o objetivo é formulação de dietas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão apresentada aqui mostrou um novo enfoque para o estudo de nutrição e a importância do comportamento dos peixes em relação aos efeitos endógenos proporcionados pelos alimentos. Usando o animal como nosso "guia" para formular dietas, podemos utilizar a vasta complexidade do espaço nutricional para chegar a soluções otimizadas de formulação de ração, regulação de consumo e bem-estar em peixes. Da mesma forma, a metodologia de comedouro a demanda estabelece um novo conceito para os estudos cronobiológicos em peixes, quantificando com exatidão as preferências de horário de alimentação e seus sincronizadores.

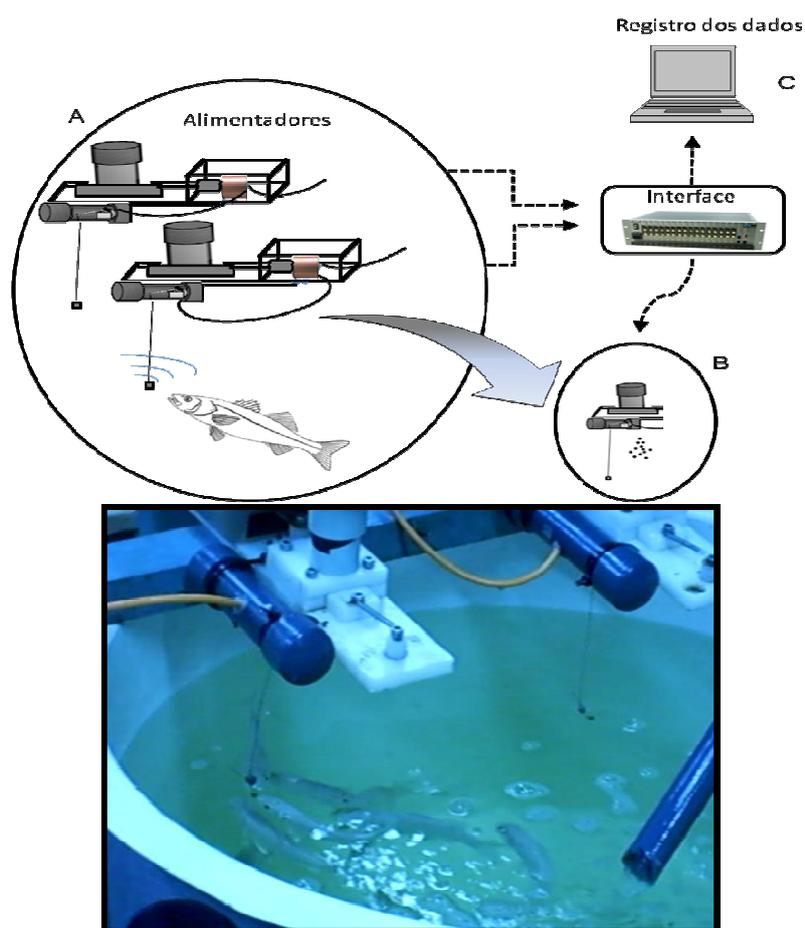


Fig. 1- Autoalimentação através de sensor de estiramento “gatilho”. Os dois comedouros possibilitam o fornecimento de dietas distintas separadamente para a autosseleção praticada pelo peixe, bem como o horário preferido de alimentação. A: comedouros, B: entrega do alimento, C: registro da atividade alimentar.

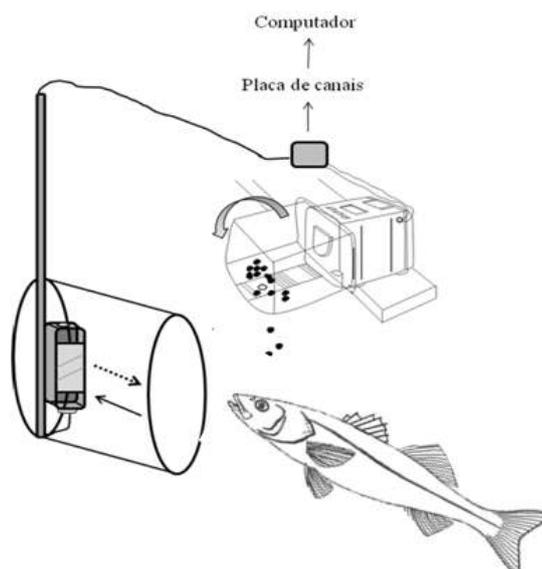


Fig. 2- Atividade alimentar. O comedouro é acionado por uma célula fotoelétrica, previamente introduzida na água, devido à captação da presença do(s) peixes(s). O tubo revestindo a célula fotoelétrica possibilita que a célula capte a presença do



peixe somente em seu interior, permitindo que o disparo do comedouro não seja casual ocorrendo à aprendizagem associada à recompensa. Os dados são transferidos para uma placa de canais que codifica os sinais e os armazena no computador.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almaida-Pagán, P.F.; Seco-Rovira, V.; Hernández, M.D.; Madrid, J.A., De Costa J. and Mendiola, P. 2008. Energy intake and macronutrient selection in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) challenged with fat dilution and fat deprivation using encapsulated diets. *Physiol. Behav.*, 93:474-480.

