

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO,
Centropomus undecimalis BLOCH, 1792 (PISCES, CENTRO-
POMIDAE), FACE A ATRATIVOS QUÍMICOS E EXTRATOS
AQUOSOS ANIMAIS.**

**DISSERTAÇÃO SUBMETIDA A UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AQUICULTURA**

ALIRO SAMUEL BÓRQUEZ RAMÍREZ

FLORIANÓPOLIS, MARÇO DE 1991

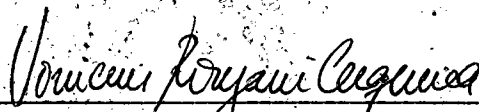
COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO,
Centropomus undecimalis Bloch, 1972 (PISCES,
CENTROPOMIDAE), FACE A ATRATIVOS
QUÍMICOS E EXTRATOS AQUOSOS ANIMAIS.

POR

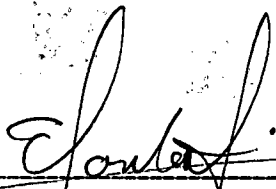
ALIRO SAMUEL BORQUEZ RAMÍREZ

DISSERTAÇÃO APROVADA COMO REQUISITO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA, PELA COMISSÃO FORMADA PELOS PROFESSORES:

ORIENTADOR :



DR. VINICIUS RONZANI CERQUEIRA
UFSC - SC



DR. EUCLYDES ANTONIO DOS SANTOS
FURG - RS



DR. SANTO ZACARIAS GOMES
UFSC - SC

FLORIANÓPOLIS, 19 DE MARÇO DE 1991

A MI FAMILIA POR EL AMOR Y
COMPRENSION QUE SIEMPRE ME
HAN BRINDADO.

EN MEMORIA DE MIS PADRES,
VICTOR Y YOLANDA.

AGRADECIMENTOS

A Organização dos Estados Americanos - OEA, pela bolsa de estudos que me foi concedida, e sem a qual não teria sido possível a minha permanência no Brasil.

A Comissão Interministerial para os Recursos do Mar - CIRM, que apoiou a criação do Laboratório de Piscicultura Marinha, tornando possível a realização deste trabalho.

Ao professor Vinicius R. Cerqueira, pela procura de recursos financeiros para o desenvolvimento desta pesquisa e pela orientação recebida.

Aos amigos do Laboratório de Camarões Marinhos, na pessoa do professor Edemar R. Andreatta, pela ajuda recebida no desenvolvimento deste trabalho.

A José Geraldino Valgas ("Keka") e Pedro Iaczkinski ("Pedrão"), técnicos do Departamento de Aquicultura, e ao amigo Otacílio, pela captura dos robalinhos para esta pesquisa.

A Renato Cesar Dittrich, pesquisador da EMPASC, pela disponibilidade, sugestões e ajuda recebida na análise dos dados.

Aos membros da banca examinadora, professores Euclides A. Dos Santos e Santo Z. Gomes, pelos comentários e sugestões que fizeram para melhorar o manuscrito.

A Sérgio Winkler e Clóvis Wesley, ao primeiro pela ajuda sempre oportuna e ao segundo pela paciência na procura da maioria da bibliografia nas bibliotecas de São Paulo.

A Ivan Espinoza pela confecção dos gráficos no "Macaco plus" e a sua família pelo constante apoio.

Ao Wilson M. Fernandes, pela força recebida ao ceder-nos sua casa nestes últimos meses de moradia no Brasil, fato que facilitou enormemente a finalização desta dissertação.

Ao professor Antônio Pedro, Assessor de Assuntos Internacionais da UFSC, pela amizade, sugestões para este trabalho, e constante ajuda recebida durante minha estada na Universidade.

Aos estagiários e bolsistas do Laboratório de Piscicultura Marinha, Mauro, Nuno e Tirelli, pela constante ajuda.

A todos e cada um dos professores e funcionários do Departamento de Aquicultura, que de uma ou outra forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A minha mulher, Clarita, pelo constante apoio e pela ajuda recebida na datilografia e revisão do texto.

SUMARIO

	pág.
RESUMO.....	v
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	5
MATERIAL E MÉTODOS GERAIS.....	17
Captura e confinamento dos peixes.....	17
Aquários para os testes.....	17
Condições para os bioensaios.....	18
Procedimentos experimentais.....	18
Substâncias testadas.....	19
Preparação do "pellet" de ágar.....	20
Registro das observações.....	20
Análise estatística.....	21
CAPÍTULO I: COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, <i>C. undecimalis</i> , FACE A DIVERSAS SUBSTANCIAS QUÍMICAS.....	22
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	23
Resultados.....	24
Discussão.....	28
CAPÍTULO II: EFEITO DO NÚMERO DE PEIXES SOBRE O COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, <i>C. undecimalis</i> , ESTIMULADO POR DIVERSAS SUBSTANCIAS QUÍMICAS.....	32

Introdução.....	32
Material e Métodos.....	33
Resultados.....	34
Discussão.....	38
CAPÍTULO III: RESPOSTA ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, <i>C. undecimalis</i> . PARA MISTURAS DE AMINOACIDOS E OUTRAS SUBSTANCIAS EM DIVERSAS CONCENTRAÇÕES....	41
Introdução.....	41
Material e Métodos.....	43
Resultados.....	44
Discussão.....	50
CAPÍTULO IV: EFEITO DE EXTRATOS AQUOSOS ANIMAIS E EXTRATOS SINTÉTICOS SOBRE O COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, <i>C. undecimalis</i>	54
Introdução.....	54
Material e Métodos.....	56
Resultados.....	57
Discussão.....	61
CONCLUSÕES GERAIS.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXOS.....	75
Anexo 1. Análise estatística dos experimentos do Capítulo I e Capítulo II.....	76
Anexo 2. Análise estatística dos experimentos do Capítulo III	86
Anexo 3. Análise estatística do experimento do Capítulo IV...	95

