

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO
DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL CURSO
DE MESTRADO

**RITMO DIÁRIO DA ATIVIDADE ALIMENTAR E
PARÂMETROS DIGESTIVOS DO TAMBAQUI (*Colossoma
macropomum*)**

Yane da Silva Reis

**CRUZ DAS ALMAS – BA
2017**

RITMO DIÁRIO DA ATIVIDADE ALIMENTAR E PARÂMETROS DIGESTIVOS DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

Yane da Silva Reis

Zootecnista

Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2014

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito final para a obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal (Nutrição de Organismos Aquáticos).

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

**CRUZ DAS ALMAS – BA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

R375r

Reis, Yane da Silva.

Ritmo diário da atividade alimentar e parâmetros digestivos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) / Yane da Silva Reis._ Cruz das Almas, BA, 2017.
47f.; il.

Orientador: Rodrigo Fortes da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Tambaqui (peixe) – Nutrição. 2.Tambaqui (peixe) – Alimentação e rações. 3.Digestibilidade – Avaliação.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.
II.Título.

CDD: 639.31

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**RITMO DIÁRIO DA ATIVIDADE ALIMENTAR E PARÂMETROS
DIGESTIVOS DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

**Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Yane da Silva Reis**

Aprovada em: 20 de Abril de 2017

Profº Dr. Rodrigo Fortes da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
Orientador

Profº Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal
Universidade Federal da Bahia
Examinador Externo

Dr. Felipe Guedes de Araújo Examinador
Externo

Profº Dr. Ricardo Castelo Branco Albinati
Universidade Federal da Bahia Examinador
Externo

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, devo tudo que consegui à Deus.

À minha família, que da maneira simples que eles têm, SEMPRE me ajudaram em todos os pontos. Em especial aos meus pais, Dona Date e Seu Edio, que mesmo sem muito conhecimento e instrução se esforçavam em entender o porquê da filhas deles estar longe de casa e ficar por meses sem visita-los. Preciso também agradecer uma família que eu tomei como minha, os Andrades e sua matriarca Dona Neném (vozinha), que me acolheram e sempre torceram muito por mim, acreditando em mim mesmo quando nem eu mais acreditava.

Ao meu companheiro de todos os momentos, meu amigo, meu amor Diego Flávio, que na maioria das vezes me chacoalhava e dizia deixa de choro por que se ainda não deu certo é por que não chegou ao fim e sempre me tira um sorriso. A compreensão e os ouvidos sempre disponíveis para me ouvir. E aquela frase: Hoje ainda é segunda feira, a semana ainda tem tudo pra dar certo. Eu te respeito, te admiro e sei que mesmo passando por todas as dificuldades vamos ficar fortes e juntos.

Não posso deixar de falar da família AquaUFRB que faz acontecer em todos os experimentos que lá ocorrem. Em especial ao meu Orientador Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva, que sempre sensato se preocupou com o bom andamento do meu projeto e sempre disponível. À minha mãe adotiva Dr. Denise Soledade, que eu não tenho nem palavras pra definir a sua importância tanto na execução do experimento quanto na vida pessoal. Quem leva alguém 6h da manhã na urgência passando mal?? Só uma mãe, né? Ah, tem também meus escraviários, Marcos Alexandre que por seus motivos não ficou até o final e Jonh Lennon que ficou comigo em todos os momentos, dias de coletas, madrugadas, feriados, aulas práticas, farras, um grande amigo que nem que ele queira, vou deixar passar. E a todos que já fizeram ou fazem parte desse grupo no tempo que lá permanceci e aprendi muito.

Também tem uns anjos e amigos que fizeram parte desse momento Dr. Bartira Guerra, que me treinou e me ensinou muitas coisas, inclusive a gostar de um nego bom, rapadura e a filar a boia na casa de Denise. Tatiana Almeida minha amiga de turma que me levava a força no centro pra bater perna sem um centavo só pra esquecer um pouco dos problemas.

Dedico Agradecimento às instituições que fizeram possível meu experimento acontecer: A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e o programa de mestrado em ciência animal que sempre estavam dispostos a resolver qualquer problemática. À Capes pelo fornecimento da bolsa acadêmica. A Universidade Federal do Vale do São Francisco em nome do prof Dr. e amigo Wagner Félix e À Empraba semiárido em nome da Dr. Josi Veschi (que me mostrou um mundo bem mais colorido) e Dr. Nataniel de Melo.

A todos o meu Muito Obrigada!

RITMO DIÁRIO DA ATIVIDADE ALIMENTAR E PARÂMETROS DIGESTIVOS DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

RESUMO: A ingestão de alimento, a atividade locomotora, bem como parâmetros fisiológicos podem ser afetados por questões endógenas relacionadas ao ritmo biológico dos animais. Em primeiro lugar, o objetivo deste trabalho foi determinar o ritmo de atividade alimentar (horário de preferência alimentar) utilizando um sistema denominado autodemanda ou autoalimentação (sistema que permite a autoalimentação sem interferência antrópica) a fase 1 desde trabalho.. Posteriormente foi avaliado o tempo de trânsito gastrointestinal (TTGI), digestibilidade da dieta e atividade da amilase intestinal do Tambaqui (*Colossoma macropomum*). Para avaliar o efeito da alimentação diurna e noturna foi determinado um protocolo já usado em experimentos cronobiológicos de alimentação em horário fixo (ML= metade do período de luz) e (MD=metade do período de escuridão). Para este fim, o fotoperíodo adotado foi de 12L: 12E. Para a fase 1, 36 animais foram distribuídos em 6 aquário equipados com alimentadores adaptados para o acionamento pelos peixes, perfazendo um total de 15 dias. Ao final desta fase, os dados foram transformados em gráficos “actogramas”. Após esta fase iniciaram os tratamentos de alimentação fixa. Na fase 2, foi investigada atividade da amilase intestinal, onde 48 animais foram distribuídos em 6 aquários e alimentados em ML e MD durante 15 dias até a sincronização, os dados desse período também foram utilizados para análise da atividade alimentar antecipatória (AAA) para essa espécie. Seguiu-se com a coleta de intestino em 6 pontos em 24h, o primeiro iniciando 1h pós prandial e os demais 4h após o anterior. Para o ensaio de TTGI, fase 3, 48 animais foram distribuídos em 12 aquários (2T e 6R) e alimentados em ML e MD por 8 dias até sincronização, em sequência alimentados com ração acrescida do marcador Fe_2O_3 e seguiu-se com a coleta do trato digestivo, para observação da presença ou ausência da digesta com marcador, em 8 pontos pós prandiais: 30min, 1h, 2h, 4h, 6h,, 12h, e 24h. A 4ª fase foi o ensaio de digestibilidade, 56 animais foram distribuídos em 8 incubadoras e alimentados em ML e MD (2T e 4R) com ração acrescida do indicador Cr_2O_3 durante 15 dias para adaptação e sincronização e assim iniciou-se a coleta de fezes durante 21 dias. Ao final desse período, realizou-se a análise de matéria seca, proteína bruta, energia bruta e cromo das fezes. Para atividade alimentar utilizou-se o teste T de Student ($p<0,01$), TTGI usou-se estimativas de probabilidade com o teste de Bonferroni ($p<0,05$). Para atividade enzimática e digestibilidade Teste F. O tambaqui apresentou atividade alimentar estritamente noturna (84,98%) pelo método da auto alimentação. Não foi possível identificar AAA nos gráficos de onda média e actogramas. Não foi encontrado diferença para digestibilidade em animais submetidos a alimentação ML e MD. A digesta permaneceu por mais tempo na última porção do intestino para o grupo MD. A atividade da amilase possui um pico noturno tanto para animais submetidos a ML e MD. Esse fato mostrou que a produção da amilase ocorre sempre a noite e não é sincronizada pela alimentação diurna.

Palavras chave: Digestibilidade, Enzima digestiva, Relógio biológico e Ritmo circadiano

DAILY RHYTHM OF THE ALIMENTARY ACTIVITY AND DIGESTIVE PARAMETERS OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

ABSTRACT: The ingestion of food, the locomotor activity, as well as physiological parameters can be affected by endogenous related to the biological rhythm of the animals. Firstly, the objective of this work was to determine the rhythm of food activity (mealtime preference), using a system called Self-feeding (a system that allows self-feeding without Anthropropic interference) the phase 1 of this work .. Subsequently the time of Gastrointestinal transit (TTGI), diet digestibility and amylase intestinal activity of Tambaqui (*Colossoma macropomum*). To evaluate the effect of diurnal and nocturnal feeding was determined a protocol already used in chronobiological experiments at fixed time (ML = half of the Period of light) and (MD = half of the period of darkness). To this end, the photoperiod was 12L: 12E. For stage 1, 36 animals were distributed in 6 aquarium equipped with feeders adapted for the activation by the fish, for a total of 15 days. At the end of this phase, the data were transformed into graphs "plot". After this phase the fixed feed treatments started. In stage 2, intestinal amylase activity was investigated, where 48 animals were distributed in 6 aquariums and fed ML and MD for 15 days until the synchronization, the data of this period were also used to analyze the anticipatory food activity (AAA) for this species. The intestine was collected at 6 points in 24 hours, the first one starting at 1h postprandial and the remaining 4h after the previous one. For the TTGI phase 3 assay, 48 animals were distributed in 12 aquaria (2T and 6R) and fed in ML and MD for 8 days until synchronization, in sequence fed with increased feed Fe 2 O 3 and followed with The collection of the digestive tract, to observe the presence or absence of the digestion with marker, in 8 points prandial post: 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, and 24h. The fourth phase was the digestibility assay, 56 animals were distributed in 8 incubators and fed ML and MD (2T and 4R) with ration plus Cr 2 O 3 indicator for 15 days for adaptation and synchronization and thus the collection was started of feces for 21 days. At the end of this period, the analysis of dry matter, crude protein, crude energy and chrome of feces was carried out. For food activity, the Student's t-test ($p < 0.01$) was used, TTGI using probability estimates with the Bonferroni test ($p < 0.05$). For enzymatic activity and digestibility Test F. Tambaqui presented strictly nocturnal food activity (84.98%) by the self-feeding method. It was not possible to identify AAA in the medium wave plots and plot. No difference was found for digestibility in ML and MD fed animals. The digestion remained longer in the last portion of the intestine for the MD group. Amylase activity has a nocturnal peak for both ML and MD animals. This fact has shown that amylase production occurs at night and is not synchronized by diurnal feeding.

Key words: Biological Clock, Circadian Rhythm, Digestive Enzyme e Digestibility

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação da ração basal segundo exigências para tabaqui juvenil.....	15
Tabela 2. Atividade alimentar do tabaqui 12L:12E.....	24
Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB) e Energia Bruta (EB).....	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolução da piscicultura continental 2013-2015 (IBGE, 2015).....	3
Figura 2. Produção da aquicultura brasileira em 2015 por espécie, em percentual total produzido (IBGE, 2016).....	4
Figura 3. Sistema de autodemanda alimentar para peixes usando sensor de estiramento (um fio que permanece na água onde os animais o puxam e acionam o alimentador. (Fortes-Silva et al., 2016).....	6
Figura 4. Sistema de autodemanda alimentar para peixes usando fotocélula que emite um feixe de luz que quando interceptado e aciona o alimentador (Fortes-Silva et al., 2016).....	6
Figura 5. Esquema de transdução do sinal fótico em peixes.....	12
Figura 6. Câmara isotérmica para experimentos de cronobiologia. Arquivo pessoal.....	17
Figura 7. Sistema de autodemanda alimentar para tambaqui com uso de fotocélula (Arquivo pessoal).....	17
Figura 8. Sistema de alimentação em tempo fixo para determinação do coeficiente de digestibilidade aparente (Arquivo pessoal).....	20
Figura 9. Actogramas da atividade alimentar do tambaqui em autoalimentação.....	23
Figura 10. Onda média da atividade alimentar do tambaqui em alimentação fixa em ML e MD.....	24
Figura 11. Probabilidade da ausência de digesta em 5 segmentos do trato digestivo do tambaqui alimentado em ML e MD.....	25
Figura 12. Atividade da amilase intestinal do tambaqui mantidos em ciclos de 12L:12E (grupo ML =A e grupo MD=B).....	26

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Piscicultura no Brasil.....	3
2.2 Sistema de Autoalimentação.....	5
2.3 Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	7
2.4 Ritmos biológicos em peixes.....	10
2.4.1 Atividade alimentar.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Análise estatística.....	21
4. RESULTADOS.....	23
5. DISCUSSÃO.....	28
6. CONCLUSÃO.....	33
Referências bibliográficas.....	34

1 INTRODUÇÃO

Para se obter melhor eficiência alimentar dentro da área da piscicultura é importante que se haja integração vários fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal, que vão desde a estrutura, as condições do ambiente até as características fisiológicas, hábito alimentar e exigência nutricional da espécie em cultivo.

