

**JOSÉ AUGUSTO BROGGI**

**HIDROLISADO PROTEICO DE SARDINHA  
(CLUPEIDAE) COMO ATRATIVO ALIMENTAR PARA  
O JUNDIÁ (*RHAMDIS QUELEN*)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.

Coorientador: Dr. Marcos Luiz Pessatti.

**LAGES, SC**

**2014**

B866h Broggi, José Augusto  
Hidrolisado proteico de sardinha (Clupeidae)  
como atrativo alimentar para o jundiá (*Rhamdia  
quelen*) / José Augusto Broggi. - Lages, 2014.  
49 p. : il. ; 21 cm

Orientador: Thiago El Hadi Perez Fabregat  
Coorientador: Marcos Luiz Pessatti  
Bibliografia: p. 40-49  
Dissertação (mestrado) - Universidade do  
Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveteinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal, Lages, 2014.

1. Hidrólise. 2. Manejo alimentar. 3. Peixe  
nativo.  
4. Etologia. I. Broggi, José Augusto. II.  
Fabregat, Thiago El Hadi Perez. III. Universidade  
do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal. IV. Título

CDD: 639.3 - 20.ed.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial do  
CAV/UEDESC

## **JOSÉ AUGUSTO BROGGI**

### **HIDROLISADO PROTEICO DE SARDINHA (CLUPEIDAE) COMO ATRATIVO ALIMENTAR PARA O JUNDIÁ (*RHAMDIA QUELEN*)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Ciência Animal como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

#### **Banca Examinadora**

Orientador: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat  
(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Coorientador:

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Marcos Luis Pessatti  
(Univali)

Membro: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. José Luis Pedreira Mouriño  
(Universidade Federal de Santa Catarina)

Membro: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Mauricio Coelho Emerenciano  
(Universidade do Estado de Santa Catarina)

**Lages, 27/06/2014**



A minha família e  
amigos que  
acreditaram em mim.



## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Thiago Fabregat, pela dedicação e paciência comigo, sempre presente e fazendo acreditar que era possível, mesmo em momentos de desânimo, nunca deixou de tentar me animar. Todo conhecimento que hoje tenho, devo ao meu orientador.

Ao Professor Dr. Pessatti, pela co-orientação deste trabalho e ensinamentos passados a mim.

Aos colegas do setor da Piscicultura do CAV, pela ajuda, companheirismo e churrascos.

À minha família, pelo apoio. Especialmente a minha mãe que sempre me incentivou a estudar.

À Universidade do Estado de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade.

Ao Programa de Bolsas da CAPES de Pós-Graduação, pelo fornecimento de bolsa de mestrado.

À Epagri/Lages pelo aprendizado a campo, em especial aos amigos Rogério e Beretta.

Aos colegas do IBAMA-Painel que cederam alguns animais para o projeto piloto.



## RESUMO

BROGGI, José Augusto. **Hidrolisado proteico de sardinha (Clupeidae) como atrativo alimentar para o jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2014. 49f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2014.

O objetivo deste projeto foi avaliar a utilização do hidrolisado proteico de sardinha como atrativo na alimentação do jundiá. Para isto os seguintes atrativos alimentares foram avaliados: 1. extrato aquoso de músculo de tilápia do Nilo; 2. hidrolisado proteico de sardinha com baixo grau de hidrólise (GH); 3. hidrolisado proteico de sardinha com alto GH; 4. hidrolisado proteico de sardinha com alto GH diluído (10% da concentração) e 5. controle usando somente água destilada. Os peixes foram avaliados individualmente. Após jejum de 48 horas o comportamento foi registrado em vídeo por um período basal de 2 minutos, e por mais 18 minutos após a inoculação do atrativo. O delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e vinte repetições. A inoculação dos hidrolisados com alto e baixo GH aumentou o tempo de movimentação dos barbilhões. O hidrolisado com alto GH diluído proporcionou os mesmos resultados que o hidrolisado com baixo GH, mas as médias não diferiram das obtidas para a água destilada (controle negativo) e do extrato de músculo. A locomoção dos peixes aumentou em relação ao período basal, mas não diferiu entre os tratamentos. Por outro lado a aplicação dos atrativos interferiu no número de vezes que os peixes cruzaram a linha divisória do meio do aquário. O incremento na movimentação

de um lado para outro do aquário foi maior ( $P < 0,05$ ) para os hidrolisados com alto e baixo GH. A partir deste resultado é possível concluir que o hidrolisado proteico foi eficiente para estimular o comportamento associado à alimentação em juvenis de jundiá.

**Palavras-chave:** hidrólise; manejo alimentar; peixe nativo; etologia.

## ABSTRACT

BROGGI, José Augusto. **Sardine protein hidrolysate as a feeding stimulant for silver catfish (*Rhamdia quelen*)**. 2014. 49f. Dissertation (Master in Animal Science) - Santa Catarina State University. Postgraduate Program in Animal Science, Lages, 2014.

The objective of this project was to evaluate the utilization of the sardine protein hidrolysate as a feeding stimulant for silver catfish. For this purpose, the following stimulants were evaluated: 1. Nile tilapia aqueous muscle extract; 2. Low degree of hidrolisis (DH) sardine waste protein hidrolizate; 3. High DH sardine waste protein hidrolizate; 4. Diluted (10% of concentration) high DH sardine waste protein hidrolizate and 5. control by using only distilled water. Fish were individually evaluated. After 48 hours of fasting, the behavior was recorded on video for a basal period of 2 minutes, and for more 18 minutes after the substances inoculation. The experimental design was completely randomized with three treatments and twenty repetitions. The inoculation of high and low DH hidrolizates increased the barbells moving time. The diluted high DH hidrolisate provide the same results of the low DH hidrolisate, but the average did not differed from destiled water (negative control) and the tilapia muscle extract. The fish locomotion increased in relation to the basal period, but did not differ between the treatments. On the other hand, the stimulants inoculation interfered in the number of times that the fish crossed the division line in the middle of the aquarium. The movement increase in the fish movement to one side to

another of the aquarium was higher with high and low DH hidrolysates. From this result, it is possible to conclude that the sardine waste protein hidrolysate protein was efficient to stimulate the feeding associated behavior in juvenile jundiá.