RESUMO

A preferência alimentar do juvenil de robalo, *Centropomus undecimalis*, face a certas substâncias químicas e extratos aquosos animais, foi estudada através de bioensaios de comportamento alimentar. Foram testados dez aminoácidos, Uridina e Inosina, em forma individual, em misturas e em concentrações diferentes. Os extratos aquosos animais foram preparados com tilápia, *Oreochromis niloticus*; tainha, *Mugil cephalus*; camarão, *Penaeus* sp e lula, *Ilex argentina*. Além desses, foram testadas três misturas artificiais de aminoácidos e também um atrativo comercial (Langobuds). O comportamento alimentar do robalo juvenil, face a substâncias químicas individuais também foi estudado com um e dois peixes por aquário. As substâncias individuais, as misturas e os extratos foram colocados em "pellets" de ágar. A unidade experimental foi um aquário com capacidade aproximada de 120 l, adaptado especialmente para os testes. Os resultados dos tratamentos em cada experimento em particular foram submetidos a uma análise de variância com nível de probabilidade de erro $\alpha \leq 0,05$. As substâncias que atuaram como atrativos alimentares foram: Uridina, Inosina, L-isoleucina, L-leucina, L-prolina, L-glicina e L-arginina, sendo que as três primeiras apresentaram os melhores

resultados, não existindo diferenças significativas entre elas. O número de peixes teve uma influência significativa. As misturas que tiveram o melhor desempenho foram: Uridina + Inosina, L-prolina + L-isoleucina e uma mistura de 10 aminoácidos mais Uridina e Inosina, não existindo diferenças significativas entre elas. Com exceção do extrato de tilápia, significativamente inferior, todos os demais tiveram um efeito similar sobre o comportamento alimentar do robalo.

ABSTRACT

This paper is a research on the feeding behavior of young "robalo", Centropomus undecimalis, when placed under certain types of chemical substances, as well as certain types of aqueous animal extracts. For the study we used feeding behavior bioassays. We tested ten aminoacids, Uridine as well as Inosine, in individual forms, in mixtures and in different concentrations. The aqueous animal extracts were prepared using the following species: Oreochromis niloticus, Mugil platanus, Penaeus sp and Ilex argentina. Besides those, we tested three artificial mixtures that followed a similar composition of aminoacids coming from the three last species, and it was also tested a commercial attractive (Langobuds). The individual substances as well as the mixtures and extracts were placed in pellets made of agar. The feeding behavior of "robalo" when facing individual chemical substances were studied also in aquariums with one and two fish. The unit experimental was an aquarium with a capacity of 120 l specially adapted for the tests. The substances which acted as feeding attractives were: Uridine, Inosine L-isoleucine, L-Leucine, L-proline, L-glycine and L-arginine. The three first ones presented the best results with no significative differences among them. Whereas, the number of fishes had an influence significative on the feeding behavior. The mixtures that presented the best performances were: Uridine + Inosine, L-proline + L-isoleucina, as well as another mixture made of the ten aminoacids along with Uridine and Inosine where no significative differences shown among them. With the exception of the extract of Oreochromis niloticus, which is significantly inferior, the others had similar effects on the feeding behavior of "robalo".

LISTA DE TABELAS

	pág.
I. Respostas alimentares do robalo para diferentes substâncias. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação (4)= degustação e (5)= ingestão.....	25
II. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das médias das respostas alimentares do robalo para diferentes substâncias. Experimento de um peixe por aquário.....	27
III. Respostas alimentares do robalo para diferentes substâncias. Experimento de dois peixes por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação (4)= degustação e (5)= ingestão.....	35
IV. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para as diferentes substâncias testadas. Experimento bifatorial.....	37
V. Respostas alimentares do robalo para sete misturas diferentes, cada uma com concentração molar 0,01. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação (4)= degustação e (5)= ingestão.....	45
VI. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para as diferentes misturas testadas. Experimento de um peixe por aquário.....	47
VII. Respostas alimentares do robalo para uma mistura de aminoácidos em diferentes concentrações molares. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação (4)= degustação e (5)= ingestão.....	48

VIII.	Resultado da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para as diferentes concentrações testadas. Experimento de um peixe por aquário.....	49
IX.	Composição química dos extratos naturais de camarão, lula e tainha segundo Mears et al. (1987), Mackie (1982) e Carr et al. (1977), respectivamente. Os valores originais foram expressos em micromoles por litro.....	57
X.	Respostas alimentares do robalo para quatro extratos naturais e quatro extratos sintéticos. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação, (4)= degustação e (5)= ingestão.....	58
XI.	Resultado da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para diferentes extratos. Experimento de um peixe por aquário.....	60

LISTA DE FIGURAS

	pág.
1. Modelo generalizado mostrando os efeitos de um estímulo químico sobre o comportamento alimentar (Lindstedt, 1971).....	7
2. Esquema do aquário para teste.....	18
3. Respostas alimentares positivas em porcentagem para as diferentes substâncias com um peixe por aquário.....	26
4. Respostas alimentares positivas em porcentagem para diferentes substâncias com um e dois peixes por aquário	36
5. Respostas alimentares positivas em porcentagem para sete misturas testadas com um peixe.....	46
6. Respostas alimentares positivas (%) para uma mistura de dez aminoácidos em diferentes concentrações molares....	49
7. Respostas alimentares positivas em porcentagem para os extratos naturais e sintéticos. Um peixe por aquário...	59

INTRODUÇÃO GERAL

As espécies do gênero Centropomus estão restritas às zonas subtropicais e tropicais da América, sendo que seis espécies habitam no oceano Atlântico e seis no oceano Pacífico. As espécies que ocorrem no Atlântico distribuem-se desde a Carolina do Norte até Porto Alegre (RIVAS, 1986). São peixes que habitam águas marinhas, salobras e doces. No mar, são capturados perto da costa, especialmente em praias arenosas e com maior frequência são pescados em águas interiores de natureza salobra (CHAVEZ, 1963). São considerados estenotermo-termófilos (SHAFLAND e FOOTE, 1983).