O ambiente é um desses fatores de importante influência nos animais. Tendo em vista que os peixes estão inseridos em um ambiente aquático que está sujeito à interferências diretas sobre ele. O fotoperíodo e sua relação de Luz/Escuro deve ser considerado, devido à influência que causa no meio aquático, pois a sua modificação pode levar à alterações no pH da água, oxigênio disponível, produção de zooplâncton e isso pode exercer influência no comportamento e metabolismo dos peixes. O conhecimento sobre o impacto dessa influência do fotoperíodo sobre a produção de espécies contribui com desenvolvimento da piscicultura brasileira, no entanto ainda possui questões não esclarecidas.

O relógio biológico dos animais é, portanto, influenciado pela manipulação do fotoperíodo, pode afetar desde o ganho de peso, a ingestão de alimento, o gasto de energia, a atividade locomotora, bem como outros parâmetros fisiológicos. O consumo de alimento e o manejo alimentar (horários, quantidade e intervalo entre alimentações) são fatores essenciais para o sucesso na piscicultura, tornando-se indispensável para melhorias no crescimento dos peixes e sua uniformidade.

O Tambaqui é uma espécie nativa do Brasil de grande atratividade no mercado consumidor. Porém, a sua produção ainda está limitada devido ao baixo grau de tecnologias vinculadas a sua cadeia. Alguns pontos ainda precisam de aprimoramento desde as técnicas de reprodução e melhoramento genético a pontos diretamente relacionados com a sua nutrição como desenvolvimento de rações específicas e aprimoramento de técnicas de manejo alimentar.

O presente estudo teve por objetivo determinar a atividade alimentar em

sistema de autoalimentação, o tempo de trânsito gastrintestinal, o coeficiente de digestibilidade aparente e atividade da amilase intestinal do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentadas no meio do período de luz (ML) ou no meio do período de escuro (MD).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Piscicultura no brasil

Com a chegada de novas empresas, rápida profissionalização e intensificação tecnológica, a aquicultura brasileira vem crescendo no âmbito das demais criações, alcançando uma taxa de 123% entre 2005 e 2015, passando de 257 mil para 574 mil toneladas de pescado nesse período (PEDROZA *et al.*, 2016). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para o ano de 2015, a produção de peixes de água doce é a principal categoria dentro da aquicultura brasileira, respondendo por 84% da produção aquícola do país.

A piscicultura nas águas continentais, principalmente os peixes criados em viveiros, tanques-rede e outros sistemas, totalizaram 483.241 toneladas demonstrando um crescimento de 1,88% em relação ao ano de 2014 (figura 1), com aumentos nas Regiões Norte (6,2%), Sudeste (12,7%) e Sul (13,1%). No Nordeste e Centro-Oeste, foram registradas quedas de 4,7% e 19,7%, respectivamente. (IBGE, 2015).

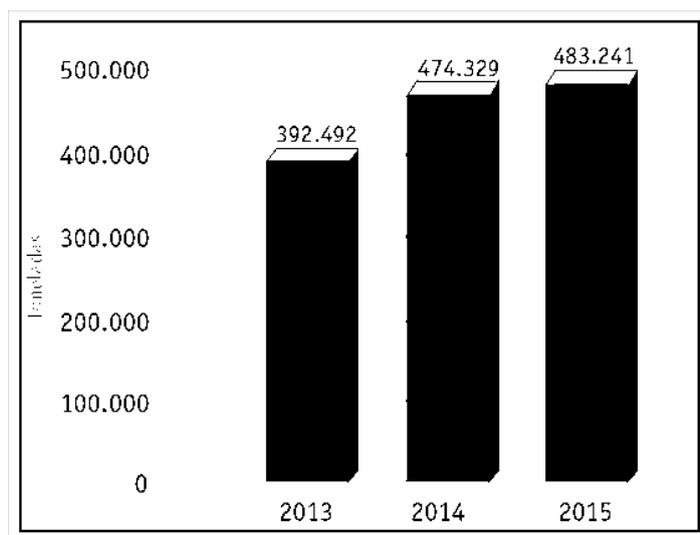


Figura 1 Evolução da piscicultura continental 2013-2015. (Fonte IBGE, 2015)

Entre as espécies de peixe, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) e o tambaqui (*Colossoma macropomum*) respondem por 62% da produção nacional, de acordo com dados coletados pelo IBGE, em 2016 (figura 2).

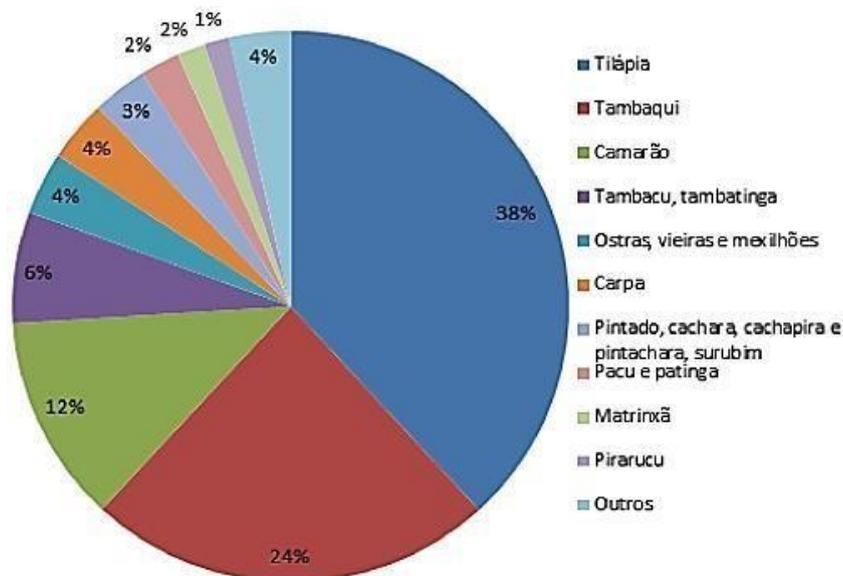


Figura 2 Produção da aquicultura brasileira em 2015 por espécie, em percentual do total produzido. (Fonte: IBGE, 2016).

Os pesquisadores comparam o desenvolvimento da aquicultura ao que ocorreu na cadeia de produção da avicultura nacional, que elevou seu patamar tecnológico e hoje é uma das principais pautas da carteira de exportações do Brasil. O maior emprego tecnológico ocorreu, de acordo com a pesquisa, na cadeia produtiva do peixe mais produzido no Brasil, a tilápia, que responde por 38% da produção nacional, no entanto ainda faltam técnicas que incentivem o aumento da produção das demais espécies, principalmente as nativas, como o Tambaqui (PEDROZA et al., 2016).

No entanto, na maioria dos casos qualquer que seja o sistema escolhido

o manejo de arrazoamento ocorre de acordo com disponibilidade de mão de obra sem levar em consideração o hábito dos peixes. Surge uma nova tecnologia ainda a nível experimental que prioriza o hábito natural da espécie, que são os sistemas de autodemanda de ração ou autoalimentação

2.2 Sistema de autoalimentação

Os sistemas de alimentação são definidos como todos os padrões e práticas de alimentação utilizados para fornecer dietas nutricionalmente adequadas aos animais, de forma a manter o crescimento, a saúde e a reprodução normais (CHO, 1992). Segundo este autor, muitos problemas são encontrados quando é necessário alimentar de forma artificial os peixes em comparação à animais terrestres. O fornecimento de alimentos em um meio aquoso requer propriedades físicas particulares em conjunto com técnicas especiais de alimentação.

O sistema de autoalimentação neste sentido é um dos notáveis avanços na alimentação de organismos aquáticos. Este sistema permite ao animal alimentar a qualquer momento, sem interferência do tratador, utilizando de sensores acoplados aos alimentadores (figura 3 e 4). Todo o sistema por sua vez está conectado ao computador de forma a obter a atividade alimentar diária dos peixes (FORTES-SILVA *et al.*, 2016).

Existem muitos benefícios para oferecer aos animais uma livre escolha de alimentos, que é considerada a forma mais natural e suave de alimentação de peixe (PEREIRA•DA•SILVA *et al.*, 2004). Essa metodologia vem sendo usada para investigar regulação da ingestão de alimentos e até de nutrientes bem como determinação de preferências alimentares. Esse esquema de alimentação reduz desperdícios e assim evita a diminuição do oxigênio da água, o que ocorre normalmente após alimentação de forma convencional, como manualmente (CHO, 1992).

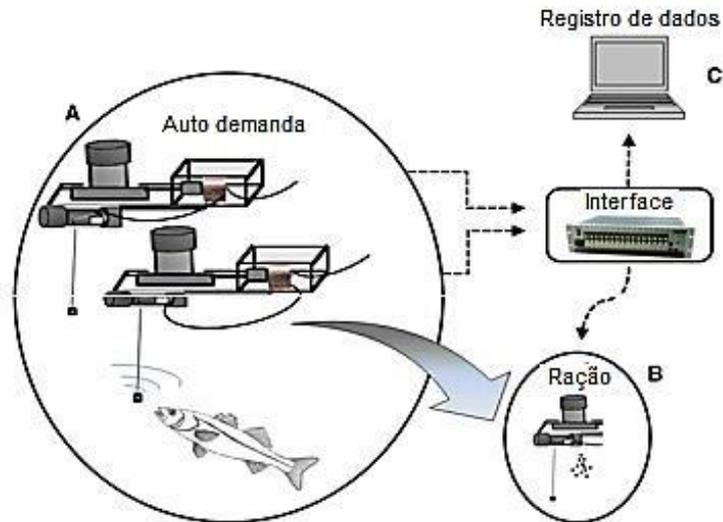


Figura 3 Sistema de autoalimentação para peixes usando o sensor de estiramento (um fio que permanece na água onde os animais puxam e acionam o alimentador) (FORTES-SILVA *et al.*, 2016).

A: Alimentadores, b: Dispensa do alimento, c registro de atividade alimentar

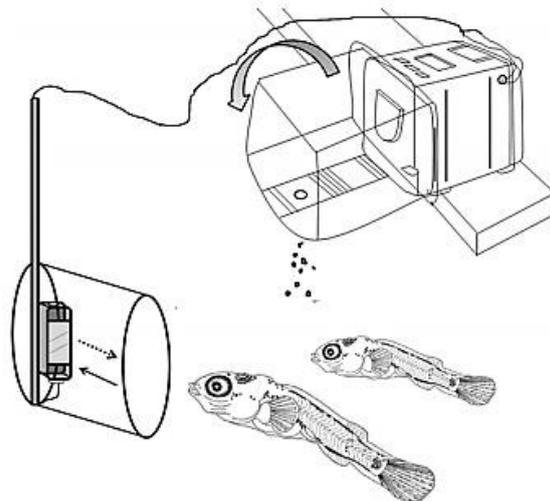


Figura 4 Sistema de autoalimentação para peixes acionado por sensor infravermelho (FORTES-SILVA *et al.*, 2016).

Essa é uma ferramenta que auxilia na determinação do comportamento alimentar de peixes (MATTOS *et al.*, 2016a). Flood *et al.* (2011) avaliaram o ritmo de alimentação diária de amago (*Oncorhynchus masou masou*) usando um sistema de auto-alimentação e além de determinarem que essa é uma espécie diurna também conseguiram fechar um programa de alimentação

diário segundo o horário de preferência especificamente ao amanhecer e ao entardecer, com uma possível refeição extra ao meio-dia.