**Key-words:** hydrolysis; feed management; native fish; ethology.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1- Imagem do local de experimento, com aquários individualizados. ....	30
Figura 2- Esquema geral do experimento. ....	33
Figura 3- Incremento no tempo de movimentação dos barbilhões (%) de juvenis de jundiá expostos a diferentes atrativos alimentares dissolvidos na água do aquário. ....	34
Figura 4- Incremento no número de vezes que juvenis de jundiá cruzaram o meio do aquário por minuto depois de expostos às substâncias dissolvidas na água.....	35



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1- Composição dos hidrolisados.....	31
--	----



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
2.1	HIDROLISADO PROTEICO DE PESCADO .....	21
2.2	ATRATIVOS ALIMENTARES NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES .....	24
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	28
3.1	OBJETIVO GERAL .....	28
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO .....	28
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	34
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	36
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	39
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	40



## 1 INTRODUÇÃO

Uma grande quantidade de resíduos do processamento de pescado é descartada diariamente pela indústria de pescados. A industrialização de sardinhas gera, em média, 35 e 47,8% de resíduos nas linhas de eviscerados e de espalmados, respectivamente (PESSATTI, 2001), o que de acordo com projeções poderia gerar, considerando as produções entre 2005 e 2010, entre 7.865 e 17.551 toneladas projetadas de resíduos, apenas para sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensi*) e sardinha-lage (*Ophistonema oglinum*). Existem várias alternativas para aproveitar este material e recentemente tem-se enfatizado a necessidade de um melhor aproveitamento dos subprodutos da pesca através da hidrólise enzimática, transformando os resíduos oriundos das indústrias de beneficiamento em um produto de alto valor biológico agregado (CHABEAUD *et al.*, 2009).

O elevado valor nutricional qualifica o hidrolisado proteico de pescado para ser utilizado na composição das rações em cultivos que demandam uma dieta de qualidade, como larviculturas (HERMANNDOTTIR *et al.*, 2009) e produção de peixes carnívoros (HEVRØY, 2005). Para Oliva-Teles *et al.* (1999) a matéria seca do hidrolisado enzimático proteico de pescado pode ser amplamente utilizada em aquicultura, principalmente como suplemento de proteína, aumentando a digestibilidade da dieta. Além disso, uma abordagem que ainda não foi devidamente aprofundada é a possibilidade de utilizar o hidrolisado proteico para melhorar a atratividade da dieta. Os aminoácidos livres e peptídeos de baixo peso molecular encontrados no hidrolisado são detectados pelo sistema gustatório dos peixes e podem agir como atrativos alimentares (HALVER & HARDY, 2002).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie com grande potencial para o cultivo na região sul do Brasil. É uma espécie nativa, onívora, com preferência por peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (GUEDES, 1980; MEURER & ZANIBONI FILHO, 1997). Vivem em lagos e poços profundos dos rios, ambientes com águas mais calmas com fundo de areia e lama, junto às margens e a vegetação. Escondem-se entre pedras e troncos apodrecidos, e são mais ativos no período noturno (GUEDES, 1980), localizando o alimento principalmente por meio de substâncias dissolvidas na água. Assim como outras espécies de bagre, os jundiás possuem corpúsculos gustativos nos barbilhões, superfície da pele, nos lábios, nas partes superiores e interior da boca e nos arcos branquiais (ATEMA, 1971), revelando a grande importância que a quimiorrecepção tem no comportamento alimentar destes peixes. Já foi relatada inclusive alta sensibilidade deste grupo de peixes a aminoácidos dissolvidos na água (CAPRIO, 1975). Neste sentido, o uso de atrativos químicos na água pode ser uma estratégia para condicioná-los ao manejo alimentar em cativeiro.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HIDROLISADO PROTEICO DE PESCADO

A indústria de peixe tem um grande impacto econômico para inúmeros países. Estima-se que em todo o mundo, um bilhão de pessoas dependem da produção, processamento e comércio de pescado para a sua subsistência (OOSTERVEER, 2008). Entretanto, a indústria de processamento de peixe produz mais de 60% de subprodutos como descarte, que incluem a cabeça, pele, barbatanas, vísceras e outros; e apenas 40% dos produtos da pesca são usados diretamente para o consumo humano (DEKKERS *et al.*, 2011). Estas grandes quantidades de resíduos geram um problema ambiental, sendo grave tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Estes resíduos contêm boa quantidade de proteína que normalmente são processados em produtos de baixo valor de mercado, utilizados como ração animal e fertilizantes (HSU, 2010). Várias técnicas têm sido desenvolvidas para recuperar os nutrientes essenciais e compostos bioativos.

Durante a década de 40 teve início no Canadá o desenvolvimento do hidrolisado proteico de pescado (FPH) (TARR, 1948). No começo foi usado como fonte de nitrogênio para cultura de microrganismos (BEUCHAT, 1974; ESPÍNDOLA *et al.*, 2001; VECHT-LIFSHTZ *et al.*, 2008). O FPH é produzido mediante um processo proteolítico enzimático, onde as enzimas exógenas atuam como catalisadores biológicos que aceleram a hidrólise das proteínas do pescado descartado. A adição de enzimas a matéria-prima, controle de pH, temperatura e outras variáveis contribuem para

aceleração do processo (WINDSOR & BARLOW, 1984; WHEATON & LAWSON, 1985). Segundo Oetterer (2001) as enzimas mais utilizadas nesse processo são a papaína, pancreatina, tripsina e a bromelina.