Almaida-Pagán, P.F.; Rubio, C.V.; Mendiola, P.; De Costa J. e Madrid, J.A. 2006. Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpsnout seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. *Physiol. Behav.*, 88: 550-558.

Alanärä, A. and Brännäs, E. 1996. Dominance in demand-feeding behaviour in Arctic charr and rainbow trout; The effect of stocking density. *J. Fish Biol.*, 48: 242-254.

Anglade, I.; Wang, Y.; Jensen, J.; Tramu, G.; Kah, O. and Conlon, J.M. 1994. Characterization of trout galanin and its distribution in trout brain and pituitary. *J. Comp. Neurol.*, 350: 63-74.

Aranda, A.; Madrid, J.A.; Zamora, S. and Sánchez-Vázquez F.J.. 1999. Synchronizing effect of photoperiod on the dual phasing of demand-feeding rhythms in sea bass. *Biological Rhythm Research*, 30: 392-406.

Aranda, A.; Sánchez-Vázquez, F.J.; Zamora, S. and Madrid, J.A. 2000. Self-design of fish diets by means of self-feeders: validation of procedures. *Journal of Physiology and Biochemistry* 56: 155-166.

Azzaydi, M.; Madrid, J. A.; Zamora, S.; Sánchez-Vázquez, F.J.; Martínez, F.J. 1998. Effect of three feeding strategies (automatic, ad libitum demand-feeding and time restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, 163:285-296.

Baker, B.; Levy, A.; Hall, L. and Lightman, S. 1995. Cloning and expression of melanin-concentrating hormone genes in the rainbow trout brain. *Neuroendocrinology* 61: 67-76.

Baldan, A.P. e Bendhack, F. 2009. Maricultura sustentável no litoral do paran, brasil: atualidades e perspectivas. *Rev. Acad., Cinc. Agrr. Ambient.*, 7(4): 491-497.

Bartumeus, F.; da Luz M. G. E.; Viswanathan, G. M. and Catalan, J. 2005. Animal search strategies: a quantitative random-walk analysis. *Ecology* 86:3078-3087.



Bellinger, L.L.; Williams, F.E.; Rogers, Q.R. e Gietzen, D.W. 1996. Liver denervation attenuates the hypophagia produced by an imbalanced amino acid diet. *Physiol. Behav.*, 59:925-929.

Benetti, D.; Sardenberg, B.; Hoenig, R.; Welch, A.; Stieglitz, J.; Miralao, S.; Farkas, D.; Brown, P. e Jory, D. 2010. Cobia (*Rachycentron canadum*) hatchery-to-market aquaculture technology: recent advances at the University of Miami Experimental Hatchery (UMEH). *R. Bras. Zootec.* 39: 60-67.

Berthoud, H.R. and Seeley, R.J. 2000. *Neural Control of Macronutrient Selection*, CRC Press.

Blomqvist, A.G.; Soderberg, C.; Lundell, I.; Milner, R.J. and Larhammar, D. 1992. Strong evolutionary conservation of neuropeptide Y: sequences of chicken, goldfish, and Torpedo marmorata DNA clones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 2350-2354.

Bombardelli, R.A.; Syperreck, M.A. e Sanches, E.A. 2006. Hormônio Liberador De Gonadotrofinas em Peixes: Aspectos Básicos E Suas Aplicações. *Arq. ciên. vet. zool.*,9:59-65.

Bosma, R.H. e Verdegem M.C.J. 2011. Sustainable aquaculture in ponds: Principles, practices and limits. *Livestock Science* 139: 58-68.

Boujard, T. and Leatherland, J. F.,1992 Circadian rhythms and feeding time in fishes. *Env. Biol. Fishes*, 35: 109-131.

Brännäs, E. and Alanära, A. 1992. Feeding behaviour of the Arctic charr in comparison with the rainbow trout. *Aquaculture*, 105: 53-59.

Cerdá-Reverter, J.M. and Larhammar, D., 2000. Neuropeptide Y family of peptides: structure, anatomical expression, function, and molecular evolution. *Biochem. Cell Biol.*, 78: 371-392.

Cerdá-Reverter, J.M.; Martinez-Rodriguez, G.; Zanuy, S.; Carrillo, M. and Larhammar, D., 2000. Molecular evolution of the neuropeptide Y (NPY) family of peptides: cloning of three NPY-related peptides from the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Regul. Pept.*, 95: 25-34.