Algumas espécies também são capazes de selecionar nutrientes utilizando esse sistema, como exemplo a proteína, ao ofertar em diferentes alimentadores diferentes diluições da proteína é possível determinar a exigência da espécie para esse nutriente. Esse sistema de autodemanda podem oromover um melhor desempenho alimentar e reduzir o desperdício de alimentos para espécies tropicais em sistemas de aquicultura já que o alimento é dispensado segundo o apetite dos animais (RUBIO *et al.*, 2009; MATTOS *et al.*, 2016b).

2.3 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818 pertence à Ordem Characiformes e à Família Serrasalminidae é um peixe nativo da Bacia Amazônica com expressiva produção em cativeiro nas regiões Norte e Nordeste (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010). É uma espécie de reconhecida importância na piscicultura da região Amazônica, possui hábito alimentar onívoro alimentando-se de frutos e sementes, zooplâncton, insetos, caramujos, variando a proporção destes itens conforme o crescimento e mudanças no nível da água do rio (RODRIGUES, 2014). Assim como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e a pirapitinga (*P. brachypomum*), bem como alguns híbridos entre as espécies, o tambaqui compõe o grupo de peixes redondos de grande importância para a piscicultura nacional (KUBTIZA, 2004).

Trabalhos comportamentais começaram a ser realizados com essa espécie a fim de determinar os ritmos diários de atividade locomotora e a influência do ciclo de claro e escuro e já se sabe que o tambaqui é uma espécie de atividade locomotora predominantemente noturna (91%) (FORTES-SILVA *et al.*, 2015). Mendonça *et al.* (2009), verificaram a influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de Tambaqui (*C. macropomum*) e concluíram que a maior disponibilidade de luz possibilitou a melhor utilização da alimentação fornecida durante o período experimental, para o melhor desenvolvimento e crescimento. Porém, não foi encontrada diferença

significativa dos mesmos fotoperíodos nas características bromatológicas da carcaça (MENDONÇA *et al.*, 2011).

As investigações sobre parâmetros digestivos em peixes são de importância fundamental na nutrição animal. Para os peixes, a maior parte dos estudos concentra-se em utilizar dietas previamente processadas com ingredientes que normalmente não fazem parte da alimentação natural das espécies (SILVA *et al.*, 2003). No entanto, trabalhos que relacionem parâmetros digestivos como estão digestibilidade, tempo de trânsito gastrointestinal e enzimas digestivas com o comportamento alimentar do tambaqui não foram encontrados.

Segundo Silva *et al.* (2007) a digestibilidade de uma dieta contendo 27,6% de proteína bruta e 3994 kcal de energia bruta para o tambaqui foi de 76,66% e 58%, respectivamente. A determinação dos coeficientes de digestibilidade tem sido instrumento de grande importância na área da nutrição na piscicultura, uma vez que pode avaliar ingredientes ou a qualidade das rações junto com a capacidade digestiva do animal (SADIKU e JUANCEY, 1995; MCGOOGAN e REIGH, 1996).

O tempo de trânsito gastrointestinal (TTG), ou tempo de retenção do alimento, é um dos fatores que regula a transformação dos alimentos dentro do tubo digestivo, digestão do alimento e absorção dos nutrientes (KENDALL e RAUBENHEIMER, 2005). O conhecimento do tempo de trânsito é importante para definir protocolos efetivos de manejo alimentar, principalmente na determinação da frequência alimentar adequada para maximizar os resultados produtivos (FABREGAT *et al.*, 2015). Pode ser influenciado pelo tipo do alimento (teor de fibra), temperatura da água, forma da ração e proporções anatômicas e hábito alimentar de uma espécie (LANNA *et al.*, 2004; DIAS-KOBERSTEIN *et al.*, 2005; HONORATO *et al.*, 2014; FABREGAT *et al.*, 2015). O tempo de trânsito gastrointestinal do tambaqui alimentados com frutos e sementes que são de sua alimentação em habitat natural incorporados em ração variou de 6h26min a 8h47min (controle) (SILVA *et al.*, 2003).

A habilidade de um organismo para digerir partículas de alimento depende, além de outros fatores, da presença e da quantidade apropriada de enzimas digestivas. As enzimas digestivas de peixes são secretadas dentro do lúmen do canal alimentar originados da mucosa gástrica, dos cecos pilóricos,

do pâncreas e da mucosa intestinal com a função de hidrólise de proteínas, carboidratos e gorduras (SEIXAS FILHO, 2003). O conhecimento da atividade de cada enzima presente no trato e sua caracterização podem contribuir para a elaboração de programas alimentares eficientes (COSTA *et al.*, 2011)

O tambaqui possui as enzimas digestivas que o habilitam a digerir e absorver carboidratos e proteínas antes mesmo da abertura da boca e do início da alimentação exógena. Isso sugere que a aquisição das funções digestivas desta espécie de peixe é um pré-requisito para o início da alimentação exógena (VÁSQUEZ, 2009).

As enzimas pancreáticas tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidase A e B e amilase apresentam um aumento gradual em suas atividades durante o desenvolvimento desta espécie. A digestão intestinal é ativa em estágio que precede a eclosão da larva tornando-se mais importante a partir da abertura da boca e início da alimentação exógena. Já a atividade da pepsina em juvenis de tambaqui foi menor quando comparada aos primeiros estágios, o que sugere a modulação desta enzima pelo tipo de alimento. A expressão gênica do tripsinogênio e do pepsinogênio demonstram a habilidade desta espécie de expressar os genes das principais enzimas proteolíticas durante as primeiras fases do desenvolvimento embrionário e larval, indicando o grau de funcionamento do trato gastrointestinal (VÁSQUEZ, 2009).

Segundo um estudo realizado por Kohla *et al.* (1992) com tambaqui a atividade da pepsina não depende da qualidade e quantidade das proteínas, só é estimulada pelo atrito mecânico já que existe correlação entre a sua atividade com o conteúdo gástrico. Já no caso da tripsina houve um aumento da atividade com o aumento do teor de proteína na dieta. Porém houve diminuição da atividade dessa enzima quando essa espécie foi alimentada com ração onde a fonte de proteína era vegetal, os autores justificam esse ocorrido pela presença de inibidores enzimáticos em sementes de leguminosas.

Considerando a complexidade do ecossistema de origem do tambaqui, bem como a flexibilidade alimentar da espécie, estudos explorando as adaptações fisiológicas e metabólicas do tambaqui seriam de enorme importância para avanços na área de nutrição, bem como nas demais áreas de produção.

2.4 Ritmos biológicos em peixes

O clima apresenta oscilações que podem influenciar os seres vivos, seja no comportamento ou até mesmo em processo fisiológicos, metabólicos e imunológicos. Assim, ser capaz de antecipar as oscilações ambientais e expressar um ritmo em livre-curso apresentando mudanças fisiológicas e comportamentais que se repete de maneira regular para que desempenhem suas funções no momento mais oportuno do dia visando garantir a sobrevivência da espécie (PITTENDRIGH e BRUCE, 1959; VERAS *et al.*, 2013).

Nos vertebrados, os ritmos biológicos têm sido classificados de acordo com sua periodicidade, podendo ser ultradiano, que são ciclos que se repetem em intervalos de até 20 horas; circadianos aproximadamente 24 horas; e infradianos são intervalos maiores do que 28 horas (HERRERO *et al.*, 2003; SCHULZ e LEUCHTENBERGER, 2006). A luz é considerado o mais importante fator ambiental sincronizador dos ritmos biológicos (VERA *et al.*, 2007) e presente nos mais variados grupos de vertebrados e invertebrados, sendo, portanto, um dos mais estudados principalmente por estarem relacionados ao ciclo de claro/escuro (MCFARLAND, 1986; HELFMAN, 1993; VERA *et al.*, 2009). Em meio a fatores relacionados ao ambiente de cultivo, o fotoperíodo influencia o desenvolvimento e a sobrevivência em diferentes fases ontogênicas, pois a luz auxilia tanto na estratégia alimentar como no estímulo a outras atividades metabólicas de várias espécies de peixes (REYNALTE TATAJE, 2002). O fotoperíodo corresponde a um dos diversos estímulos ambientais e está relacionado à duração do tempo de luz ao longo de um dia (BEZERRA *et al.*, 2008)

Os ritmos circadianos são bastante estudados, definindo padrão de atividade de locomoção e alimentar. Navarro *et al.* (2014) demonstraram que as fêmeas de Lambari (*Astyanax bimaculatus*) possuem ritmo de atividade locomotora diurna. Com auxílio desse tipo de estudo pode-se também visualizar alterações hormonais, concentrações de determinados substratos no plasma e valores dos parâmetros zootécnicos, tudo pode ser influenciado pela

manipulação da relação claro/escuro (BISWAS *et al.*, 2006). No entanto, em algumas espécies de peixes teleósteos a caracterização do padrão diário de atividade não é tão expressiva, sendo que dentro da mesma espécie pode haver variabilidade em seu padrão de atividade (HELFMAN, 1993; VERA *et al.*, 2009).

A Tilápia tem sua atividade alimentar fortemente ligada ao fotoperíodo, apresentando uma maior atividade ao amanhecer e ao fim do período de luz (TOGUYENI *et al.*, 1997). Uma melhor taxa de crescimento e conversão alimentar foi observada em juvenis de Tilápia nilótica alimentadas no período noturno, comparadas as alimentadas durante o dia (BARAS *et al.*, 1995). Dessa forma, é importante relacionar o melhor horário de alimentação com o manejo para a espécie conhecendo as possíveis alterações nos parâmetros fisiológicos como tempo de trânsito gastrointestinal, digestibilidade e atividade enzimática.

Louzada e Sampaio (2004) estudaram fotoperíodos mais longos, 18 horas de luz e 6 horas de escuro (18HL:6HE) e 24HL:0HE, encontraram que estes favoreceram a sobrevivência dos juvenis de linguado (*Paralichthys orbignyanus*), entretanto, o melhor crescimento foi obtido com 18HL:6HE. O que faz dessas pesquisas coerentes tendo em vista a influências em diversos aspectos de relevância na criação de peixes. Puvannendran e Brown (2002) obtiveram que larvas de bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*), tiveram melhor crescimento e sobrevivência em alta intensidade luminosa e em fotoperíodos de 24HL:0HE. No entanto, são pesquisas pontuais que não podem se extrapoladas para as demais espécies já que cada uma possui um hábito alimentar e reage diferente frente a fotoperíodos distintos.

As estruturas responsáveis por gerar a ritmicidade nos organismos são definidos como osciladores, sendo que o relógio biológico é formado e regulado por um eixo circadiano, constituído por três estruturas interconectadas, a retina, pela pineal e pelo núcleo supraquiasmático do hipotálamo e são responsáveis pela transdução do sinal fótico para estabelecer um ritmo circadiano em peixes. A luz é percebida pela retina, pela própria pineal e por fotorreceptores cerebrais, após a percepção a pineal é estimulada ou inibida a produzir melatonina para estimular atividade à noite e / ou suprimir durante o dia, ou seja, sua principal função é regular os eventos rítmicos (figura 5) (MENAHER *et al.*, 1997; FALCON *et al.*, 2011).

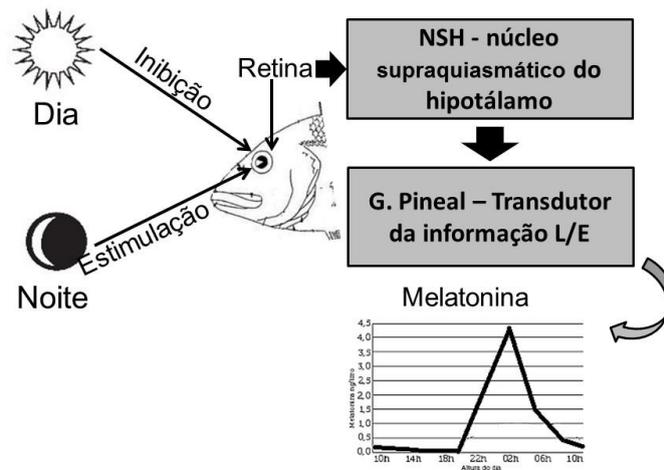


Figura 5 Esquema de transdução do sinal fótico em peixes.