O processo de obtenção do FPH consiste na moagem dos resíduos e acondicionados em recipiente com água, seguido da adição das enzimas. A quantidade de enzimas depende da sua atividade proteolítica e quantidade de proteína da matéria-prima (OVISSIPOUR *et al.*, 2009; CASTRO-CESEÑA *et al.*, 2012; CHALAMAIAH *et al.*, 2012). Conforme Diniz & Martin (1999), o método de hidrólise enzimático de pescado procura dar recuperação a proteínas de espécies subutilizadas ou de resíduos do processamento. Através das enzimas proteolíticas usadas na solubilização da proteína do pescado, se obtém duas frações: solúvel e insolúvel. A fração insolúvel (precipitado) contém aminoácidos essenciais e microminerais (LIASET & ESPE, 2008) e pode ser usada na ração animal, já a solúvel, que contém a proteína hidrolisada pode ser usada na alimentação de larvas e formas jovens de peixes (CARVALHO *et al.*, 1997; REFSTIE *et al.*, 2004) ou elaboração de outros ingredientes destinados à alimentação humana. Esse método possui vantagens quando comparada com as demais técnicas, citando: a especificidade de ação da enzima, digestão sob condições controladas, controle da taxa de hidrólise e manutenção das propriedades funcionais.

A composição do FPH em geral reflete a composição da matéria-prima que lhe deu origem. A composição típica de um FPH produzido a partir de um peixe magro (não gorduroso) com base no peso seco é de 85-90% de proteína, 2-4% de lipídios e 6-7% de cinza (HALL & AHMAD, 1992). De acordo com o grau de hidrólise e da especificidade da protease, o FPH pode apresentar sabor amargo. Conforme Hall & Ahamad

(1992) o sabor amargo decorre da exposição de aminoácidos hidrofóbicos ao ambiente aquoso, e devido ao seu peso molecular eles não podem se proteger do ambiente aquoso, fato que ocorreria normalmente na proteína intacta (nativa).

O FPH pode chegar a concentrações de até 90% de proteína (OETTERER, 2001), apresentando propriedades que a qualificam e despertam interesse. Uma dessas propriedades diz respeito à maior resistência observadas em animais que ingeriram o composto na dieta, como observado por Kotzamanis *et al.* (2007) em larvas de *Dicentrarchus labrax* onde os animais tiveram uma melhora na resposta imunológica frente ao patógeno testado. Outro motivo é sua altíssima digestibilidade, sendo indicado para alimentação de larvas de peixes, fase crítica onde os animais não apresentam o trato digestivo morfológicamente formado e sua atividade enzimática ainda é incipiente (DABROWSKI, 1984; OVISSIPOUR, 2014).

De acordo com Kotzamanis *et al.* (2007) hidrolisados de proteínas de peixe ( FPHs ) têm sido usados em aquicultura a fim de melhorar o crescimento e sobrevivência de peixes. Estes mesmos autores incorporaram dois hidrolisados de proteína de *Sardina pilchardus*, em quatro dietas preparadas para larvas de robalo em início de alimentação, em dois níveis diferentes (10% e 19% do total dos ingredientes). Os autores relataram que os hidrolisados proteicos afetaram o desempenho de crescimento e estado imunológico de larvas robalo. Em outro estudo, um hidrolisado de proteína de *Pollachius virens* foi usado para enriquecimento da alimentação viva oferecida às larvas de linguado no início da alimentação exógena e foram encontrados efeitos do tratamento sobre parâmetros imunes inatos, houve maior produção de lisozima e C3 durante as primeiras semanas de alimentação (HERMANNSDOTTIR *et al.*, 2009). Nguyen *et al.*, (2012) realizaram uma alimentação

teste para avaliar o efeito da suplementação do hidrolisados de cabeça de atum sobre a sobrevivência e o crescimento de camarão *Penaeus vannamei* e relataram que os hidrolisados de cabeça de atum melhorou significativamente o crescimento e as taxas de sobrevivência dos camarões.

## 2.2 ATRATIVOS ALIMENTARES NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

A percepção do alimento nos peixes está relacionada aos sistemas visual e quimiorreceptivo, sendo este último composto pelos sentidos do olfato e gustativo (KLEERELOPER, 1969; HARA, 1994). A maioria das espécies de peixe localiza o alimento pelo sentido da visão ou substâncias dissolvidas no meio. Mas a decisão de ingerir ou não o alimento é determinada pelas células gustativas na boca e faringe (MACKIE & MITCHELL, 1985).

Os peixes basicamente conseguem detectar compostos solúveis com baixo peso molecular através de corpúsculos gustativos distribuídos pela boca, esôfago, brânquias e até mesmo na superfície externa do corpo (GERKIN, 1994; HALVER & HARDY, 2002). De acordo com Atema (1971), algumas espécies de bagre da subordem *Siluroidei* possuem estruturas gustativas nos barbilhões, superfície da pele, lábios, partes superiores e interior da boca e arcos branquiais. Mostrando como a quimiorrecepção é fundamental no comportamento alimentar dos peixes.

As substâncias químicas podem ser divididas de acordo com seus efeitos no comportamento alimentar. A presença ou ausência destes componentes na dieta determina se a comida é apreendida ou ignorada, comida ou rejeitada e quanto ela é consumida (KASUMYAN & DØVING, 2003). A

nomenclatura utilizada para a classificação dos estimulantes químicos a partir do comportamento alimentar é bastante variada (LINDSTED 1971; MACKIE & MITCHELL 1982; MEARNS *et al*, 1987; SAKATA, 1989). Recentemente este assunto foi revisado por Kasumyan & Døving (2003), que de acordo com o efeito no sistema gustatório oral e extraoral, classificou os atrativos em: incitantes, estimulantes e potencializadores. Incitantes são substâncias que induzem a busca e a captura do alimento, via sistema gustatório extraoral. Há uma série de comportamentos diferentes que podem sinalizar este efeito incitante, como mordidas sucessivas e tentativas de agarrar o alimento. Estimulantes são substâncias caracterizadas pelo aumento da taxa de ingestão. Este comportamento é evocado pelo sistema gustatório oral, após o alimento ser ingerido. E finalmente, potencializadores são substâncias que embora não tenham efeito atrativo por si só, acentuam o sabor e causam aumento do consumo. Este comportamento também é controlado pelo sistema gustatório oral.