Os robalos, especialmente Centropomus parallelus e C. undecimalis, apresentam excelentes perspectivas para o cultivo, tanto de forma extensiva como intensiva. Além disso, estes animais apresentam características extremamente desejáveis para a aquicultura, tais como: gregarismo, o que possibilitaria o cultivo em altas densidades; são espécies eurihalinas; podem se reproduzir através de técnicas artificiais (AGER et al., 1976 e CHAPMAN et al., 1982) e podem aceitar alguns alimentos inertes (TUCKER, 1987 e HIGBY e BEULIG, 1988).

Pesquisas visando o desenvolvimento de tecnologias para o cultivo do robalo no Brasil são bastantes escassas, conhecendo-se apenas alguns trabalhos de policultivo com tainhas a nível semi-intensivo realizados no Nordeste (MAIA et al., 1980 e ROCHA e OKADA, 1980). Também pode-se destacar uma pesquisa de crescimento em ambiente semi-controlado feita por SILVA (1976). PATRONA (1984)

desenvolveu um estudo sobre a biologia de *C. parallelus*, discutindo as possibilidades de seu cultivo. Nos Estados Unidos foram feitos diversos trabalhos, tanto a nível biológico como de cultivo, com a espécie *C. undecimalis* (AGER *et al.*, 1976; CHAPMAN *et al.*, 1982; TUCKER, 1987).

Para que se possa cultivar o robalo em condições intensivas é necessário conhecer os variados aspectos que envolvem sua alimentação em condições de cativeiro. Um dos pontos cruciais é a aceitação pelo peixe de um alimento artificial. Sabe-se entretanto, que o robalo apresenta dificuldades neste aspecto, como todo peixe carnívoro; principalmente quando se trata de alevinos ou juvenis capturados no meio ambiente. Portanto, a busca de alguma forma de incrementar a atração do animal pela dieta artificial é uma meta a perseguir.

X Na maioria das espécies animais, o comportamento alimentar é controlado principalmente por sinais recebidos da fonte alimentar. A alimentação é um processo seletivo onde o animal escolhe um item de uma variada fonte existente no meio ambiente (LINDSTEDT, 1971). Do ponto de vista químico o comportamento alimentar é influenciado por dois fatores independentes: a composição do alimento e a quimio-sensibilidade do animal para tal alimento. Os peixes podem detectar alimentos através de variados mecanismos sensoriais, em particular a visão e o olfato. Numa etapa seguinte a degustação tem uma função importante na ingestão ou rejeição do alimento (ADRON e MACKIE, 1978).

As substâncias presentes na dieta de um animal podem

atuar de três formas: como atrativos alimentares, como indutores de consumo (fazem o animal comer mais do que normalmente poderia), ou como dissuasivos alimentares. A presença destes compostos na dieta determina se um item é ingerido ou rejeitado, e em alguns casos a quantidade consumida.

A identificação de estimulantes alimentares para espécies comercialmente importantes é interessante por numerosas razões. É necessário, por exemplo, entender a variação do comportamento alimentar do peixe em função da idade. Assim podem ser selecionados os atrativos adequados para as dietas dos peixes em diferentes estágios de desenvolvimento. Uma aplicação importante disso seria na adaptação dos alevinos, que consomem alimento vivo, ao alimento inerte.

A presente pesquisa pretende determinar, através de bioensaios de comportamento alimentar, as preferências do juvenil do robalo, *C. undecimalis*, para diferentes compostos tais como: extratos de alguns animais aquáticos (tainha, lula, tilapia e camarão), substâncias químicas individuais (especialmente aminoácidos livres) e um atrativo comercial (Langobuds).

Esta dissertação está dividida em quatro capítulos, que correspondem aos diferentes experimentos realizados. O primeiro capítulo descreve a influência individual de dez aminoácidos, um nucleosídeo e um nucleotídeo sobre o comportamento alimentar do robalo. O segundo capítulo descreve o efeito do número de peixes sobre a resposta alimentar do robalo para as mesmas substâncias testadas no experimento anterior. O terceiro capítulo mede a

resposta alimentar do robalo para variadas misturas de substâncias e para diferentes concentrações. O quarto e último capítulo descreve a resposta alimentar do robalo para quatro extratos naturais de espécies aquáticas e três extratos artificiais preparados segundo as concentrações de aminoácidos livres encontradas em extratos aquosos de lula, camarão e tainha, incluindo também neste experimento um tratamento com um atrativo comercial.

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Segundo LINDSTEDT (1971), ainda nos organismos mais simples, a alimentação é realizada através de uma série de padrões de comportamento. Se bem que estes estejam relacionados e sejam talvez interdependentes, não podem ser considerados só como parte de um conjunto, mas também como fenômenos separados, cada um sob o controle de um grupo particular de condições físicas e químicas.