2.4.1 Atividade alimentar

Os peixes, quando submetidos a um ciclo de luz/escuro demonstram um padrão de atividade locomotora e alimentar que os podem classificar como diurnos, noturnos e crepusculares (BLANCO-VIVES e SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2009; HERRERO *et al.*, 2003; VERA *et al.*, 2009), esse padrão pode diferir entre as espécies e dentro de uma mesma espécie, também pode ocorrer da atividade alimentar não coincidir com o período de maior atividade locomotora (MENDONÇA, 2007). É de fundamental importância que se determine qual o padrão de atividade de uma determinada espécie para conhecer o momento em que esta se encontra preparada fisiologicamente para receber o alimento e metabolizá-lo durante este período.

Brannas e Alanara (1992) verificaram a atividade alimentar de Truta Ártica (*Salvelinu salpinus*) registrando individualmente com utilização de um sistema de auto demanda alimentar e demonstraram que a partir de 3 dias um ou dois animais do mesmo tanque eram responsáveis por demandar todo alimento da caixa com 15 animais, pois houve desenvolvimento de um comportamento de hierarquia de dominante. Além desse tipo de inferência também é possível chegar ao horário do dia em que os animais preferem se alimentar, como foi demonstrado por Boujard e Leatherland (1993) em seu trabalho estudando o comportamento de auto demanda alimentar da truta-

arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e encontraram que mais de 98% da demanda de alimentação ocorreu durante a fotofase, independentemente do fotoperíodo, com um pico principal ao amanhecer e um pico ocasional no crepúsculo.

Sanchez-Vázquez *et al.* (1995), estudaram os ritmos circadianos de atividade alimentar de Robalo (*Dicentrarchus labrax*) encontraram comportamento dual no padrão de alimentação diurno e noturno. Essa atividade foi sincronizada com a manipulação do fotoperíodo indicando uma fraca participação de um ritmo circadiano endógeno nessa espécie. Nessa mesma linha Boujard *et al.* (1990) trabalharam com sincronização das atividades locomotora e pela alternância do fotoperíodo no Canborja (*Hoplosternum littorale*), encontraram que a atividade alimentar se dava ao anoitecer e atividade locomotora no período de luz. Já Alanara e Brannas (1997) realizaram um trabalho comparativo entre atividade alimentar diurna e noturna da Truta Ártica (*Salvelinu salpinus*) e Truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), perceberam que a alimentação predominou durante o dia, no entanto alguns peixes com menor status social se alimentavam durante a noite como estratégia contra indivíduos dominantes que são agressivos no momento que se alimentam, para conseguirem alcançar o mesmo desempenho dos demais.

Muitos organismos desenvolveram capacidades de mapeamento espacial e relógios endógenos para realizar alguma atividade e quando se trata de oferta de alimento em horário fixo, os peixes apresentam um comportamento denominado de atividade antecipatória alimentar (AAA), que consiste no aumento da atividade locomotora momentos antes do momento de arraçoamento, mesmo que sua preferência alimentar seja em um momento distinto (MISTLBERGER, 1994). A AAA permite aos animais otimizar seus processos digestivos e metabólicos (DAVIDSON e STEPHAN, 1999; STEPHAN, 2002), tendo como vantagem adaptativa aprimorar a aquisição e utilização de nutrientes (LÓPEZ-OLMEDA *et al.*, 2009; MONTOYA *et al.*, 2010).

Atividade Alimentar Antecipatória demonstra que a alimentação é um importante sincronizador da atividade dos peixes, exibindo atividade locomotora intensa, como também produção de enzimas para o processo digestivo (MISTLBERGER, 1994; VERA *et al.*, 2007)

Trabalhos têm demonstrado que algumas espécies possuem AAA, como é o caso do goldfish (*Carassius auratus*) onde seu comportamento é conduzido por um sistema endógeno que pode ser definido tanto pela alimentação periódica quanto pela luz (ARANDA *et al.*, 2001). Montoya *et al.* (2010) demonstrou em seu estudo que ritmos comportamentais, metabólicos e endócrinos estão sincronizados ao tempo de alimentação no Gilthead seabream (*Sparus aurata*).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia em Cruz das Almas-BA, 12° Se 39° O, no laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Peixes (AQUAUFRB). Os animais utilizados foram da espécie *Colossoma macropomum*, Tambaqui, obtidos da Bahia Pesca - Estação de Piscicultura Pedra do Cavalo, Cachoeira-BA, alojados em caixas de 500L até início dos períodos experimentais.

A ração foi formulada para tambaqui juvenil segundo exigências descritas por Oishi *et al.* (2010) (Tabela 1). Esta ração foi confeccionada na Universidade Federal do Vale do São Francisco no laboratório de Aquicultura, em pellets de 2mm. Para a ração destinada ao ensaio de digestibilidade 0,1% de Óxido de Cromo foi adicionado à ração, bem como o marcador Óxido de ferro 0,1% foi acrescentado na ração do ensaio de tempo de trânsito gastrintestinal.

Tabela 1 Formulação da ração basal segundo as exigências para tambaqui juvenil.

Nutriente	Atendimento
Matéria Seca	89,35
Proteína Bruta	31
Energia Digestível	3164,54
Fibra Bruta	4,12
Extrato Etéreo	5

Ingredientes	Quantidade (g/Kg)
Farelo de Soja	34,4
Farelo de Milho	29
Farelo de Trigo	13,4
Farinha de Vísceras de aves	11
Farelo de Glúten de Milho	6,7
Óleo de Soja	1,3
Fosfato Bi cálcico	1
Antifúngico	0,8
VITCRE-Peixes	0,8
Sal comum	0,5
Min peixes ¹	0,5
SupVit/Min peixe ¹	0,5
BHT	0,02

¹Suplemento mineral e vitamínico (por kg): vitamina A, 1200000 IU; vitamina D3, 200000 IU; vitamina E, 12000 mg; vitamina K3, 2400 mg; vitamina B1, 4800 mg; vitamina B2, 4800 mg; vitamina B6, 4000 mg; vitamina B12, 4800 mg; ácido fólico = 1200 mg; pantotenato D-cálcio, 12000 mg; ácido ascórbico, 48000 mg; biotina, 48 mg; colina, 65000 mg; ácido nicotínico, 24000 mg; ferro, 10000 mg; sulfato de cobre, 600 mg; sulfato de manganês, 4000 mg; sulfato de zinco, 6000 mg; iodo de potássio, 20 mg; cobalto, 2 mg; selênio, 20 mg; ²Vitamina C: sal calcítico, princípio ativo-42% ácido ascórbico2- monofosfato; ³Butil-hidroxi-tolueno; ⁴Propionato de cálcio

A temperatura, o pH e oxigênio dissolvido (OD) foram mensurados diariamente por meio de um pHmetro Portátil mPA-210P, o teor de amônia na água semanalmente com auxílio de um kit Labcon Test Amônia Tóxica. Os valores médios para os parâmetros de qualidade da água não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) entre os tratamentos, estando dentro dos valores recomendados para cultivo do tambaqui (KUBITZA, 2003), com temperatura média de $28^{\circ}\text{C} \pm 1,1$; pH de $6,8 \pm 0,6$; OD com média de $5,8 \text{ mg/L} \pm 0,4$ e amônia $0,03 \pm 0,01 \text{ mg/L}$. O experimento foi conduzido em 4 ensaios e com biometrias no início e no final das fases. O primeiro consistiu na determinação da atividade alimentar. Foi realizado em uma câmara isotérmica de cronobiologia (figura 6) construída para diminuir a influência das variáveis de temperatura e alteração

luz do ambiente, equipada com temporizadores programados com regime de luz de 12E:12L e um sistema de recirculação de água com biofiltro.

Foram utilizados 36 animais ($31,32g \pm 2,1$) distribuídos em 6 aquários de 50L, equipados com um sistema de auto demanda de ração. Estes animais acionavam o alimentador automático (Eheim) ligado à fotocélula (Omron, modelo E3S-AD62, Japan) fixada na parte externa dos aquários, assim a ração era dispensada na água. Esse feixe de luz ocorria em local específico do aquário (tubo pvc - distância de 6cm). Desta forma, foi possível reduzir o acionamento do sistema por locomoção ao acaso induzindo o animal a associar a alimentação com a presença dentro do tubo (figura 7).



Figura 6 Câmara isotérmica para experimentos de cronobiologia.

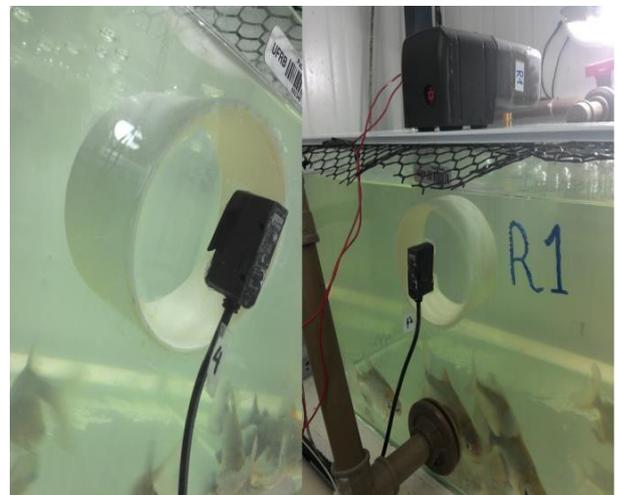


Figura 7 Sistema de autoalimentação para o tambaqui com uso de sensor infravermelho (fotocélula)

Quando os peixes o acionam a fotocélula também é emitido um sinal que é repassado à um computador e registrado no programa Dio 96 (DIO98USB, Universidade de Murcia, Espanha), este mantém os registros a cada 10 minutos formando assim um banco de dados.

Após 15 dias de registro (fase 1), os dados foram transformados em um gráfico na forma de actogramas feitos no programa de cronobiologia *El Temps* (Díez-Noguera, University of Barcelona, Spain) e assim demonstrar qual o período do dia de preferência alimentar dos animais.

A segunda fase consistiu na determinação da atividade de enzimas

digestivas. Esta fase também foi realizada na câmara de cronobiologia comentada posteriormente, sendo usado o mesmo fotoperíodo (12E:12L).

Foram utilizados 48 animais ($41,35g \pm 6,6$) distribuídos aleatoriamente em 6 aquários de 50L. Fotocélulas também foram instaladas na parte externa dos aquários cerca de 5cm abaixo da superfície da água, uma em cada aquário, afim de registrar a sincronização alimentar dos animais bem como identificar a atividade alimentar antecipatória destes. O experimento foi dividido em dois tratamentos, ML – alimentação realizada no meio do período de luz (12:00h) e MD – alimentação no meio do período de escuro (00:00) (2T e 3R). Os animais foram alimentados com 2% do peso vivo de ração basal durante 15 dias. Após este tempo os animais foram capturados e anestesiados com Eugenol por imersão na concentração de 25 mg/l segundo Lima, 2014. Em seguida foi realizada biometria (peso e comprimento padrão) com imediata secção medular para abate e retirada do intestino foram utilizados para a análise da atividade da Amilase.

A coleta do intestino ocorreu no período total de 24h divididos em 6 pontos com intervalos regulares de 4h, sendo que o primeiro 1h após o horário de alimentação (ML e MD) . Ao final de cada ponto de coleta, o intestino foi imediatamente armazenado em ultrafreezer a -80°C até as análises serem realizadas.

Para os pontos de coletas noturnas, utilizaram-se lanternas com luz vermelha tênue para evitar o estresse dos animais e não haver contaminação luminosa do ambiente.

Para a análise da Amilase intestinal utilizou-se a metodologia adaptada de Castro *et al.* (2013). A preparação dos tampões e reagentes ocorreu no Laboratório de Química e Bioquímica da Univasf e a preparação do extrato até a leitura das placas foi feita no Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Semiárido. Preparou-se inicialmente um tampão com pH 7,8 para se utilizar na homogeneização dos tecidos, pesou-se amostra de intestino, ideal 600 – 800 mg, adicionar o tampão de extração na diluição 1/10 em Tubo falcon 15 mL e homogeneizou-se o tecido com o uso de um equipamento ultrassônico com tanque de banho onde os tubos falcons de 15 ml onde estavam armazenados os tecidos eram imersos em gelo e submetidos às ondas sônicas por 4min, centrifugou-se a 4°C em uma velocidade de 15.000 g por 30 minutos. Pipetou-

se o sobrenadante todo de uma vez e dividiu-se em 4 alíquotas e foi armazenado em ultrafreezer -80°C em eppendorf de 2 mL.