Diferentes substâncias já foram avaliadas como atrativos alimentares: nucleotídeos, ácidos orgânicos, aminas e aminoácidos livres (BÓRQUEZ & CERQUEIRA, 1998; MACKIE & ADRON, 1977; NAKAJIMA & UCHIDA, 1989; KASUMYAN & DØVING, 2003). Os aminoácidos possuem um papel fundamental como sinais químicos para o sistema gustativo dos peixes (MARUI & CAPRIO, 1992; LAMB & FINGER, 1995), existindo correlação entre a efetividade estimulatória e a estrutura molecular dos aminoácidos (SUZUKI & TUKER, 1971). Barnard (2006) revisou o uso de aminoácidos como atrativos alimentares para peixes e concluiu que em geral os  $\alpha$ -aminoácidos são altamente estimulatórios, L-isômeros são mais efetivos que D-isômeros e a atratividade não está diretamente relacionada com aminoácidos essenciais.

Segundo o autor, diferentes aminoácidos têm efeito atrativo: ácido glutâmico, alanina, lisina, arginina e betaína são os mais proeminentes, com o efeito variando entre as espécies. Também relatou que existem interações sinérgicas com a combinação de alguns aminoácidos.

Os atrativos podem ser disponibilizados de diferentes formas, tanto na água como na ração. Este assunto foi recentemente revisado por Barnard (2006). Hara (1973) utilizou eletrodos para captar a atividade elétrica e avaliar o efeito de aminoácidos dissolvidos na água sobre a resposta do sistema olfatório de truta arco-iris. Caprio (1975) também verificou que a inoculação de aminoácidos na água foi eficiente para estimular o sistema quimiorreptivo de *Ictalurus punctatus*. O uso de atrativos nas rações foi mais amplamente avaliado. Pereira-da-Silva & Pezzato (2000) avaliaram a efetividade química de atração de alguns ingredientes pelo método de dupla escolha para *Oreochromis niloticus*. Erteken & Nezaki (2002), testaram em *Psetta maxima* diferentes dietas estimulantes, com variações no pH das dietas testadas, onde essas variações foram de 6,6 a 6,9 e o resultado foi que a combinação de ácido glutâmico e inosina teve o mesmo efeito de atratividade da inosina isoladamente. Johsen & Adams (1986), realizaram um estudo com atrativos químicos extraídos de alface para *Tilapia zilli* onde alguns aminoácidos livres foram estimulatórios. Bórquez & Cerqueira (1998), analisaram a influência de doze aminoácidos no comportamento alimentar de juvenis de robalo (*Centropomus undecimalis*) sendo fornecidos em pellets, onde acabaram mostrando-se atrativas. Barnard (2006) verificou a inclusão de atrativos químicos em dietas de baixa palatabilidade em *Cyprinus carpio*, relatando que alguns aminoácidos e suas combinações foram bons estimulantes químicos, citando que a adição de atrativos na

ração pode incrementar a ingestão em dietas de baixa palatabilidade.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficiência do hidrolisado proteico de sardinha como atrativo alimentar para juvenis de jundiá.

#### **3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Avaliar o efeito da inoculação de diferentes atrativos alimentares na água sobre o comportamento alimentar do jundiá.

Verificar o efeito do grau de hidrolise na atratividade do hidrolisado.

Verificar o efeito das diferentes concentrações do hidrolisado na resposta comportamental.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura do Centro de Ciência Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina. A estratégia básica foi avaliar o efeito do hidrolisado proteico de sardinha como estimulador químico do apetite para o jundiá. Para isto os seguintes atrativos alimentares foram avaliados: 1. extrato aquoso de músculo de tilápia do Nilo (controle positivo); 2. hidrolisado proteico de sardinha com baixo grau de hidrolise (GH); 3. hidrolisado proteico de sardinha com alto (GH); 4. hidrolisado proteico de sardinha com alto GH diluído (10% da concentração) e 5. controle usando somente água destilada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e no mínimo 15 repetições.

Antes do experimento os juvenis de jundiá (peso médio  $7,3 \pm 1,8$  g) foram aclimatados em biotério por no mínimo 30 dias, em caixas d'água equipadas com sistema de aeração e aquecimento. Os animais foram alimentados com ração comercial e as excretas e restos alimentares eram sifonados diariamente. A qualidade da água foi monitorada periodicamente e as médias foram: temperatura  $24,72^{\circ}\text{C} \pm 0,91$ ; oxigênio  $5,24\text{mg/l} \pm 0,41$ ; amônia  $0,01\mu\text{l} \pm 0,1$  e pH  $8,16 \pm 0,25$ . Mantiveram-se dentro dos parâmetros recomendados para o cultivo do jundiá (BALDISSEROTO E RADÜNZ, 2004). Os peixes foram avaliados individualmente e antes dos ensaios foram mantidos isolados nos aquários experimentais (20 litros) por um período máximo de sete dias (Figura 1), até eles começarem a se alimentar normalmente. Foram utilizados somente aqueles que estavam se alimentando por três dias seguidos. As avaliações foram realizadas sempre no mesmo

horário em dias diferentes, evitando assim interferência do ritmo circadiano nas variáveis estudadas.

**Figura 1- Imagem do local de experimento, com aquários individualizados.**



Fonte: José Augusto Broggi (2014).

O hidrolisado proteico foi produzido com carcaças limpas (desprovidas de cabeça, cauda e vísceras) de sardinhas (*Sardinella* sp.). Alíquotas com cerca de 300 g, totalizando 1,45 kg de amostra, foram homogeneizadas em liquidificador com 3 volumes de água e incubadas com a Protamex<sup>®</sup> Novozymes A/S (1:500 enzima:peixe) a 50°C durante 90 minutos, seguido de inativação da enzima a 90°C durante 15 minutos. As suspensões foram misturadas e submetidas à filtração Büchner com papel de 80 g Unifil<sup>®</sup> e vácuo para um kitassato. O material retido foi considerado como a fração insolúvel, a qual foi parte congelada e parte seca à 65° C. A fração solúvel (filtrado) foi congelada e liofilizada. Alternativamente, outra estratégia de separação foi realizada, com o intuito de se obter um hidrolisado com menor grau de hidrólise. Cerca de 1000 g de amostra foi homogeneizada em liquidificador com 200 ml de água e em seguida incubada à 50°

C. Após estabilização da temperatura, foi adicionado 2 g de enzima diluída em 10 ml de água destilada. Decorrida a hidrólise, como descrito acima, a suspensão foi centrifugada a 650xg. O sobrenadante (fração solúvel), obtido desta forma, contém fragmentos protéicos maiores e um menor grau de hidrólise.