O padrão de comportamento característico de uma resposta alimentar pode ser generalizado da seguinte forma: o animal orienta-se positivamente com relação à fonte alimentar, isto é, há um movimento ativo do animal para o estímulo. Entretanto, deve ser levado em conta o estado geral do mesmo para que possa ser receptivo ao estímulo. Um pólipó de coral completamente contraído, por exemplo, poderia não receber um estímulo mesmo que este estivesse disponível. A seguir o animal aproxima-se e inicia a alimentação, correspondendo na maioria dos casos à degustação (experimentação). Se a resposta é positiva o animal continuará comendo até que algum mecanismo de gatilho termine o processo.

Beck (1965), citado por LINDSTEDT (1971), utilizou uma classificação para medir o comportamento alimentar de insetos frente a estímulos químicos provenientes de plantas hospedeiras. LINDSTEDT (1971) achou que a terminologia utilizada por Beck poderia ser generalizada. Assim, ele introduziu algumas modificações nas definições para referir-se a todos os animais e não só a insetos.

A maioria das pesquisas desenvolvidas na atualidade no campo do comportamento alimentar estão baseadas na classificação de LINDSTEDT (1971) sobre estímulos alimentares, que se descreve a seguir:

1. **Atrativo:** estímulo a que um animal responde por orientação ou torna-se receptivo para a fonte alimentar. Pode atuar de longa distância.
2. **Imobilizador:** estímulo que faz um animal cessar sua locomoção quando entra em contato com a fonte alimentar.
3. **Repelente:** estímulo que faz o animal afastar-se ou tornar-se não receptivo à fonte alimentar.
4. **Incitante:** estímulo que provoca o início da alimentação (degustação).
5. **Repressor:** estímulo que inibe ou previne o início da alimentação.
6. **Estimulante:** estímulo que promove a ingestão e a continuação da alimentação.
7. **Dissuasivo:** estímulo que inibe a continuação da alimentação ou apressa seu fim.

Na Figura 1 mostra-se um modelo generalizado dos efeitos de um estímulo químico sobre o comportamento alimentar animal.

São denominados ativadores, aquelas substâncias químicas que induzem uma parte de uma resposta alimentar. Desta maneira os alimentos atrativos, imobilizadores, incitantes e estimulantes podem ser chamados de ativadores alimentares. Os alimentos atrativos, imobilizadores e repelentes devem estar em contato com

Para Hodgson (1968), citado por LINDSTEDT (1971), os quimiorreceptores podem ser de dois tipos básicos, especialistas ou generalistas. Os especialistas respondem só para um composto ou para um grupo muito restrito de compostos. Os receptores generalistas respondem para uma ampla variedade de estímulos químicos.

Os peixes podem detectar os alimentos através de três mecanismos sensoriais: a visão, o olfato e a gustação. Se bem que a visão tenha um papel importante na alimentação de algumas espécies de peixes, sobretudo naquelas denominadas consumidores visuais, o consumo de um alimento está regido principalmente pela gustação (MACKIE 1982).

Segundo HARDER (1975), o órgão olfativo dos peixes está composto por terminações sensoriais que respondem a estímulos químicos de quatro tipos: doce, amargo, salgado e ácido. Este órgão consiste em um epitélio e uma membrana mucosa em forma de roseta na qual a água é presa para entrar em contato com as células sensoriais. O epitélio contém células ciliadas de suporte e finas células sensoriais. Estas estão agrupadas em camadas entre as células de suporte. O tamanho da roseta dá uma indicação do desempenho do órgão olfativo. Uma roseta alongada está correlacionada com um bom sentido do olfato. Peixes com este tipo de roseta são designados de "macrosmat", pois o número de pregas da membrana mucosa é maior, embora nem todas as porções desta membrana tenham células sensoriais. As espécies com rosetas arredondadas, "microsmat", geralmente não reagem a todos os estímulos

olfativos, pois a membrana é pobre em pregas, como por exemplo no esturião (Esox sp), citado pelo próprio HARDER (op. cit.).

A gustação é um sentido muito importante e desenvolvido nos peixes. Segundo HARDER (1975) as células de gosto estão agrupadas formando os chamados botões gustativos. Estes são primariamente enervados pelo nervo facial, pelo nervo glossofaringeo e pelo nervo vago. Geralmente nas espécies que não têm barbelas estes órgãos estão concentrados na região periférica e no interior da cavidade bucal, da cavidade branquial e no esôfago. Na carpa (Cyprinus sp) e nos bagres (Silurus sp e Ictalurus sp) os botões gustativos cobrem a superfície total do corpo. Em outras espécies estes órgãos cobrem densamente os raios livres das nadadeiras peitorais. Não se estabeleceu uma relação entre o tipo de alimento e o número de botões, mas é bastante conhecido que nos peixes de águas frias eles são mais numerosos do que nos peixes de águas quentes (HARDER, 1975).

Os peixes podem detectar um alimento à distância não só pelo olfato, mas também em algumas espécies pelo gosto. Isto é possível em função da natureza do estímulo e do meio ambiente. Nos animais com respiração aérea, os ativadores do olfato são necessariamente voláteis, no entanto os ativadores do gosto são solúveis em água, sendo efetivos somente por contato. Em animais aquáticos, de qualquer modo, a volatilidade é irrelevante, e os ativadores do olfato e do paladar podem se difundir através da água. Substâncias atrativas, incitantes e estimulantes podem também estimular os receptores do gosto. Portanto, para distinguir entre

os três, é necessário estudar em detalhe todos os componentes do comportamento alimentar. Em algumas espécies, o atrativo e o estimulante podem ser a mesma substância, ativando os mesmos ou diferentes quimiorreceptores em baixas e altas concentrações, respectivamente (MACKIE, 1982).