Para verificação da atividade da Amilase foi utilizado o kit cinético da empresa Bioclin código K046. Cada kit possui 3 frascos de 20 ml de substrato segundo o manual do kit com adaptações para a microplaca uma vez que o kit é para cubeta, em relação a proporção de enzima/substrato em cada poço. Retirou-se 4 µl da amostra de enzima e adiciona 200 µl – substrato mix Bioclin, fazendo em triplicata em placa 96 poços para leitura em absorvância de 405 nm na temperatura de 30° C realizada no equipamento Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer - Thermo Fisher Scientific. Para obtenção de uma curva de atividade no tempo, foram realizadas 100 leituras em um período de 16 minutos imediatamente após o contato do substrato com a enzima, programadas diretamente no aparelho.

O terceiro ensaio consistiu no parâmetro de tempo de trânsito gastrointestinal, foi realizado também na câmara de cronobiologia sobre regime de luz de 12E:12L. Foram utilizados 48 animais (72,63g± 19,87) distribuídos em 12 aquários e alimentados em ML e MD (2T e 6R) para 2% do peso vivo, com ração sem marcador até a sincronização da alimentação (8 dias) indenticada por meio do registro de fotocélulas instaladas uma em cada aquário na altura da queda da ração (5cm abaixo da superfície da água). Em seguida houve a troca para a ração com marcador (Fe₂O₃). Após alimentação com ração acrescida do marcador, 3 animais foram insensibilizados com Eugenol por imersão em 25mg/L, com sequente biometria (peso e comprimento padrão) seguida de imediata secção medular para abate e necropsia para retirada dos órgãosdo TGI obtendo 5 amostras- Estômago (divididos em duas partes) e Intestino (porção anterior, média e posterior). Cada segmento foi analisado visualmente em uma lupa para observação da presença da ração marcador (cor avermelhada) em 8 tempos pós-prandial: 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 12h e 24h (RICHE *et al.*, 2004).

A ultima fase foi elaborada para avaliar a digestibilidade da dieta para os animais submetidos em ML e MD. O experimento foi realizado em uma estufa externa ao laboratório recoberta por lona preta para melhor controle do fotoperíodo. Foram usadas 8 incubadoras cônicas (sistema Guelph) de fibra de vidro de 200L. As incubadoras possuíam um sistema de alimentação

automática (alimentadores equipados com temporizadores programados para disparar a alimentação), programados para acionar no meio do período de luz (ML) e escuro (MD) (figura 8).

Nesse caso o regime de luz consistiu no fotoperíodo natural onde a intensidade liminosa foi mensurada durante o dia e a noite usando um luxímetro (Instrutherm LD300, São Paulo, Brasil), localizado sobre as incubadoras. O fotoperíodo natural foi de 13:11 LE e foi mensurado pelo Luxímetro (Luxímetro, São Paulo, Brasil). O período de luz começou às 06:00h, quando o peixe recebeu uma intensidade de luz a partir de 1 lx e o início do período noturno às 19:00h. Foram utilizados 7 animais com média de peso de $109,19g \pm 36,51$, alimentados com 1,5% do peso vivo com ração basal acrescida do indicador Óxido de Cromo (Cr_2O_3), fornecida durante 15 dias para adaptação dos peixes ao manejo bem como para a sincronização da alimentação ao horário de fornecimento ML e MD (2T e 4R) com uso de uma fotocélula por incubadora instalada dentro desta cerca de 10cm a baixo da superfície da água.



Figura 8 Sistema de alimentação em tempo fixo para determinação do Coeficiente de digestibilidade.

Para ambos grupos, as paredes das incubadoras eram escovadas e 90% da água renovada para remover alimentos não consumidos e possíveis resíduos fecais 7h após a alimentação. O tempo de decantação das fezes foi de 12h para ambos os tratamentos, tendo em vista que o tratamento MD recebia ração às 23:30h e o manejo realizado às 6:30h, só a partir desse horário que os coletores eram colocados e posteriormente retirados às 18:30h. Esses intervalos de manejo e decantação das fezes foram repetidos para o

segundo grupo tomando como ponto de partida a alimentação ML (12:30h).

As fezes sedimentadas nos tubos coletores acoplados ao fundo das incubadoras, eram vertidos em potes plásticos, mantidos em refrigeração durante 12h. O sobrenadante era descartado com auxílio de uma seringa de 10ml e levadas para desidratação em estufa de ventilação forçada a 55°C por 24h, pesadas diariamente e acondicionadas a -20°C. Após o fim do período de coleta as amostras foram moídas em moinho de bola e visualizadas em lupa para retirada de escamas presentes.

As rações e as fezes foram submetidas a análises químicas no Laboratório de análise de alimentos da UFRB. As análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) pelo método Kjeldahl, segundo recomendações da AOAC (1995) e o teor do óxido de cromo nas fezes foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica pelo método de Williams *et al.* (1962). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica utilizando a metodologia de Silva (1990).

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi determinado para a dieta de acordo com a expressão descrita por Nose (1960):

$$CDA = 100 - \left[100 \cdot \left(\frac{\%I_r}{\%I_f} \right) \cdot \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

Onde,

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente (%);

%I_r e %I_f = % Indicador na dieta e nas fezes, respectivamente;

%N_f e %N_r = % de nutriente nas fezes e na dieta, respectivamente.

3.1 Análise Estatística

Os dados foram tabulados em tabelas e gráficos. Para atividade alimentar utilizou o Teste T de Student após transformação arcseno, bicaudal em par no Microsoft Excel (p<0,01). Para trânsito gastrointestinal utilizou-se estimativas de probabilidade obtidas por Modelos Lineares Generalizados (GLM) para uma distribuição binomial com função de ligação logit. Os testes de comparação entre as médias foram feitos utilizando-se o teste de Bonferroni

($p < 0,05$), pelo programa SPSS, para digestibilidade a ANOVA foi conclusiva e atividade da amilase, foi realizado a ANOVA com posterior teste de Tukey. Para verificar ainda a existência de ritmicidade para a atividade da amilase utilizou-se o Cosinor ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Os dados de atividade alimentar foram transformados em actogramas (figura 9). Para uma visualização conveniente, os dados foram duplamente plotados. No eixo y está a progressão dos dias e no eixo x horas do dia. A atividade dada a cada 10 minutos e a cada traço preto representa o número de interrupções do feixe de luz. As barras acima de cada actograma representam o regime de luz; barras abertas e pretas representam a luz e a escuridão, respectivamente. Todas as atividades registradas foram somadas para o período de luz e de escuro a fim de obter a porcentagem de atividades nos dois períodos (tabela 2).

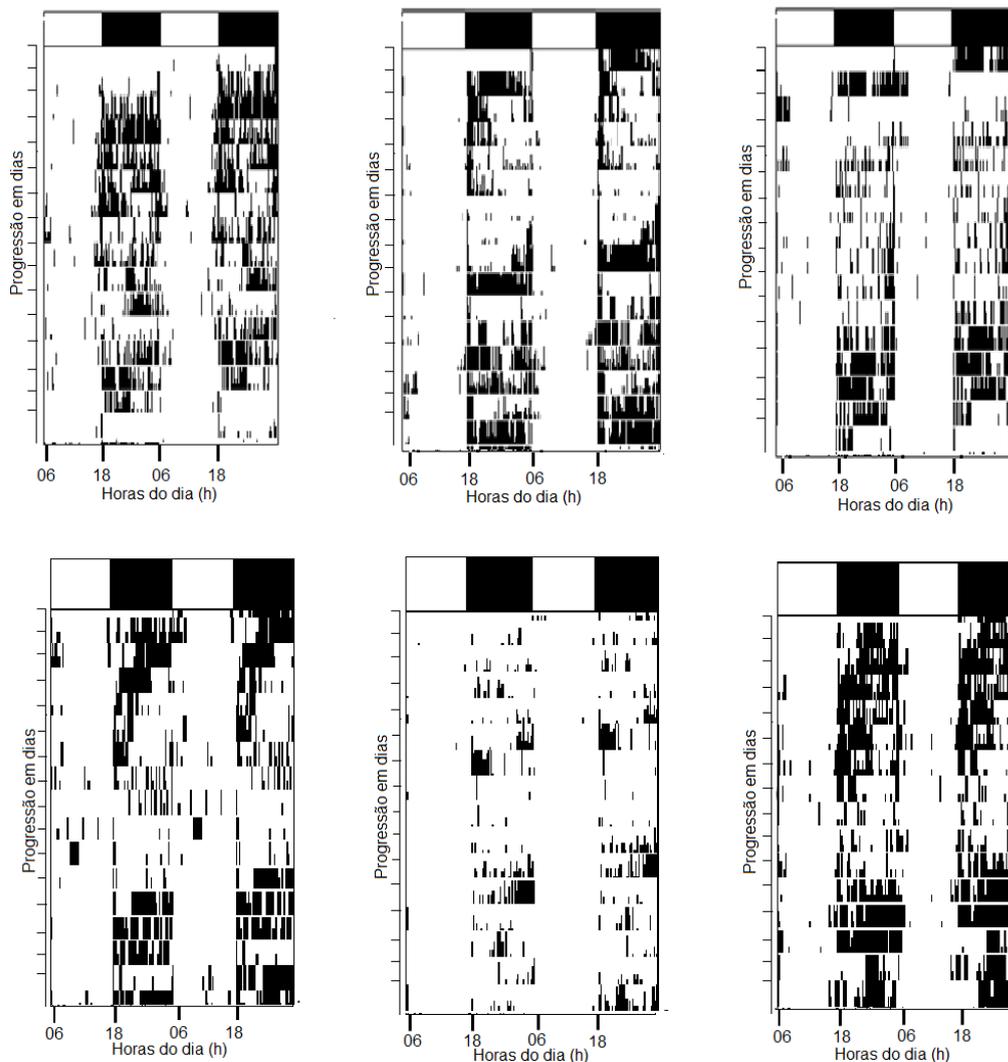


Figura 9 Actogramas da atividade alimentar do Tambaqui 12L:12E em Autoalimentação.

Tabela 2 Atividade alimentar do Tambaqui 12L:12E.

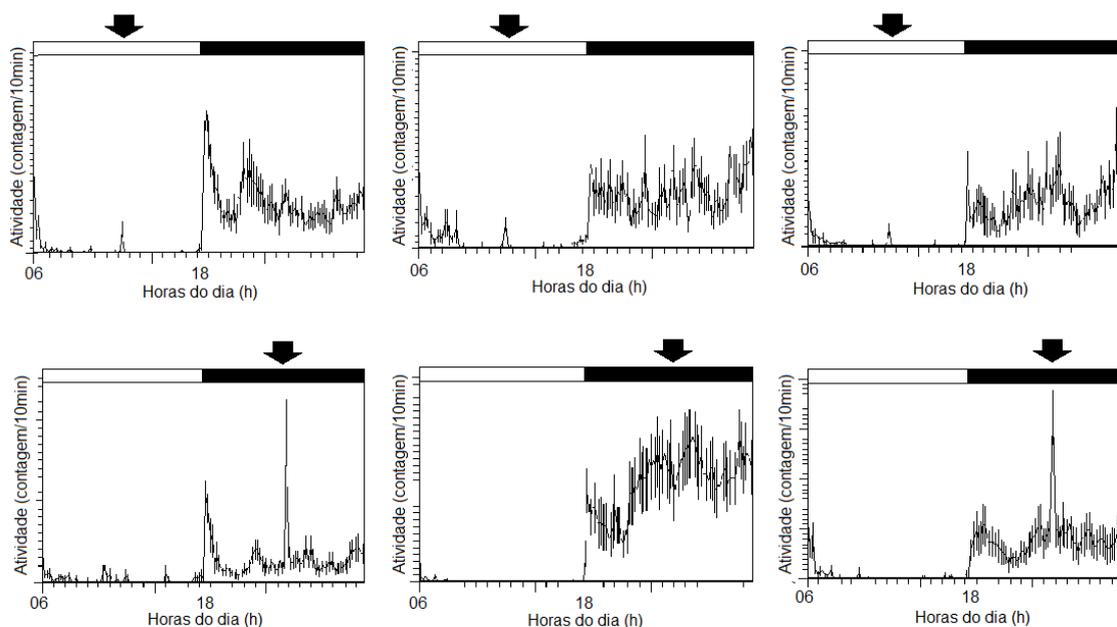
Período	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	Total
Luz	13,13%	9,78%	18,28%	11,23%	27,96%	9,71%	15,02%
Escuro	86,87%	90,22%	81,72%	88,79%	72,04%	90,29%	84,98%
T	**	**	**	**	**	**	**

**Diferença estatística para teste T de student após transformação Arcsen ($p < 0,01$)

O Tambaqui apresentou atividade alimentar estritamente noturna (84,98% $p < 0,01$) pelo teste T.