A composição dos hidrolisados está apresentada na Tabela 1. As análises químicas foram efetuadas de acordo com os métodos da AOAC (1995). O teor de umidade foi determinado por radiação infravermelha e o teor de lipídeos pelos métodos de Soxhlet. O grau de hidrólise (GH%) foi determinado a partir da proporção do hidrolisado de proteína solubilizada e a proteína total determinada pelo método de Kjeldahl (AOAC,1995) na matéria-prima (músculo). O teor de proteína solubilizada foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951), após incubação em ácido tricloroacético 7,5% por 30 minutos à temperatura ambiente, seguida de centrifugação a 870 x g durante 20 minutos. Para a dosagem de proteínas pelo método de Lowry foi realizada uma curva de calibração prévia utilizando-se soro albumina.

**Tabela 1- Composição dos hidrolisados**

Amostra	Umidade (%)	Proteína* (%)	Lipídeo* (%)	GH (%)
Hidrolisado baixo GH	76,6±0,1	73,4±2,0	6,4±1,4	24,2±5,7
Hidrolisado alto GH	96,2±0,2	82,5±1,8	2,4±0,1	88,1±5,1

GH – grau de hidrólise; \*Valores baseados na matéria seca.

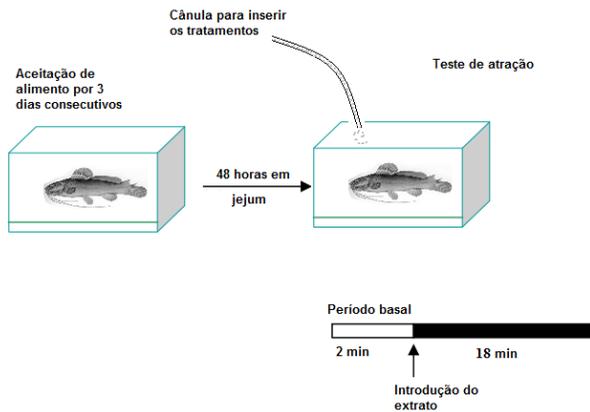
Fonte: José Augusto Broggi (2014).

Na preparação do extrato aquoso de músculo de tilápia as amostras de tecido (0,5 g) foram maceradas, homogeneizadas em 10 ml de água destilada, coadas em

peneira e misturadas em água destilada até completar 40 ml. Por último a mistura foi filtrada em papel filtro de 90 mm, fracionada de acordo com a necessidade de uso e armazenada em freezer à  $-20^{\circ}$  C. Nas avaliações foi utilizado 20 ml de extrato de músculo de tilápia, quantidade que já foi utilizada com sucesso para o pintado (VICENSOTTO, 2003). A quantidade utilizada dos hidrolisados foi determinada de forma a incluir nos aquários uma quantidade proteínica equivalente à contida no extrato aquoso de músculo de tilápia (2,23 mg/L do aquário). Antes da aplicação o hidrolisado foi diluído em 20 ml de forma a padronizar o volume de líquido introduzido nos aquários.

Após um jejum de 48 horas o comportamento basal dos peixes foi registrado em vídeo por um período de 2 minutos P1 (0 a 2 min = basal) e em seguida foi introduzido o atrativo (ou água destilada), utilizando uma seringa ligada a uma cânula. O comportamento do peixe foi filmado durante mais 18 (totalizando 20) minutos (Figura 2). Foram registrados e analisados os seguintes parâmetros: a) o tempo em locomoção, independente do sentido ou direção do movimento; b) o comportamento associado à alimentação, caracterizado pelo movimento contínuo ou levantamento dos barbilhões em direção ao alimento, de acordo com Giaquinto & Volpato (2001) e Vicensotto (2003); c) o número de vezes que o peixe cruzou a linha divisória do meio do aquário. Os peixes que não se locomoveram nenhuma vez foram excluídos da análise estatística. Os resultados foram analisados por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA), e submetidos ao teste de Duncan (5% de significância). Antes de todas as análises foi verificada a normalidade dos erros (Cramer-von Mises) e homocedasticidade das variâncias (Teste de Levene).

**Figura 2- Esquema geral do experimento.**

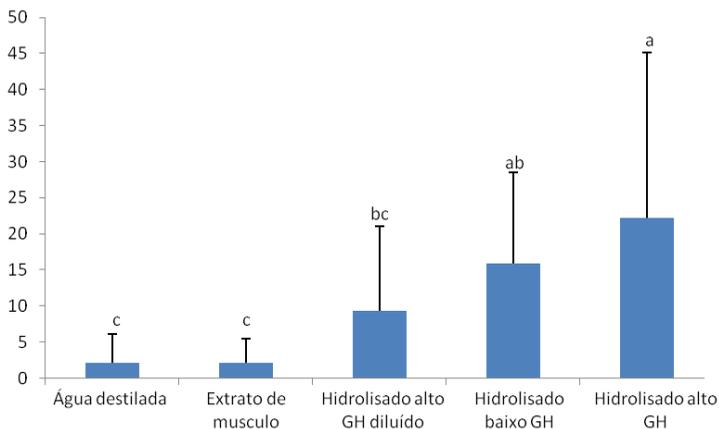


Fonte: Adaptado de Vicensotto (2003).

## 5 RESULTADOS

A inoculação dos hidrolisados com alto e baixo GH fez com que os peixes ficassem mais ( $P<0,05$ ) tempo movimentando os barbilhões (Figura 2). O hidrolisado com alto GH proporcionou maior movimentação ( $P<0,05$ ) em relação aos outros tratamentos. O uso do hidrolisado com alto GH diluído proporcionou os mesmos resultados ( $P>0,05$ ) que o hidrolisado com baixo GH, mas as médias não diferiram das obtidas para a água destilada (controle negativo) e do extrato de músculo.