Embora os peixes recebam estímulos químicos ao menos por dois canais diferentes de quimiorrecepção, o olfato e a gustação, como acontece nos vertebrados terrestres, a separação entre "substâncias olfativas" e "substâncias gustativas" em peixes não é sempre tão clara como nos animais terrestres. Isto nos causa confusão pelo fato de associarmos soluções aquosas com o gosto e compostos voláteis com o odor (SUZUKI e TUCKER, 1971).

O grau com que os peixes empregam seus variados sentidos (visão, olfato e gustação) na detecção e seleção dos alimentos varia consideravelmente entre as diferentes espécies. O parr do salmão do Atlântico (Salmo salar) por exemplo, pode ser caracterizado como um peixe que usa sinais visuais para a detecção da presa e sinais gustativos como um meio final para a seleção da mesma, após efetuar a captura (SUTTERLIN e SUTTERLIN, 1970).

Uma série de fatores determina que um peixe possa comer ou não uma certa dieta: o seu estado nutricional e de saúde, o seu estágio de desenvolvimento, a qualidade da água e a natureza da dieta. Os fatores relacionados com a dieta tais como textura, consistência, aparência, odor e gosto são também muito importantes. Portanto, em experimentos que tenham o gosto como única variável,

os outros fatores devem ser mantidos em níveis ótimos e constantes (CARR, 1982).

Segundo MACKIE *et al.* (1980), as formas sensoriais externas de detecção dos alimentos, seguida por captura ou rejeição, diferem marcadamente entre predadores de superfície e de fundo. A truta arco-íris, *Salmo gairdneri*, e o linguado, *Scophthalmus maximus*, são primariamente predadores visuais que tentam capturar as partículas de alimento flutuantes ou em movimento, experimentando-as na boca antes de rejeitar alguma que seja inaceitável em termos de textura e gosto. O linguado *Solea solea*, à diferença de outros linguados, é um predador noturno não visual. Embora seja evidente que este peixe detecte seu alimento por meio de quimiorrecepção, fica a dúvida de qual sentido, o olfato ou a gustação é o mais importante (MACKIE, 1982). Parece provável que a diferença entre predadores de superfície e de fundo é uma especialização adaptativa com respeito à localização anatômica e à especificidade das células sensoriais envolvidas no processo.

A informação acerca da concentração mínima necessária para induzir uma resposta num animal pode ajudar na compreensão dos mecanismos de tradução sensorial do sistema olfativo. Tal conhecimento pode ser usado para predizer como os fatores externos influenciam o olfato dos animais. O conhecimento dos limiares de odor em peixes pode ser considerado como a base para uma avaliação correta de que mudanças no meio ambiente aquático atuariam sobre o comportamento alimentar destes animais (BELGHAUG e DOVING, 1977).

Os estimulantes alimentares para peixes que derivam de

tecidos animais têm as seguintes propriedades gerais: baixo peso molecular (menos de 1000), não voláteis, nitrogenados e anfotéros (CARR, 1982). Estas características se aplicam a compostos estimuladores como a betaina, os L-aminoácidos e a inosina, os quais foram identificados em estudos experimentais de comportamento alimentar (HIDAKA et al., 1978; MACKIE et al., 1980; MACKIE, 1982).

Numerosos estudos de HARA (1973, 1976 e 1977) comprovaram que existe uma estreita relação entre a estrutura molecular do aminoácido e sua efetividade para estimular os peixes, chegando a determinar as seguintes características estruturais para os aminoácidos que provocam resposta olfativa: (1) são essenciais os grupos α -amino e α -carboxílico carregados ionicamente; (2) o hidrôgenio alfa deve ser livre; (3) o hidrogênio beta deve, preferivelmente, ser livre; (4) o tamanho e a natureza polar da cadeia é importante, pois moléculas com mais de seis átomos de carbono têm menor efetividade, enquanto que os aminoácidos aromáticos são fracos estimuladores; (5) a presença de um grupo carboxílico terminal reduz a efetividade; (6) os L-aminoácidos são quase sempre mais estimuladores que seus D-isômeros. Desta forma os aminoácidos que induzem uma resposta olfativa podem ser caracterizados como de cadeias curtas, simples e diretas, com apenas alguns grupos ligados. HARA (1976 e 1977) propôs também um hipotético local receptor na membrana celular que envolve dois centros de carga, um aniônico e um catiônico, capaz de interagir com os grupos ionizados dos aminoácidos estimuladores.

SHPARKOVSKIY et al. (1983) determinaram através de

métodos eletrofisiológicos que os peixes podem distinguir soluções de aminoácidos em concentrações de 10^{-2} a 10^{-9} M, e que os limiares de percepção destas substâncias são menores no salmão do que nos peixes marinhos. MEARNS (1985) percebeu que a resposta do salmão do Atlântico pode mudar sensivelmente com a idade; ele é, por exemplo, sensível à L-alanina antes mesmo de começar a se alimentar até o estado de "parr". O mesmo autor também descreveu que a experiência alimentar do peixe influenciou a resposta para alguns dos aminoácidos testados, embora não saiba se os fatores idade e experiência são independentes ou não.

JOHNSEN e ADAMS (1986) trabalhando com Tilapia zillii, descobriram que os L-aminoácidos isoladamente podem atuar como estimulantes alimentares. Os que tiveram maior capacidade estimuladora foram: ácido glutâmico, ácido aspártico, serina, lisina e alanina. Em contraste com esses resultados, KONOSU et al. (1968) e ADRON e MACKIE (1978), trabalhando com peixes carnívoros encontraram que as misturas de L-aminoácidos foram altamente estimulantes, enquanto que individualmente apresentaram uma baixa eficiência.