A figura 10, nos mostra os gráficos de onda média, representando no eixo x a atividade no período de 24h do dia (eixo y). As barras sobre os gráficos correspondem ao regime de luz, barras brancas luz e pretas escuro. As setas pretas representam o horário em que a ração foi fornecida.

Figura 10 Onda média da atividade alimentar do Tambaqui em alimentação fixa . As



flechas representam o horário de alimentação dos animais (ML e MD)

Não foi possível identificar atividade alimentar antecipatória quando a alimentação dos animais foi fixada em ML. Apenas um pico que representa o momento de apreensão do ração quando esta foi lançada na água.

Os dados de tempo de trânsito gastrointestinal estão apresentados na figura 2, onde mostra a probabilidade de ausência

de digesta no interior dos segmentos, estômago I e II e Intestino anterior, médio e posterior. Para os animais submetidos a alimentação em tempo fixo ML e MD.

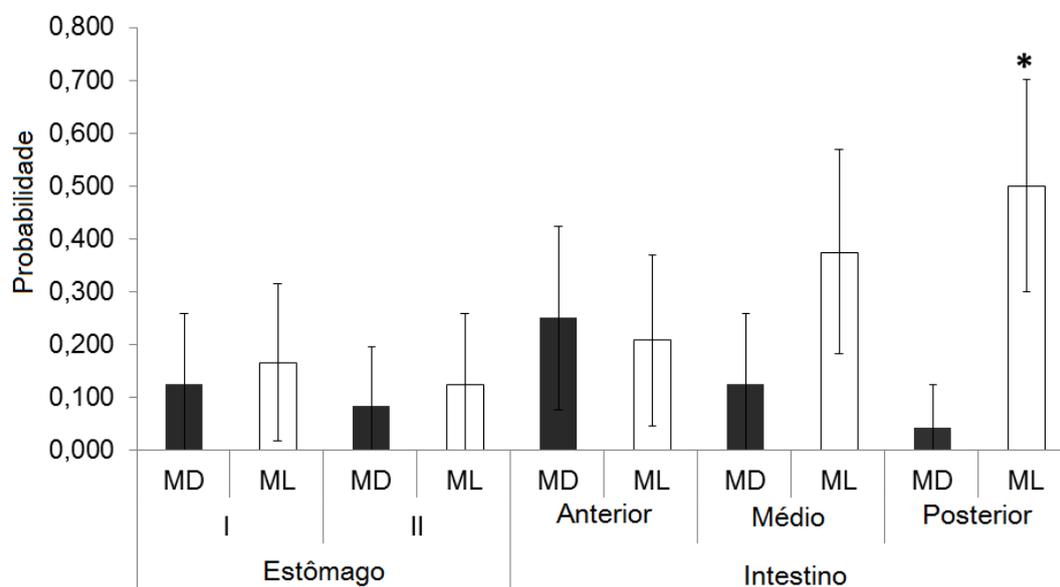


Figura 11 Probabilidade de ausência de digesta em 5 segmentos do trato digestivo do Tambaqui alimentados em MD e ML

Houve diferença para a porção final do intestino, demonstrado pelo asterisco no gráfico. Esse resultado mostra que existe uma maior probabilidade ($p < 0,05$) de não se encontrar digesta na ultima porção do intestino quando os animais se alimentam em ML, trânsito mais rápido..

A figura 12 representa a atividade da Amilase intestinal dos animais mantidos em alimentação fixa em ML e MD.

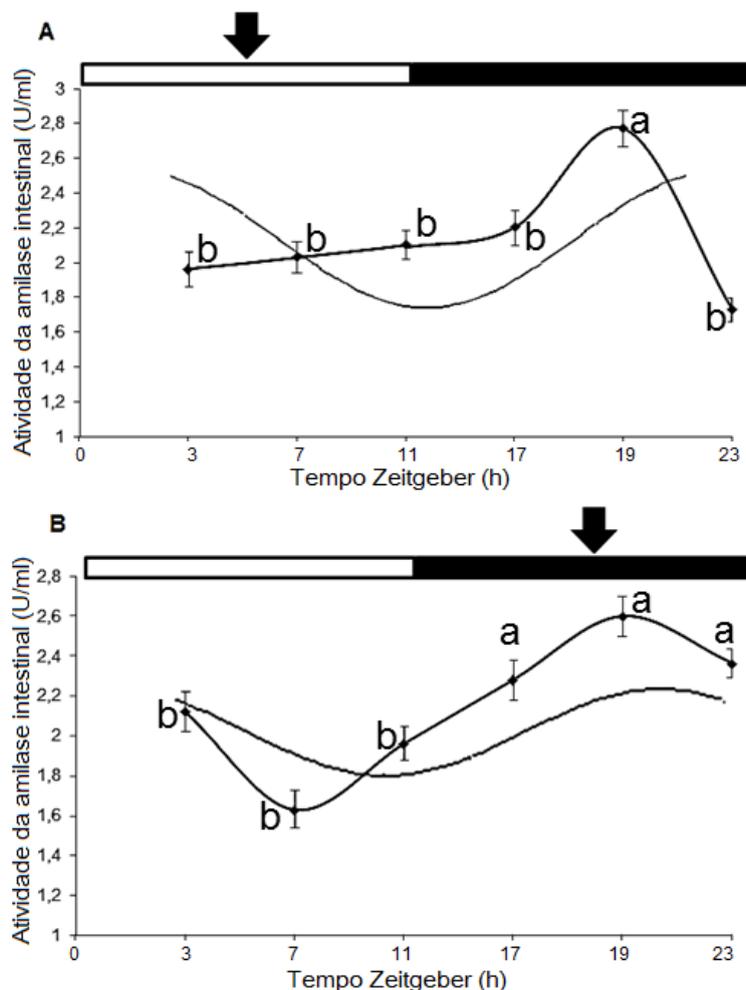


Figura 12 Atividade da amilase intestinal do tabaqui mantidos sob ciclos de 12:12LD As flechas representam o horário de alimentação. (ML Grupo = A e grupo MD = B).

Os dados são representados como média \pm desvio padrão. As barras branca e pretas na parte superior, mostram a fotofase e a fase escura, respectivamente. No eixo Y mostra a atividade da amilase em U / ml de extrato, enquanto o eixo X Zeitgeber tempo em horas. As setas na parte superior do gráfico indicam o tempo dos grupos. Diferentes letras denotam diferenças significativas entre os pontos de tempo (ANOVA $p < 0,05$). A linha esboçada junto ao gráfico corresponde ao padrão rítmico determinado através do programa cronobiológico Cosinor.

Os resultados mostram que independente do horário de alimentação o pico da atividade dessa enzima foram a noite como mostra a figura 12 em B.

Os Valores do coeficiente de digestibilidade (proteína, energia bruta e matéria seca) aparente do tabaqui alimentados em ML e MD estão apresentados na tabela 3. Não foi encontrada diferença significativa para digestibilidade de nenhum dos nutrientes estudados.

Tabela 3 Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB) e Energia Bruta (EB).

CDA	ML	MD
MS	67,60 ± 0,97	68,92 ± 1,55
PB	70,36 ± 1,85	71,58 ± 1,13
EB	54,14 ± 1,71	54,94 ± 1,34

ML – Midle Light: alimentação no período de luz MD – MidleDark: alimentação no período de escuridão Média ± desvio padrão da média.

5 DISCUSSÃO

A atividade Alimentar do Tambaqui ou horário de preferência alimentar, diferente do que é colocado em prática hoje nas pisciculturas, foi estritamente noturna (84,98% $p < 0,01$). Este dado aponta para uma similaridade comportamental da atividade alimentar e natatória, pois esta espécie possui atividade de locomoção também maior no período da noite (FORTES-SILVA *et al.*, 2015). A adaptação que uma espécie possui ao seu ambiente natural pode influenciar a resposta dos peixes em cativeiro (LIU *et al.*, 2015).

A Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), embora descrito como um peixe estritamente diurno (TOGUYENI *et al.*, 1997), demonstrou padrão de atividade flexível, possuindo forte atividade alimentar noturna (FORTES-SILVA *et al.*, 2010). Este comportamento ainda não foi totalmente elucidado, mas acredita-se que possui relação com a densidade de peixes no tanque e suas estratégias de fugir de predadores em horários de alimentação pouco comuns para a espécie. Embora não seja estritamente diurna, a tilápia apresenta um comportamento locomotor mais ajustado com a fase de luz. Ressalte-se, contudo, sua habilidade de adaptação a outras condições como alimentação durante o período noturno (GUERRA *et al.*, 2017).

Todos estes resultados juntos demonstram que a metodologia de autoalimentação pode revelar dados até então não descobertos para diversas espécies de peixes. Esta afirmação está de acordo com Cho (1992), que revelou que a alimentação em sistemas aquáticos é de difícil compreensão já que nem sempre é possível ver claramente o comportamento dos animais e muitas vezes o “tratador” leva em consideração o seu próprio horário e disponibilidade de tempo para alimentar os peixes. Ainda na aquicultura, ao contrário da avicultura ou suinocultura, o alimento não pode ser disponibilizado no cocho a todo momento pela questão da deterioração da dieta e piora dos parâmetros de qualidade de água. Assim, o sistema de autoalimentação, quando bem ajustado, permite entregar o alimento no momento exato da necessidade de alimentação pelo animal.

Por outro lado, o padrão de comportamento em peixes pode conter um elevado grau de flexibilidade, como é o caso do *Dicentrarchus labrax*

que mostrou um comportamento alimentar dual, tanto à noite como durante o dia, variando de acordo com a estação do ano, onde no inverno a atividade de alimentar é noturna, movendo-se para o dia no verão (SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al., 1995; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ et al., 1998). Herrero et al. (2003) observaram comportamento noturno para o Tinca tinca e concluíram que os ritmos de atividade são endogenamente movidos por um relógio circadiano, mas também são fortemente modulados pela luz. Muitos ritmos biológicos não são uma mera reação ao ambiente cíclico, mas sim a expressão de um processo endógeno, gerado por osciladores internos, que se expressam mesmo em condições constantes de laboratório (ASCHOFF, 1960). Embora não tenha sido observado uma atividade antecipatória ao alimento, foi observado uma sincronização dos animais à oferta alimentar, principalmente para o grupo que se alimentava pela noite. A endogenicidade de certos ritmos permite uma antecipação aos desafios do ambiente cíclico, de modo que o organismo pode se preparar fisiologicamente e “não ser surpreendido a cada manhã pelo nascer do sol” (ENRIGTH, 1970).

Em um estudo utilizando o sistema de autoalimentação para o pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) foi observado um padrão de alimentação e atividade locomotora também estritamente noturna (KITAGAWA et al., 2015). Neste caso, por esta espécie apresentar hábito de fundo, seria razoável pensar em uma atividade maior durante o período noturno. Este fato concorda com as afirmações de Tenório et al. (2006) para essa mesma espécie que por ser um animal de hábito noturno apresenta maior crescimento em ambiente sem ou com pouca luminosidade.

Baras et al. (1996), trabalhando com o *Colossoma bidcns* obtiveram maiores taxas de crescimento e melhor conversão alimentar quando a alimentação era fornecida a noite em comparação com o dia. Desta forma, se a absorção máxima dos nutrientes é o alvo, quando se trabalha com tambaqui, a ração deve ser fornecida no período da noite (VAN DER MEER et al., 1997). Estudos com *Brachymystax lenok*, demonstraram que períodos mais curtos de iluminação melhoram o crescimento tendo em vista que durante o escuro a energia é conduzida para seu metabolismo e crescimento ao invés de gastos com respiração e excreção (LIU et al., 2015). Boujard et al. (1995) afirmaram que quando a truta arco-íris (*O. mykiss*) é alimentada fora do seu pico de

atividade alimentar foi necessário aumentar a frequência de arraçoamento para que estes atingissem o mesmo peso dos animais alimentados dentro do horário de preferência da espécie.