Conceição, L.E.C.; Aragão, C.; Richard, N.; Engrola, S.; Gavaia, P.; Mira, S. e Dias, J. 2009. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. *R. Bras. Zootec.*, 38:26-35.

Cuenca, E.; Diz, M. and de La Higuera, G. 1993. Self-selection of a diet covering zinc needs in the trout. In: Kaushik, S., Luquet, J. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice*. INRA, pp. 413-418.

FAO. 2009. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2008*. Rome, FAO.

FAO.2011. Fisheries and Aquaculture Department. . In: *FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. Rome. Updated 22 July 2011. [Cited 29 August 2011].

Forbes, J.M. 2001. Consequences of feeding for future feeding. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 128: 463-70.



Fortes-Silva, R.; Martínez, F.J. and Sánchez-Vázquez, F.J. 2011. Macronutrient selection in Nile tilapia fed gelatin capsules and challenged with protein dilution/restriction. *Physiol. And Behav.*, 102:356-360.

Fortes-Silva, R.; Martínez, F.J.; Villaroel, M. and Sánchez-Vázquez, F.J., 2010. Daily feeding patterns and self-selection of dietary oil in Nile tilapia. *Aquacul. Res.*, 42:157-160.

Fortes-Silva, R.; Sánchez-Vázquez, F.J. and Martínez, F.J. 2011. Effects of pretreating a plant-based diet with phytase on diet selection and nutrient utilization in European sea bass. *Aquaculture* 319:417-422.

Freeland, W. J., and D. H. Janzen. 1974. Strategies in herbivory by mammals: the role of plant secondary compounds. *Am. Nat.*, 108:269-289.

Herrero, M.J. 2007. Tesis Doctoral Universidad de Murcia. pp30-35.

Hidalgo, F.; Kentouri, M. and Divanach, P. 1988. Sur l'utilisation du self feeder comme outil d'épreuve nutritionnelle du loup, *Dicentrarchus labrax* résultats préliminaires avec la méthionine. *Aquaculture* 68: 177-190.

Illius, A.W. and Gordon, I.J. 1993. Diet selection in mammalian herbivores: constraints and tactics. In: R. N. Hughes (ed.) *Diet Selection: An Interdisciplinary Approach to Foraging Behaviour*. Blackwell, Oxford. pp 157-180.

Kaslin, J.; Nystedt, J.M.; Ostergard, M.; Peitsaro, N. and Panula, P. 2004. The orexin/hypocretin system in zebrafish is connected to the aminergic and cholinergic systems. *J. Neurosci.* 24: 2678-2689.

Katz, D. 1937. *Animals and Man. Studies in Comparative Psychology*. Longmans, Green & Co. London.

Kulczykowska, E. and Sánchez-Vázquez, F.J. 2010. Neurohormonal regulation of feed intake and response to nutrients in fish: aspects of feeding rhythm and stress, *Aquacul. Res.*, 41: 654-667

Madrid, J.A.; Sánchez-Vázquez, F.J. y Martínez, F. J. La nutrición y alimentación en acuicultura "Alimentación en piscicultura" Fundación Observatorio Español de Acuicultura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2009, p698.

Manetta, G.I e Benedito-Cecilio, E. 2003. Aplicação da técnica de isótopos estáveis na estimativa da taxa de turnover em estudos ecológicos: uma síntese. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 25:121-129.

Newman, J. A., Parsons, A.J. and Harvey, A. 1992. Not all sheep prefer clover: diet selection revisited. *J. Agric. Sci.*, 119:275-283.

Paspatis, M.; Kentouri, M.; Krystalakis, N. 1997. Vitamin C: a factor on feed preference of sea bream (*Sparus aurata*). *Proceedings of the 5th Hellenic Symposium on 361 Oceanography and Fisheries, Kavala, Greece*, pp. 169-172.



Pereira-da-Silva, E.M.; Orsoli, D.N.; Araújo, L.F.; Cantelmo, O.A. e Merighe, J.K.F. 2004. Regulação da ingestão protéica na tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. R. Bras. Zootec., 33: 1921-1927.

Peters, J.C. and Harper, A.E. 1984. Influence of dietary protein level on protein self selection and plasma and brain amino acid concentrations. *Physiol. Behav.*, 33:783-90.

Peyon, P.; Lin, X.W.; Himick, B.A. and Peter, R.E., 1998. Molecular cloning and expression of cDNA encoding brain preprocholecystokinin in goldfish. *Peptides* 19: 199-210.

Provenza, F.D., Villalba, J.J.; Cheney, C.D and Werner, S.J. 1998. Self-organization of foraging behavior: From simplicity to complexity without goals. *Nut. Res. Rev.*, 11:199-222.