Os aminoácidos que atuaram como estimulantes alimentares no pargo japonês, Chrysophrys major, foram a alanina, a betaína, a glicina e a valina (INA e MATSUI, 1980). O linguado, Solea solea, foi estimulado pela betaína, a glicina e a alanina (MACKIE et al., 1980), enquanto que para outro linguado, Eleuonectes platessa, a taurina, a prolina, a glicina, a alanina e a arginina foram estimulantes (MACKIE, 1982). O "puffer", Fugu pardalis, foi

estimulado pela betaína, a glicina, a prolina, e a serina (HIDAKA *et al.*, 1978). MACKIE (1982), examinando a composição de aminoácidos da lula, encontrou que esta possui a maioria dos aminoácidos que têm efeitos estimulantes nas quatro espécies carnívoras citadas anteriormente. Em ordem de abundância eles são: a prolina, a betaína, a glicina, a taurina, a alanina e a arginina.

HAYNES *et al.* (1967) encontrou que dez extratos de invertebrados marinhos selecionados de cinco filos, provocaram Comportamento Alimentar Exploratório (C.A.E.) em várias espécies de peixes do Mar do Caribe. As análises químicas indicaram que as substâncias que provocaram o C.A.E. são de natureza similar em todas as espécies testadas e provavelmente a maioria seja aminoácidos. CARR (1976), CARR e CHANEY (1976) e CARR *et al.* (1977), trabalhando com Orthopristis chrysopterus e Laodon rhomboides, identificaram as substâncias que provocaram C. A. E. em extratos de camarão, carangueio, ostra, ouriço e tainha. As propriedades destas substâncias correspondem às dos aminoácidos e da betaína. Análises quantitativas dessas substâncias permitiram formular misturas sintéticas baseadas na composição dos cinco extratos. Estas misturas puderam explicar quase que totalmente a capacidade estimuladora dos extratos de carangueio, camarão, ostra e tainha, mas só em parte no que se refere ao extrato de ouriço.

Os estudos de comportamento alimentar com substâncias químicas consistem em incorporar a substância a testar a "pellets" de ágar, amido ou numa dieta não palatável (MACKIE, 1982; MEARNS, 1985; ADAMS e JOHNSEN, 1986). O grau de aceitabilidade por parte do

peixe é registrado visualmente de acordo com uma escala (LINDSTEDT, 1971) que estabelece os padrões de comportamento já descritos nesta revisão. Um estudo de PAWSON (1977) com pescada e bacalhau, pesquisando atrativos químicos em extratos de minhoca (Arenicola sp), registrou visualmente os seguintes padrões de comportamento: reconhecimento, recuo, procura (transitória ou persistente) e captura.

Para CARR (1982), nos estudos de comportamento alimentar com estimulantes químicos são aconselháveis os bioensaios quantitativos. Assim, é possível comparar diretamente a capacidade estimuladora de um extrato inteiro com a de um extrato fracionado ou com uma preparação sintética. Um dos tipos de medida quantitativa consiste em registrar o número de vezes que o peixe bate num bulbo de borracha por onde entra na água a substância testada (CARR et al., 1976).

A eficácia dos estimulantes alimentares, isoladamente ou em extratos de animais inteiros, é medida de diversas formas: porcentagem de "pellets" ingeridos, relação dose-resposta para diferentes substâncias ou porcentagem de respostas positivas que consideram o deslocamento do peixe para o alimento (MEARNS, 1985; JOHNSEN e ADAMS, 1986; LOVSHIN e RUSHING, 1989).

Além dos experimentos de comportamento propriamente ditos, onde se observa o padrão de alimentação face a um estímulo químico, outros tipos de pesquisas são desenvolvidas para medir o comportamento alimentar em animais. São exemplos os estudos eletrofisiológicos. No caso dos peixes, as ramificações do nervo

facial que enervam a região da narina, sobre a mandíbula superior, são expostas por remoção do globo ocular. Os nervos são conectados a eletrodos que por sua vez se ligam a um registrador que monitora a atividade da fibra nervosa exposta a diferentes estímulos químicos. Também pode-se registrar a atividade de outros nervos, como o palatino que enerva a região da boca. Durante o experimento o peixe é submetido à uma perfusão através da boca com água bem oxigenada (SUTTERLIN e SUTTERLIN, 1970).

Para MACKIE (1982) os métodos eletrofisiológicos são de pequeno valor uma vez que o estimulante alimentar tenha sido caracterizado. Os animais freqüentemente são tratados como máquinas ou caixas pretas utilizando-se de condições técnicas sofisticadas. Segundo o mesmo autor, os ensaios ideais para o estudo de estimulantes alimentares consistem em determinar se o peixe come uma dieta teste bem definida. Depois, omitindo componentes desta dieta, determina-se os que atuaram positivamente. Outro tipo de ensaio consiste na adição de possíveis estimulantes numa dieta que normalmente não é aceita pelo peixe.

MATERIAL E MÉTODOS GERAIS

Captura e confinamento dos peixes

Alevinos de robalo *C. undecimalis*, com comprimento padrão médio de 7,2 cm e peso médio de 5,5 g, capturados com tarrafa no mangue do Itacorubi em Florianópolis, foram levados para tanques de acondicionamento de 2.500 l com aeração constante, troca de água (50 %) uma vez por dia, e com um fotoperíodo aproximado de 10:14 (claro:escuro). Os animais foram alimentados com carne de peixe e camarão (fresca ou congelada) uma vez por dia às 16:00 h.