Não foi possível observar diferença estatística para o parâmetro de digestibilidade dos animais alimentados em ML e MD ($p < 0,05$). Os valores estão dentro da média encontrada para esta espécie como demonstra Magri-Filho et al. (2015). Neste trabalho os autores verificaram que sua dieta controle (sem adição de enzimas digestivas) teve digestibilidade da proteína de 70,54%, da matéria seca, 51,47% e energia bruta, 45,68%. Por outro lado, Bolliet et al. (2000) encontraram efeito do fotoperíodo na digestibilidade da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). A digestibilidade dos nutrientes, a retenção proteica e desempenho foram melhorados quando o alimento foi fornecido no horário correspondente ao pico da atividade alimentar dessa espécie. Este autor explica que essas melhorias possui relação com a digestibilidade da proteína, que leva um maior número de aminoácidos disponíveis para a síntese protéica, pois é nessa fase que esta espécie está preparada fisiologicamente para usar de maneira mais eficiente os nutrientes fornecidos.

Um estudo também com a truta arco-íris demonstrou que a capacidade de síntese no fígado durante a fase pós-prandial foi maior bem como foi encontrado maiores concentrações do hormônio tireoideano T4 em peixes alimentados também no pico de atividade alimentar (GFILINEAU et al., 1996).

Em relação ao tempo entre a ingestão e o início do esvaziamento do trato foi de 8h ($p < 0,05$) pra ambos os tratamentos, concordando com resultados encontrados por Silva et al. (2003). Contudo, os resultados mostraram que a digesta permanece por mais tempo na porção final do intestino dos animais submetido a MD. O intestino é um órgão envolvido em importantes funções fisiológicas, sendo o principal local de digestão dos alimentos e absorção de nutrientes (Caballero et al., 2003). Este resultado poderia sugerir uma maior digestibilidade da dieta para animais em MD, o que não foi observado no presente estudo. Quando os animais foram submetidos a alimentação fixa, não foi observado diferença no consumo aparente entre os grupos ML e MD.

Van der meer et al. (1997) observaram que para o tambaqui a taxa de

evacuação do alimento não é constante, no entanto é aumentada durante o dia. Acreditamos que o tempo de total esvaziamento do trato digestório após a alimentação de 24 e 28 h em ML e MD, respectivamente, possibilitou que as enzimas digestivas, produzidas por ambos os grupos no período noturno na mesma quantidade ($p < 0,05$), pudessem atuar de forma igualitária no substrato, influenciando assim, no resultado do coeficiente de digestibilidade obtido no presente estudo.

Ainda, podemos considerar que a digestão dos carboidratos nos peixes é relativamente rápida (DENG *et al.*, 2001). Os processos digestivos finais dos carboidratos ocorrem no epitélio mucoso anterior do intestino, diminuindo à medida que avançam no trajeto ao reto, e incluem a ação de várias dissacaridasas e oligossacaridasas. Estas enzimas são secretadas através dos enterócitos e permanece associada à borda em escova da mucosa intestinal, uma delas é a Amilase (ROTTA, 2003).

Neste trabalho a atividade da amilase foi determinada no intestino de tambaquis alimentados na luz ou no escuro. Os resultados mostraram que o alimento não foi um sincronizador para atividade dessa enzima e sim o tempo (dia ou da noite). Guerra-Santos *et al.* (2017), trabalharam com o ritmo diário da atividade da amilase e proteases no intestino de tilápias, foi possível observar que o grupo submetido à condição de alimentação em ML demonstrou uma atividade mais duradoura, várias horas após a ingestão do alimento.

Por outro lado, o grupo de alimentação fixo em MD apresentou comportamento antecipatório da secreção de protease alcalina com um pico 4 horas antes do horário da alimentação e outro 4 horas depois. Este mesmo resultado foi encontrado em nosso estudo para atividade da amilase intestinal para os animais alimentados em MD, também relatado por Montoya *et al.* (2010a). Esta resposta de AAA observada nos animais, segundo o autor, pode estar relacionada a adaptação e maximização do processo de digestão à noite.

Segundo (DAVIDSON e STEPHAN, 1999; STEPHAN, 2002), a atividade alimentar antecipatória não envolve apenas características de comportamento, como aumento da atividade locomotora, mas também outras variáveis fisiológicas que os animais utilizam em busca de otimizar seus processos digestivos e metabólicos. Se o organismo é capaz de antecipar uma refeição

que se aproxima, aquisição de alimentos e utilização de nutrientes pode ser melhorado. Vera *et al.* (2007), encontraram que o dourado possui antecipação ao tempo de alimentação, aumentando a atividade de amilase e secreção de neuropeptídeo Y algumas horas antes do arraçoamento, também verificado por Montoya *et al.* (2010b).

O conjunto de resultados que obtivemos neste estudo para o tambaqui enfatiza a importância do conhecimento do comportamento alimentar na escolha de um manejo adequado. O horário de preferência das refeições, metabolismo e digestão sincronizadas a noite para esta espécie é uma novidade e essas descobertas devem ser consideradas.

6 CONCLUSÃO

O Tambaqui é uma espécie de habito alimentar noturna (com 84, 98% de atividade neste período), possuindo maior tempo de permanência da digesta no trato digestório dos animais que se alimentavam pela noite, assim como o pico de produção da atividade da amilase intestinal também é no período noturno. Estudos mais detalhados dos processos digestivos e absorptivos são necessários para esta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALANARA A., BRANNAS E. 1997. Diurnal and nocturnal feeding activity in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 54: 2894-2900.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists . **Official Methods of Analysis**, 1990, 15ª ed. Virginia, 1298p.
- Aranda A, Sa´nchez-Va´zquez FJ, Madrid JA. 2001. Effect of short-term fasting on macronutrient self-selection in sea bass. **Physiology Behavior** 73:105–109
- ASCHOFF, J. 1960. Exogenous and Endogenous Components in Circadian Rhythms. Max-Planck-Institut fiir Verhaltens physiologie, Erling-Andechs/Obb., Germany
- BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. 2010. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. **2ª ed. Santa Maria: Editora da UFSM**. p.175-204.
- BARAS, E.; THOREAU, X.; MELARD. 1995. Influence of feeding time on growth and feed conversion rates in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Cahiers d'Ethologie Fondamentale et Appliquee, Animale et Humaine**, 15: 71- 80.
- BEZERRA, K.S., SANTOS, A.J.G., LEITE, M.R., SILVA,A.M., LIMA, M.R., 2008. Crescimento e sobrevivência datilápiachitralada submetida a diferentes fotoperíodos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasilia, v. 43, n. 6,p.737-743, jun.
- BISWAS, A.K.; MANABU, S.; KENJI, T. 2006. Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. **Aquaculture** 252: 566-572.
- BLANCO-VIVES, B.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. 2009.Synchronisation to light and feeding time of circadian rhythms of spawning and locomotor activity in zebrafish. **Physiology & Behavior**, , v. 98, n. 3, p. 268-275 Elmsford.
- BOLLIET, V. CHEEWASEDTHAM C., HOULIHAN, D. GÉLINEAU. A. BOUJARD, T. 2000. Effect of feeding time on digestibility, growth performance and protein metabolism in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): interactions with dietary fat levels. **Aquatic Living Research** 13 (2) 107–113
- BOUJARD, T. KEITH, P. LUQUET P. 1990 . Diel cycle in Hoplosternum littorale (Teleostei): evidence for synchronization of locomotor, air breathing and feeding activity by circadian alternation of light and dark. **Journal of Fish Biology** 36: 133–140.
- BOUJARD T.; LEATHERLAND J. F. 1992. Demand-feeding behaviour and diel pattern of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. **Journal of Fish Biology** 40: 535–544.
- BRANNAS E. E ALANARA A. 1993. Monitoring the feeding activity of individual fish with a demand feeding system. **Journal of Fish Biology**. 42:209–215.
- CASTRO C., PÉREZ-JIMÉNEZ A., COUTINHO F., POUSÃO-FERREIRA P., BRANDÃO T. M. E , OLIVA-TELES A., PERES H. 2013. Digestive enzymes of meagre (*Argyros omus regius*) and white seabream (*Diplodus sargus*). Effects of dietary brewer's spent yeast supplementation. **Aquaculture** : 322–327.
- CHO, C. Y. 1992. Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. **Aquaculture**, 100 107-1 23.
- COSTA, M.L., RADÜNZ NETO,J., LAZZARI,R., VEIVERBERG,C.A., SUTILI,F.J. E LORO,V.L. 2011. Enzimas digestivas de juvenis de carpa capim alimentados com forragem

e ração. **Archivos de Zootecnia**. 60: 563-570.

DAVIDSON, A.J., STEPHAN, F.K., 1999. Plasma glucagon, glucose, insulin and motilin in rats anticipating daily meals. **Physiology Behavior**. 66, 309–315.

DENG, D.F.; REFSTIE, S.; HUNG, S.S.O. .2001. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates. **Aquaculture**, v.199, p.107-117,

DIAS-KOBERSTEIN T.C. R.; CARNEIRO D. J.; URBINATI E. C. 2005 Tempo de trânsito gastrointestinal e esvaziamento gástrico do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em diferentes temperaturas de cultivo. **Acta Scientiarum Animal Sciences**27: 413-417, Maringá.

ENRIGHT, J. T. 1970. Ecological aspects of endogenous rhythmicity. Scripps institution of oceanography. **University of California**. La Jolla, California.

FALCÓN J, BESSEAU L, MAGNANOU E, HERRERO MJ, NAGAI M, BOEUF G. 2011. Melatonin, the time keeper: biosynthesis and effects infish. **Cybium**. 35:3–18

FABREGAT T. H. P. NASCIMENTO T.M.T.; PEREIRA T. S.; BARBOSA A.S. 2015. Caracterização das Proporções Anatômicas e Tempo de Trânsito Gastrointestinal do Apaiari e do Acará-Bandeira. **Boletim do Instituto de Pesca** 41: 671 – 676, São Paulo.

FORTES-SILVA R, MARTIÑEZ FJ, VILLAROEEL M, SAÑCHEZ-VAZQUEZ FJ 2010. Daily feeding patterns and self-selection of dietary oil in Nile tilapia. **Aquaculture Research** 42:157–160.

FORTES-SILVA, R.; OLIVEIRA, I.E. ; VIEIRA, V.P. ; WINKALER, E.U. ; GUERRA-SANTOS, B. ; CERQUEIRA, R.B. 2015. Daily rhythms of locomotor activity and the influence of a light and dark cycle on gut microbiota species in tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Biological Rhythm Research**, v. 47, p. 1-8.

FORTES-DA-SILVA, R. KITAGAWA, A. SÁNCHEZ VÁZQUEZ, F. J. 2016. Dietary self-selection in fish: a new approach to studying fish nutrition and feeding behavior. **Review Fish Biololy Fisheries** 26:39–51.

GFILINEAU, A. MAMBRINI, M., LEATHERLAND, J. F. BOUJARD, T. 1996. Effect of Feeding Time on Hepatic Nucleic Acid, Plasma T₃, T₄, and GH Concentrations in Trout Rainbow . **Physiology & Behavior**. Vol. 59, No. 6. pp. 1061- 1067

GUERRA-SANTOS, B., LÓPEZ-OLMEDA, J. F., MATTOS, B. O., BAIÃO, A. B. PEREIRA, D.S.P. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ , F. J. CERQUEIRA R. B., ALBINATI R. C. B., FORTES-SILVA R. Synchronization to light and mealtime of daily rhythms of locomotor activity, plasma glucose and digestive enzymes in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A 204 40–47

HERRERO, M. J.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. 2003. Entrainment to light of circadian activity rhythms in tench (*Tinca tinca*). **Chronobiology International** 20: 1001-1017, New York.

HELFMAN, G.S. 1993. Fish behaviour by day, night and twilight. **Behaviour of teleost fishes** London, Chapman & Hall. 715p.

HONORATO C. A., ALMEIDA L.C.; NUNES C. S.; CARRILHO E. N. V. M.; MORAES G. 2014. Gastrointestinal transit of extruded or pelletized diets in pacu fed distinct inclusion levels of lipid and carbohydrate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 49: 829-835. Brasília,

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Sidra

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2016. Sidra.