Rubio, V.C.; Sánchez-Vázquez, F.J. and Madrid, J.A. 2003. Macronutrient selection through postingestive signals in sea bass fed on gelatine capsules. *Physiol. Behav.* 78:795-803.

Rubio, V.C.; Sánchez-Vázquez, F.J. and Madrid, J.A. 2005. Fish macronutrient selection through post-ingestive signals: Effect of selective macronutrient deprivation. *Physiol and Behav.*, 84:651-657.

Ruohonen, K.; Simpson, S.J. and Raubenheimer, D. 2007. A new approach to diet optimisation: A re-analysis using European whitefish (*Coregonus lavaretus*). *Aquaculture* 267: 147-156.

Rust, M.; Hardy, R.W. and Stickney, R.R. 1993. A new method for force-feeding larval fish. *Aquaculture* 116:341-352.

Sánchez-Vázquez, F.J.; Azzaydi, M.; Martínez, F.J.; Zamora, S. And Madrid, J.A. .1998a Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology International* 15: 607-622.

Sánchez-Vázquez, F.J.; Madrid, J.A. and Zamora, S. 1995a. Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L: dual phasing capacity of diel demand feeding pattern. *J. Biol. Rhythms*, 10: 256-266.

Sánchez-Vázquez, F.J.; Madrid, J.A.; Zamora, S.; Iigo, M. And M. Tabata. 1996 Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: dual and independent phasing. *Physiol. and Behav.*, 60: 665-674.

Sánchez-Vázquez, F.J.; Martínez, M.; Zamora, S. e Madrid, J.A. 1994. Design and performance of an accurate demand feeder for the study of feeding behaviour in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Physiol. Behav.*, 56: 789-794.

Sánchez-Vázquez, F.J.; Yamamoto, T.; Akiyama, T.; Madrid, J.A. and Tabata, M. Selection of macronutrients by goldfish operating self-feeders. *Physiol. Behav.*, 65:211-218.

Sánchez-Vázquez, F.J.; Zamora, S. and Madrid, J.A. 1995b. Light-dark and food restriction cycles in Sea bass: effect of conflicting zeitgebers on demand feeding rhythms. *Physiol and Behav.*, 58: 705-714.



Simpson, S.J and Raubenheimer, D. 2001. A framework for the study of macronutrient intake in fish. *Aquacult. Res.*,32:421-32.

Simpson, S.J. and Raubenheimer, D. 1996. Feeding behaviour, sensory physiology and nutrient feedback: a unifying model. *Entomol. Exp. Appl.*, 80: 55-64

Sánchez-Vázquez, F.J.; Yamamoto, T.; Akiyama, T.; Madrid, J.A and Tabata M. 1999. Macronutrient self-selection through demand-feeders in rainbow trout. *Physiol. Behav.*, 66:45-51.

Unniappan, S.; Lin, X.; Cervini, L.; Rivier, J.; Kaiya, H.; Kangawa, K. and Peter, R.E. 2002. Goldfish ghrelin: molecular characterization of the complementary deoxyribonucleic acid, partial gene structure and evidence for its stimulatory role in food intake. *Endocrinology* 143: 4143-4146.

Vera, L.M.; López-Olmeda, J.F.; Bayarri, M.J.: Madrid, J.A. And Sánchez-Vázquez, F.J.2005. Influence of light intensity on plasma melatonin and locomotor activity rhythms in tench. *Chronobiology International*, 22: 67-78.

Vera, L.M.; Madrid, J.A. And Sánchez-Vázquez, F.J. 2006. Locomotor, feeding and melatonin daily rhythms in sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo*). *Physiol. Behav.*, 88: 167-172.

Volko, V.H.; Bjorklund, J.M. and Peter, R.E. 1999. Stimulation of feeding behavior and food consumption in the goldfish, *Carassius auratus*, by orexin-A and orexin-B. *Brain Res.*, 846: 204-209.

Volpato, G.L. 2007. Considerações metodológicas sobre os testes de preferência na avaliação do bem-estar em peixes. *R. Bras. Zootec.*, 36:53-61.

Vivas, M.; Rubio, V.C.; Sánchez-Vázquez, F.J.; Mena, C.; García García, B. and Madrid, J.A. 2006. Dietary self-selection in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) fed paired macronutrient feeds and challenged with protein dilution. *Aquaculture* 251:430-437.

Viswanathan, G.M.; Buldyrev, S.V.; Havlin, S.; da Luz, M.G.E.; Raposo, E.P. and Stanley, H.E. 1999. Optimizing the success of random searches. *Nature* 401: 911-914.

Wang, Y. and Conlon, J.M. 1994. Purification and characterization of galanin from the phylogenetically ancient fish, the bowfin (*Amia calva*) and dogfish (*Scyliorhinus canicula*). *Peptides* 15: 981-986.