**Figura 3- Incremento no tempo de movimentação dos barbilhões (%) de juvenis de jundiá expostos a diferentes atrativos alimentares dissolvidos na água do aquário.**

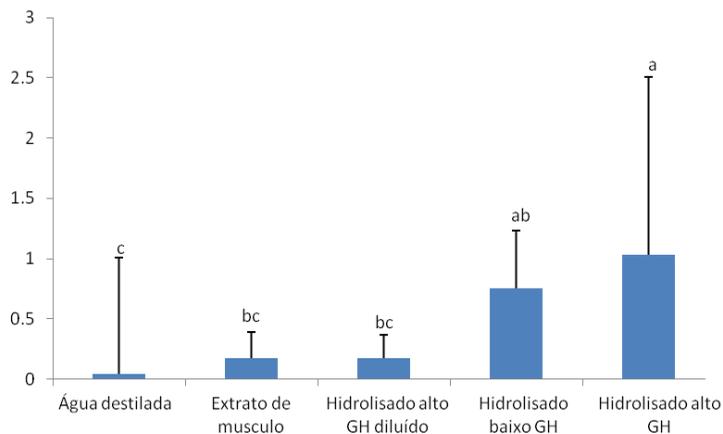


Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan ( $P<0,05$ ). GH - grau de hidrólise.

Fonte: José Augusto Broggi (2014)

A porcentagem do tempo que os peixes ficaram se locomovendo aumentou ( $P<0,05$ ) após a inoculação dos atrativos em relação ao período basal, de  $3,33\pm 10,48$  para  $17,01\pm 22,07\%$  do tempo, mas o incremento na locomoção não diferiu ( $P<0,05$ ) entre os tratamentos. Por outro lado a aplicação dos atrativos interferiu no número de vezes que os peixes cruzaram a linha divisória do meio do aquário (Figura 3). O incremento na movimentação de um lado para outro do aquário foi maior ( $P<0,05$ ) para os hidrolisados com alto e baixo GH. Os resultados do extrato de músculo e do hidrolisado com alto GH diluído não diferiram ( $P>0,05$ ) do hidrolisado com baixo GH, mas também não variaram ( $P>0,05$ ) em relação a água destilada.

**Figura 4- Incremento no número de vezes que juvenis de jundiá cruzaram o meio do aquário por minuto depois de expostos às substâncias dissolvidas na água.**



Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan ( $P<0,05$ ). GH - grau de hidrólise.

Fonte: José Augusto Broggi (2014).

## 6 DISCUSSÃO

A inoculação do hidrolisado de sardinha na água foi eficiente para estimular a movimentação dos barbilhões, comportamento já associado à procura pelo alimento para o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), outra espécie de bagre (GIAQUINTO & VOLPATO, 2001). O hidrolisado proteico de pescado já foi amplamente avaliado como componente nutricional das dietas (REFSTIE, 2004; CAHU *et al.*, 1999; BUI *et al.*, 2014) , mas seu potencial como atrativo foi pouco estudado. Nascimento *et al.* (2008) relatou melhora no consumo de ração com a utilização de hidrolisados incorporados na dieta do pintado, mas não foram encontrados estudos tratando especificamente da questão da atratividade.

A resposta comportamental foi mais evidente no hidrolisado de sardinha com alto GH. Quanto maior o grau de hidrolise maior proporção de proteínas solúveis de baixo peso molecular, o que pode ter favorecido a detecção pelo sistema gustativo dos peixes, que são altamente sensíveis a substâncias solúveis dissolvidas na água (MARUI & CAPRIO, 1992; HALVER & HARDY, 2002). Da mesma forma a diluição do hidrolisado diminuiu a sua efetividade como atrativo, pela menor quantidade destas substâncias na água. Estes resultados mostram que a concentração de atrativo utilizada tem efeito importante na resposta estimulatória (KOTZAMANIS, 2007).

O uso dos atrativos alimentares não afetou a locomoção dos peixes. Os hidrolisados foram eficientes para estimular o comportamento alimentar, isto não fez com que os peixes se movimentassem por mais tempo. O tempo de locomoção varia bastante entre os indivíduos e está sujeita a diversos fatores, até mesmo a diferenças individuais no comportamento (WILSON *et al.*, 1993; BROWN *et al.*, 2007). Assim sendo,

possíveis alterações no tempo de locomoção podem ter sido mascaradas.

Embora não tenha havido diferença na locomoção, o uso dos hidrolisados fez com que os peixes cruzassem com maior frequência a linha divisória do meio do aquário. Os atrativos foram inoculados no aquário e rapidamente se dissolveram de forma homogênea na água do aquário. O comportamento de percorrer o aquário pode ser um indicativo que estavam tentando localizar a fonte do estímulo químico. A procura pelo alimento é uma das etapas do comportamento alimentar, e pode ser estimulada com o uso de substâncias incitantes (BARNARD, 2006). Conforme descrito por Kasumyan e Døving (2003) a resposta gustatória extraoral, quando bem desenvolvida, faz o animal exercer um esforço abrupto para localizar o objeto ou evita-lo, desenvolvendo movimentos de parar, retornar, virar para o lado, nadar para trás, iniciar a trajetória de procura ou fazer círculos e movimento de zigue-zague para procurar o objeto.

O extrato de músculo foi utilizado como um controle positivo, pois sua efetividade já comprovada para o pintado (VICENSOTTO, 2003). Entretanto para o jundiá, os resultados de estimulação não foram suficientes para mostrar uma resposta em relação ao tratamento controle. Este resultado pode estar associado a diferenças no hábito alimentar das duas espécies, pois o pintado é um peixe predador carnívoro (SATO, 2003). Embora o jundiá também possa ingerir pequenos peixes, na verdade trata-se de uma espécie onívora (MEURER & ZANIBONI -FILHO, 1997) e o extrato de músculo pode não ter provocado o efeito desejado. Num carnívoro o estímulo com o extrato de músculo de outros peixes, pode ser interpretado como a presença de um animal ferido, que serviria como fonte de alimento (WEBER *et al.*, 2012).