KENDALL, D.e RAUBENHEIMER, D. 2005 Feeding and Nutrition. **The Physiology of Fishes**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, p.47-82.

KITAGAWA, A.T., COSTA, L.S., PAULINO, R.R., LUZ, R.K., VIEIRA-ROSA, P., GUERRA-SANTOS, B., FORTESSILVA, R., 2015. Feeding behavior and the effect of photoperiod on the performance and hematological parameters of the pacamã catfish (*Lophiosilurus alexandri*). **Appl. Animal Behavior Science** 171, 211–21

- KOHLA, U.; SAINT-PAUL, U.; FRIEBE, J.; WERNICKE, D.; HILGE, V.; BRAUM, E.; GROPP, J. 1992. Growth, digestive enzyme activities and hepatic glycogen levels in juvenile (*Colossoma macropomum*) Cuvier from South America during feeding, starvation and refeeding. **Aquaculture and Fisheries Management**, 23: 189-208.
- KUBITZA, F. 2003. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. Jundiaí. SP: Jundiaí. 229 pp.
- KUBITZA, F. 2004 Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aquicultura**, 14: 27-39.
- LANNA E. A.T., PEZZATO L. E., CECON P. R., FURUYA W.M., BOMFIM M. A. D. 2004. Digestibilidade Aparente e Trânsito Gastrintestinal em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em Função da Fibra Bruta da Dieta. **Revista Brasileira Zootecnia** 33: 2186-2192.
- LIMA, C.A. GOULDINNG, M. 1998. Os frutos do tambaqui ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq, pp 8-20. Tefé-AM.
- LIMA, T. O. 2014. Uso do eugenol na indução anestésica de tambaquis (*Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818) em diferentes dosagens e temperaturas. 2014. 53 f. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Pesca) - Fundação Universidade Federal de Rondônia, Presidente Médici.
- LIU, Y.; LI, X.; XU, G.F.; S. Y. BAI, Y.; ZHANG, Q.; GU, W.; MOU, Z.B. 2015. Effect of photoperiod manipulation on the growth performance of juvenile lenok, *Brachymystax lenok*(Pallas, 1773). **J. Applied Ichthyology** 31 120–124.
- LOUZADA, L.R.; SAMPAIO, L.A. 2004. Efeito do fotoperíodo sobre o crescimento e sobrevivência de juvenis do linguado (*Paralichthys orbignyanus*). **CD-Rom dos anais do AQUÍMERC** - Aquabio. Vitória, ES, Brasil.
- MAGRI FILHO, S., PÁDUA, D. M. C., ARAÚJO, J. G., SOUTO, C. N., ULHOA, C. J., CYSNEIROS, C. S. S., ... & CUNHA, J. M. S. 2015. Digestibilidade aparente de dietas contendo complexo enzimático para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Agrarian**, 8(30), 423-430.
- MATTOS, B.O., NASCIMENTO-FILHO, E.C.T., BARRETO, K.A., BRAGA, L.G.T., FORTES-SILVA, R., 2016a. Self-feeder systems and infrared sensors to evaluate the daily feeding and locomotor rhythms of Pirarucu (*Arapaima gigas*) cultivated in outdoor tanks. **Aquaculture** 457, 118–123.
- MATTOS, B.O., NASCIMENTO-FILHO, E.C.T., ANJOS-SANTOS, A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., FORTES-SILVA, R., 2016b. Daily self-feeding activity rhythms and dietary self-selection of pirarucu (*Arapaima gigas*). **Aquaculture** 465, 152–157
- MCFARLAND, W.N. 1986. Light in the sea – correlations with behavior of fishes and invertebrates. **American Zoologist**, 26:389-401.
- McGOOGAN, B.B.; REIGH, R.C. 1996. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. **Aquaculture**, v.141, p.233-244,
- MENDONÇA P.P. Influência do Fotoperíodo no Desenvolvimento de Juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). 2007. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes – RJ. Fevereiro –.
- MENDONÇA, P.P., R.A. FERREIRA, M.V. VIDAL JUNIOR, D.R. ANDRADE, M.V.B. SANTOS, A.V. FERREIRA E F.P. REZENDE. 2009. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de Tambaqui (*Colossoma Macropomum*). **Archivos de Zootecnia**. 58 (223): 323-331.
- MENDONÇA, P. P.; SANTOS, M. V. B; M.V. VIDAL JUNIOR, D.R. ANDRADE. 2011. Influência do fotoperíodo emal sobre características bromatológicas da carcaça de juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Ciencia Animal Brasileira**, Goiânia, v.1 2, n.2, p. 21 3-220, abr./jun
- MISTLBERGER, R. E. 1994. Circadian food-anticipatory activity. Formal models and physiological mechanisms. **Neuroscience Biobehavior Review**; 18:171–95

- MONTOYA, A. , LÓPEZ-OLMEDA, J.F. YÚFERA, M. SÁNCHEZ-MUROS, M.J. , SÁNCHEZ- VÁZQUEZ, F.J. 2010a. Feeding time synchronises daily rhythms of behaviour and digestive physiology in gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture** 306 315–321.
- MONTOYA, A. LÓPEZ-OLMEDA, J.F. GARAYZAR, A.B.S. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. 2010b. Synchronization of daily rhythms of locomotor activity and plasma glucose, cortisol and thyroid hormones to feeding in Gilthead seabream (*Sparus aurata*) under a light–dark cycle. **Physiology & Behavior**. 101–107.
- NAVARRO F.K.S.P.; NAVARRO R. D.; MURGAS L. D. S.; FELIZARDO V. O.; Effect of Photoperiod Stress Assessment and Locomotor Activity of Female Lambari (*Astyanax bi maculatus*). 2014. **Ciência e Agrotecnologia**. 38, n. 2, p.173-180, Lavras-MG.
- NOSE, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus L.*) and rainbow trout (*Salmo irideus*). **Bulletin of Fresh water Fisheries Research Laboratory** 10: 11-22, 1960.
- OISHI, C.A.; NWANNA, L.C.; PEREIRA-FILHO, M. 2010 Optimum dietary protein requirement for Amazonian tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fishmeal free diets. **Acta Amazonica**, 40: 757-762.
- PEDROZA, M. MUÑOZ, A., FLORES, R. ROUTLEDGE, E. 2016. International Institute of Fisheries Economics and Trade (IIFET). Aberdeen, Escócia.
- PEREIRA-DA-SILVA EM, ORSOLI DN, ARAU'JO LF, CANTELMO OA, MERIGHE JKF .2004. Regulação da ingestão protéica na tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira de Zootecnia** 33:1921.
- PITTENDRIGH, C.S. & BRUCE, V.G. 1959. Daily rhythms as coupled oscillator systems and their relation to thermoperiodism and photoperiodism. **Photoperiodism**. Washington, 55:475- 505.
- PUVANNENDRAN, V. AND J.A. BROWN. 2002. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. **Aquaculture**, 214: 131-151.
- OETTERER, M. REGITANO D'ARCE, M.A.B. SPOTO, M.H.F. 2006. Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos. Barueri: Manole. P. 355-402
- REYNALTE-TATAJE, D., R.K. LUZ, S. MEURER, E. ZANIBONI-FILHO E A.P.O. NUNER. 2002. Influência do fotoperíodo no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de Piracanjuba *Brycon orbignyanusi* (Valenciennes, 1849) (Osteichthyes, Characidae). **Acta Scientiarum**, 24: 439-443.
- RICHE, M. HALEY, D. IOETKER, M. GARBRECHT, S. GARLING, D.L. 2004. Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) **Aquaculture** 234 657 – 673
- RODRIGUES, A. P. O. 2014. Nutrição e alimentação do Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, 40(1): 135 – 145.
- ROTTA, M.A. 2003 Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá: **Embrapa Pantanal**. 48p
- RUBIO VC, NAVARRO DB, MADRID JA, SA'NCHEZ-VA'ZQUEZ FJ. 2009. Macronutrient self-selection in *Solea senegalensis* fed macronutrient diets and challenged with dietary protein dilutions. **Aquaculture** 291:95–100.
- SADIKU, S.O.E.; JUANCEY, K. 1995. Digestibility, apparent amino acid availability and waste generation potential of soybean flour: poultry meat meal blend based diets for tilapia, *Oreochromis niloticus*(L.), fingerlings. **Aquaculture Research**, 26:651-657.
- SANCHEZ-VÁZQUEZ F. J.; MADRID J. A. ; ZAMORA S. 1995. Circadian Rhythms of Feeding Activity in Sea Bass, *Dicentrarchus labrax L.*: Dual Phasing Capacity of Diel Demand-Feeding Pattern. **Journal of Biological Rhythms**. 10: 256-266.
- SA'NCHEZ-VA'ZQUEZ FJ, YAMAMOTO T, AKIYAMA T, MADRID JA, TABATA M (1998) Selection of macronutrients by goldfish operating self-feeders. **Physiology Behavior** 65:211–

218

- SCHULZ, U.H.; LEUCHTENBERGER, C. 2006. Activity patterns of South American silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Brazilian Journal of Biology** 66: 565-574.
- SEIXAS FILHO J. T. Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleostei e seus métodos de determinação. 2003. **Augustus** 08:17. Rio de Janeiro.
- SHIAU, S.Y. 1997. Utilization of carbohydrates in warmwater fish – with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v.151, p.79-96.
- SILVA, D.J. 1990. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos).. Viçosa, **UFV**. 165p.
- SILVA, J. A. M. PEREIRA-FILHO, M. CAVERO, B. A. S. OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. 2003. Frutos e Sementes Consumidos pelo Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) Incorporados em Rações. Digestibilidade e Velocidade de Trânsito pelo Trato Gastrointestinal. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.32, n.6, p.1815-1824.
- SILVA, J. A. M. PEREIRA-FILHO, M. CAVERO, B. A. S. OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. 2007. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). **Acta Amazônica**. VOL. 37(1): 157 – 164.
- STEPHAN, F.K. 2002. The “other” circadian system: food as a zeitgeber. **Journal of Biological Rhythms**, 17 (4):284-292.
- TENÓRIO, R.A., SANTOS, A.J.G., LOPES, J.P., NOGUEIRA, E.M. DE S., 2006. Crescimento do niquim 569 (*Lophiosilurus alexandri* Steindachner 1876), em diferentes condições de luminosidade e 570 tipos de alimento. **Acta Science Biololy Science**. 28, 305-309
- TOGUYENI, A. ; FAUCONNEAU, B. ; BOUJARD, T. 1997. Feeding behavior and food utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus*: Effect of sex ratio and relationship with the endocrine status. **Physiology and Behavior** 62: 237-279.
- VAN DER MEER, M.B, HERWAARDEN H. V. VERDEGEM, M.C.J. 1997. Effect of number of meals and frequency of feeding on voluntary feed intake of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, 28.419.3 2
- VERA, L.M.; DE PEDRO, N.; GÓMEZ-MILÁN, E.; DELGADO, M.J.; SÁNCHEZ-MUROS, M.J.; MADRID, J.A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. 2007. Feeding entrainment of locomotor activity rhythms, digestive enzymes and neuroendocrine factors in goldfish. **Physiology Behavior** 90: 518-524
- VERA, L.M.; CAIRNS, L.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; MIGAUD, H. 2009. Circadian rhythms of locomotor activity in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Chronobiology international**, 26: 666-681.
- VERAS, G.C.; MURGAS, L.D.S.; ZANGERONIMO, M.G. OLIVEIRA, M.M. ROSA, P.V.FELIZARDO, V.O. 2013. Ritmos Biológicos e Fotoperíodo em Peixes. **Archivos de Zootecnia**. 62 (R): 25-43..
- WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; ILSMAA, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal Agriculture Science** 59: 381-385.
- ZANOTTO, D.L.; NICOLAIEWSKY, S.; FERREIRA, A.S. 1995. Granulometria do milho na digestibilidade das dietas para suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.6, p.428-436.
- ZIMMERMANN, S.; JOST, H.C. 1998. Recentes avanços na nutrição de peixes: a nutrição por fases em piscicultura Intensiva. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Conselho Brasileiro de Nutrição Animal, 1998. p.123-16