Aquários para os testes

Foram utilizados quatro aquários retangulares de amianto, com volume útil de 120 l, dispostos um ao lado do outro. A Figura 2 retrata um dos aquários usados. Cada um possui em sua parte frontal um vidro transparente de 35 x 20 cm (a), por onde foi observado o comportamento dos peixes. A iluminação foi indireta e feita por duas lâmpadas de 100 w (luz branca). O fotoperíodo, durante os experimentos, foi mantido em 10:14 por um controlador de tempo. A temperatura da água foi mantida em 24 ± 1 °C com aquecedores de 100 w e um termostato.

Com o intuito de não perturbar os peixes, o alimento foi introduzido na água através de um dispositivo especial que se descreve a seguir. Cada aquário tinha próximo à sua borda externa um suporte de arame (b) onde ficava um funil (c), o qual por sua vez estava conectado a uma mangueira transparente (d) que penetrava 5 cm na água.

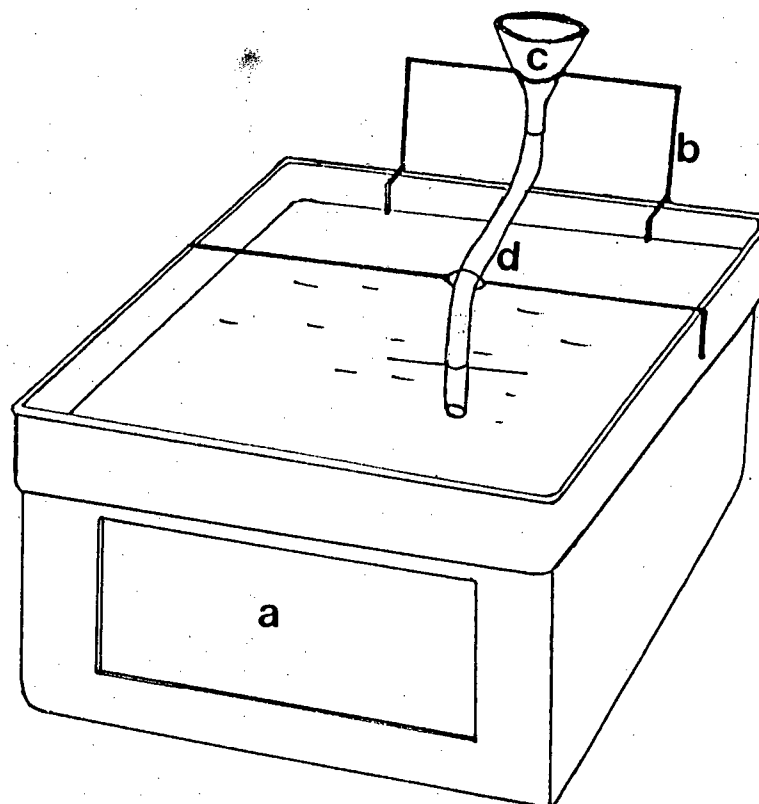


FIGURA 2. Esquema do aquário para teste.
a: vidro transparente b: suporte de arame
c: funil de plástico d: mangueira transparente.

Condições para os Bioensaios

Os peixes foram colocados nos aquários três a quatro dias antes dos experimentos para adaptação. Durante este período foram alimentados com carne de peixe ou camarão uma vez por dia, às 16:00 h. Foram considerados adaptados os peixes que se alimentaram normalmente e que não apresentaram um comportamento agitado.

Procedimentos experimentais

Os testes foram realizados entre as 15:00 e 17:00 h. No momento de distribuir o alimento os "pellets" foram colocados dentro de um becker com 25 ml de água do mar com temperatura similar à do aquário, e o conteúdo derramado pelo funil.

Cada atrativo foi experimentado diariamente. Para cada peixe foram oferecidos, em uma única vez, 6 a 8 "pellets" afim de aumentar as chances de que ao menos um fosse alcançado antes de repousar no fundo. Para poder padronizar o número de observações, só o primeiro "pellet" que produziu resposta foi registrado. Depois de cada experimento diário os peixes eram alimentados. No dia seguinte pela manhã os aquários eram sifonados.

Substâncias testadas

Foram selecionadas as seguintes: L-Alanina, L-Leucina, ácido L-Glutâmico, L-Glicina, L-Prolina, L-Isoleucina, L-Histidina, L-Serina, L-Lisina, L-Arginina, Inosina 5 trifosfato e Uridina (reativos do Laboratorio Sigma). Também foram testados quatro extratos aquosos das seguintes espécies: camarão marinho (Penaeus sp.), lula (Ilex argentina), tainha (Mugil platanius) e tilápia (Oreochromis niloticus). Finalmente, foi testado um extrato aquoso de um atrativo fabricado comercialmente para adicionar em rações de camarão (Langobuds, Quali-Tech Nutrimentos Ltda).

Preparação do "pellet" de ágar

Foram preparadas matrizes de ágar com diferentes

extratos aquosos com as soluções de aminoácidos e com as soluções de Uridina e Inosina. Seguindo a metodologia de MEARNS *et al.* (1987), as matrizes tinham uma concentração de 3% (3 g de ágar purificado em 100 ml de solução). Esta mistura era levada à ebulição, sendo logo depositada em placas de petri e levada ao refrigerador. Posteriormente foram cortados pedaços uniformes ("pellets") de tamanho adequado à boca do peixe.

Registro das observações

Seguindo a metodologia de STRADMEYER (1989) as respostas alimentares observadas foram classificadas em cinco notas, cujo significado é o seguinte:

- (1) Sem reação: o peixe continua na mesma atitude de antes do estímulo.
- (2) Orientação: movimento rápido da cabeça em direção ao "pellet", entretanto, sem deslocamento em direção ao mesmo.
- (3) Aproximação: o peixe se orienta e se move em direção ao "pellet", mas não o captura.
- (4) Captura-rejeição (degustação): o peixe se orienta, se move e captura o "pellet", mas o rejeita.
- (5) Captura-ingestão: o peixe se orienta, se move e captura o "pellet", e posteriormente o ingere.