Os atrativos podem ser utilizados de duas formas: diretamente na água dos tanques, para estimular o início da alimentação (HARA, 1973; CAPRIO, 1975; JOHNSEN & ADAMS, 1986; BORQUEZ & CERQUEIRA, 1998; BARNARD, 2006), e na ração, para maximizar a ingestão de dietas com baixa atratividade (PEREIRA-DA-SILVA & PEZZATO, 2000; ERKETEN & NEZAKI, 2002; BARNARD, 2006). O hidrolisado de sardinha inoculado na água do aquário foi eficiente para estimular o comportamento associado à alimentação, demonstrando seu potencial como substância incitante da alimentação (REFSTIE *et al.*, 2004). Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar possíveis efeitos sobre a taxa de ingestão do alimento, assim como avaliar a melhor forma de utilização do atrativo, dissolvido na água ou incorporado na ração.

## 7 CONCLUSÕES

O uso de hidrolisado proteico de sardinha se mostrou eficiente para estimular o comportamento que está associado à alimentação dos juvenis de jundiá.

O maior grau de hidrolise favoreceu o estímulo positivo em relação à busca do alimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16ed. Arlington, 1995.

ATEMA, J. Structures and Functions of the Sense of Taste in the Catfish (*Ictalurus natalis*). **Brain, Behaviour And Evolution**. Atlanta, p. 273-294. jan. 1971.

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ, J. N. **Criação de Jundiá**. Ed. UFSM, Santa Maria, 2004.

BARNARD, P. **Gustatory and olfactory feeding responses in Japanese Koi Carp (Cyprinus Carpio)**. 67 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculty Of Agricultural Sciences, Departamento de Animal Science, University Of Stellenbosch, Stellenbosch, 2006.

BEUCHAT, L. R. Preparation and evaluation of a microbial growth medium formulated from catfish waste peptone. **Journal of Milk and Food Technology**, v.37,p.277-281. 1974.

BÓRQUEZ, A.; CERQUEIRA, V.R. Feeding behavior in juvenile snook, *Centropomus undecimalis*: I. Individual effect of some chemical substances. **Aquaculture**. p. 25-35. jul. 1998.

BUI, H. T. D. *et al.* Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of

juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. **Aquaculture**. p.11-16. jan. 2014.

BROWN, C., JONES, F; BRAITHWITE, V. In situ examination of boldness–shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyraphis episcopa*. **Animal Behavior**, v. 70, p. 1003-1009. 2007.

CAPRIO, J. High sensitive of catfish taste receptors to amino acids. **Comparative Biochemistry and Physiology**. p.247-251. 1975.

CASTRO-CESEÑA, A.B.; SÁNCHEZ-SAAVEDRA, M. P.; MÁRQUEZ-ROCHA, F.J. Characterisation and partial purification of proteolytic enzymes from sardine by-products to obtain concentrated hydrolysates. **Food Chemistry**. p.583-589. nov. 2012.

CAHU, C.L *et al.* Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. **Aquaculture**. p.109-119. fev. 1999.

CARVALHO, A.p. *et al.* First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysates. **Aquaculture International**. p. 361-367. jan. 1997.

CHABEAUD, A.; VANDAJON, L.; BOURSEAU, P; JAOUEN, P.; GUERARD, F. Fractionation by ultrafiltration of sai the protein hydrolysate (*Pollachius virens*): Effect of material and molecular weight cut-off on the membrane performances. **Journal of Food Engineering**, v.91, p.408-414. 2009.

CHALAMAIAH, M.; KUMAR, B.D.; HEMALATHAB, R. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food Chemistry**. p.3020-3038. dez. 2012.

DABROWSKI, K. The feeding of fish larvae: present state of art and perspectives. **Reproduction, Nutrition and Development**, v.24 n.6. 807-833, 1984.

DEKKERS, E.; *et al.* Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. **Food Chemistry**. p.640-645. jan. 2011.

DINIZ, F. M.; MARTIN, A. M. Hidrolisado protéico de pescado In: OGAWA, M. & MAIA, E.L. **Manual de Pesca**. São Paulo: Varela. 1999.

ERTEKEN, A.; NEZAKI, G. Effects of feeding stimulants, and diet pH on the growth of Black Sea Turbot, *Psetta maxima*. **Turkish Journal Fisheries And Aquatic Science**. Trabzon, p. 19-22. 2002.

ESPÍNDOLA FILHO, A. *et al.* Processamento agroindustrial de resíduos de peixes, camarões, mexilhões e ostras pelo sistema cooperativado. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo, v.4. 52-61, 2001.

GERKIN, S. D. **Feeding ecology of fish**. London: Academic Press, p. 24-38, 1994.

GIAQUINTO, P. C; VOLPATO, G. L. Hunger suppresses and the onset and the freezing component of the antipredator

response to conspecific skin extract in pintado catfish. **Behaviour.**, p. 1205-1214. 2001.

GUEDES, D. S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae).** Santa Maria – 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1980.

HALL, G. M. & AHMAD, N.H. Functional properties of fish protein hydrolysates. In: HALL, G.M. **Fish Processing Technology.** Black Academic & Professional. New York: VCH Publishers, cap. 9, pp. 248-274, 1992.

HALVER, J. E., HARDY, R.W. (Eds.) **Fish Nutrition.** 3rd version. Elsevier Science, San Diego, USA. 839 p. 2002.

HARA, T. J. Olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Comparative Biochemistry And Physiology.** Great Britain, p. 407-416. abr. 1973.

HARA, T. J. The diversity of chemical stimulation in fish olfaction and gustation. **Rev Fish Biol Fish** v.4, p.1-35, 1994.

HERMANNSDOTTIR, R.; *et al.* Analysis of effects induced by a pollock protein hydrolysate on early development, innate immunity and the bacterial community structure of first feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. **Fish and Shellfish Immunology.** v.27. 595-602. 2009.

HEVRØY, E. M.; ESPE, M.; WAAGBØ, R. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased

levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 301–313, 2005.

HSU, K. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. **Food Chemistry**, v.122, 42–48, 2010.

JOHNSEN, P. B.; ADAMS, M. A. Chemical feeding stimulants for the herbivorous fish, *Tilapia zillii*. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 83, p. 109-112, 1986.

KASUMYAN, A. O.; DØVING, K. B. Taste preferences in fishes. **Fish And Fisheries**, Moscow, v. 4, n. 4, p.289-347, abr. 2003.

KLEEREKOPER, H. **Olfaction in fishes**. Indiana University Press. Bloomington, 1969.

KOTZAMANIS, Y. P; GISBERT, E.; GATESOUP, F. G. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Comparative Biochemistry And Physiology**. p. 205-214. maio 2007.

LAMB, C.; FINGER, T. E. Gustatory control of feeding behavior in goldfish. **Physiology and Behaviour**.v. 57, p. 483-488, 1995.

LIASET, B.; ESPE, M. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. **Process Biochemistry**. p. 42-48. out. 2008.

LINDSTEDT, K. J. Chemical control of feeding behaviour. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 39, p. 553-581, 1971.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. V. 193, n. 1, p. 265-275, Maryland, 1951.

MACKIE, A. M.; ADRON, J. W. Identification of inosine and inosine 5'-monophosphate as the gustatory feeding stimulants for the turbot, *Schophthalmus maximus*. **Com. Biochem. Physiol.** Great Britain, p. 79-83. jun. 1977.

MACKIE, A. M., MICHEL A. I. Further studies on the chemical control of feeding behavior in the dover sole, *Solea solea*. **Com.Biochem. Physiol.** 73, 89-93, 1982.

MACKIE, A. M., MICHEL A. I. Identification of gustatory feeding stimulants for fish-applications in aquiculture. **Nutrition and Feeding in Fish**. London. Academic Press, 177-189. 1985.

MARUI, T., CAPRIO, J. Teleost gustation. **Fish chemoreception**. Ed.T.J Hara, London, p.171-198, 1992.

MEARNS, K. J. ELLIGSEN, O. F.; DØVING, K. B. Feeding behaviour in adult rainbow trout and Atlantic salmon Parr, elicited by chemical fractions and mixtures of compounds identified in shrimp extract. **Aquaculture**, v. 64, p. 47-63, 1987.

MEURER, S., ZANIBONI FILHO, E. Hábito alimentar do jundiá *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae), na região do alto rio Uruguai. In: XII ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, São Paulo, SP, **Anais...** São Paulo: SBI, 1997. 420 p. p. 29. 1997.

NAKAJIMA, K.; UCHIDA, A.; ISHIDA, Y. A new feeding attractant dimethyl- $\beta$ -propiothetin, for freshwater fish. **Nippon Suisan Gakk Shi.** p. 689-695. out. 1989.

NGUYEN, H. T.; PÉREZ-GÁLVEZ, R; BERGÉ, J. P. Effect of diets containing tuna head hydrolysates on the survival and growth of shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture.** p. 127-134. jan. 2012.

NASCIMENTO, J. H. P.; VERRESCHI, D. C.; JESUS, R. S. de. Hidrolisado Protéico de peixe em Dietas para Alevinos de Surubim, *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829). **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p.1-6, jan. 2008.

OETTERER, M. **Produtos Obtidos por Interferência na Fração Protéica do Pescado.** Piracicaba: ESALQ, 2001.

OLIVA-TELES, A.; CERQUEIRA, A. L.; GONÇALVES, P. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. **Aquaculture**, 179, 195–201, 1999.

OOSTERVEER, P. Governing global fish provisioning: Ownership and management of marine resources. **Ocean & Coastal Management**, 51, 797–805, 2008.

OVISSIPOUR, M. *et al.* The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. **Food Chemistry**, p. 238-242. jul. 2009.

OVISSIPOUR, M. *et al.* Tuna viscera protein hydrolysate: nutritive and disease resistance properties for Persian sturgeon (*Acipenser persicus* L.) larvae. **Aquaculture Research**. p. 591-601. mar. 2014.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; PEZZATO, L. E. Respostas da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) à Atratividade e Palatabilidade de Ingredientes Utilizados na Alimentação de Peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p.1273-1280, 2000.

PESSATTI, M. L. **Aproveitamento dos subprodutos do pescado**. 2001. Meta 11. Relatório Final de Ações Prioritárias ao Desenvolvimento da Pesca e Aquicultura no Sul do Brasil, Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Universidade do Vale do Itajaí, MA/SARC, n. 003/2000.

REFSTIE, S.; OLLI, J.J.; STANDAL, H. Feed intake, growth, and protein utilization by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. **Aquaculture**. 331-349, 2004.

SAKATA, K. Feeding attractants and stimulants for marine gastropods. *Bioorganic Marine Chemistry*, v. 3, p. 115-129, 1989.

SATO, Y.; GODINHO, H. P. Migratory Fishes of the São Francisco River. In: *Migratory Fishes of South America*.

**Biology, Fisheries and Conservation Status.** pp. 195-232, 2003.

SUZUKI, N.; TUKER. Amino acids as olfactory stimuli in freshwater catfish, *Ictalurus catus* (Linn). **Com. Biochem. Physiol.** 399-404, 1971.

TARR, H. L. A. **Food technology.**v2 p 268-277, 1948.

VECHT-LIFSHTZ, S. E. *et al.* Microbial growth on peptones from fish industrial wastes. **Letters in Applied Microbiology,** v10: 183-186, 2008.

VICENSOTTO JÚNIOR, M. **Estimulação química do apetite e crescimento do pintado.** 2003. 30 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

WEBER, P.; VOGEL, C.; LANG, C. Antipredator and alarm reaction responses of silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles exposed to waterborne ammonia. **Neotropical Ichthyology.** Porto Alegre, p. 1-2. maio 2012.

WHEATON, F. W.; LAWSON, T. B. In: **Processing Aquatic Food Products.** Nova York, 1985.

WILSON, D. S.; COLEMAN, K.; CLARK, A. B; BIEDERMAN, L. Shy–bold continuum in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*), an ecological study of a psychological trait. **Journal Comparative Psychology,** v. 107, p. 250-260, 1993.

**WINDSOR, M.; BARLOW, S. Introducción a los Subproductos de Pesquería.** Zaragoza: Acríbia, 1984.