Análise estatística

Foi adotado para todos os experimentos um delineamento, inteiramente casualizado com quatro repetições para cada tratamento. Aplicou-se uma análise de variância (SOKAL e ROHLF, 1979), com nível de probabilidade de erro $\alpha \leq 0,05$, para detectar diferenças entre as respostas alimentares médias (soma dos valores absolutos de cada resposta, 1 a 5, dividido pelo número de observações) dos diferentes tratamentos. Após elas foram comparadas pelo teste de Duncan (DAGNELIE, 1975), mantendo-se o mesmo nível de significância do teste anterior.

CAPÍTULO I

COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, *C. undecimalis*, FACE A DIVERSAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS.

INTRODUÇÃO

É bem conhecido que os L-aminoácidos e outras substâncias tais como nucleótidos e betaina são bons estimulantes do olfato e do gosto em peixes (HIDAKA *et al.*, 1977; GOH *et al.*, 1979; MACKIE e ADRON, 1978; JOHNSEN e ADAMS, 1986 e MEARNS *et al.*, 1987).

Em peixes de água doce existem muitas evidências eletrofisiológicas da alta sensibilidade olfativa e gustativa para certos aminoácidos (SUSUKI e TUCKER 1971; HARA, 1976, 1977). Usando tais técnicas foi mostrado que para a detecção de aminoácidos, o sistema olfativo do salmão, *Salmo salar*, é mais sensível que seu sistema gustativo (SUTTERLIN e SUTTERLIN 1970, 1971). No entanto, CAPRIO (1975) demonstrou que para o bagre *Ictalurus punctatus*, a efetividade relativa dos L-aminoácidos é diferente para o olfato e a gustação. Ele encontrou que o mais efetivo estímulo olfativo foi com L-alanina, entretanto a L-cisteína provocou o maior estímulo gustativo.

Poucos estudos eletrofisiológicos de respostas para aminoácidos foram realizados com peixes marinhos. O registro das atividades olfativas ou gustativas em peixes marinhos apresenta problemas devido à interferência dos sinais elétricos causada pela

forte condutividade da água do mar (SILVER et al., 1976).

Estudos importantes foram realizados usando bioensaios de comportamento na identificação de estimulantes alimentares em peixes marinhos (PAWSON, 1977; MACKIE e ADRON, 1978; JOHNSTONE, 1980; CARR, 1982). A vantagem das técnicas comportamentais é que elas dependem somente da resposta do peixe, e por meio de boas condições técnicas um peixe pode ser treinado para dar inequívocas respostas para estímulos particulares (JOHNSTONE, 1980).

O presente experimento pretende determinar a sensibilidade do robalo para várias substâncias, não buscando entretanto demonstrar qual sentido pode ser o responsável pela detecção.

MATERIAL E MÉTODOS

* Foram preparadas com água do mar soluções 0,01 M com doze substâncias: L-alanina, L-leucina, ácido L-glutâmico, L-glicina, L-prolina, L-isoleucina, L-histidina, L-serina, L-lisina, L-arginina, Inosina 5 trifosfato e Uridina. Com estas soluções foram preparadas as matrizes de ágar para obter os "pellets" para os testes. Foi também preparada uma matriz de ágar puro para obter "pellets" para um tratamento testemunha.

Foi colocado um peixe em cada aquário, realizando-se um total de 32 provas para cada atrativo, ou seja oito por aquário. Cada unidade experimental (aquário) compreendeu a média de oito observações realizadas em cada peixe. ✓

RESULTADOS

Algumas observações não registradas quantitativamente neste trabalho mas importantes em termos de comportamento alimentar do robalo são descritas a seguir. Os peixes que se encontravam em estado de repouso e que reagiram a uma determinada substância com uma resposta tipo (3) ou (4), permaneceram em constante agitação, isto é, nadando de um lado para o outro do aquário e aproximando-se constantemente dos "pellets" que ficaram no fundo. Em algumas oportunidades eles nadavam abrindo completamente a boca e os opérculos, ou numa reação violenta davam uma espécie de pulo na água, como que tentando capturar algum alimento. Outro tipo de comportamento freqüente foi quando os peixes sentiam a presença da substância e nadavam em direção ao vidro do aquário, onde se refletia sua própria figura, e começavam a dar constantes batidas tentando morder seu reflexo. Todas estas observações foram mais freqüentes para os "pellets" com L-leucina, L-glicina, L-prolina, L-isoleucina, L-arginina, Uridina e Inosina.

Na Tabela I mostra-se as respostas alimentares observadas nos 13 tratamentos. Pode-se ver que para a maioria dos tratamentos as mais altas porcentagens agrupam-se na resposta de orientação (2). No entanto para L-histidina, L-serina, L-lisina e a testemunha (ágar) mais de 50% das respostas foram do tipo (1), sem reação. Respostas do tipo (4), de degustação, só foram observadas para Uridina e Inosina, com 9,3 % e 3,1 % do total,

Tabela I. Respostas alimentares do robalo para diferentes substâncias. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação, (4)= degustação e (5)= ingestão.

SUBSTANCIAS	RESPOSTAS ALIMENTARES									
	(1)		(2)		(3)		(4)		(5)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
L-alanina	12	37,5	16	50,0	4	12,5	-	-	-	-
L-leucina	3	9,3	22	68,8	7	21,9	-	-	-	-
Ac.L-glutâmico	12	37,5	16	50,0	4	12,5	-	-	-	-
L-glicina	8	25,0	16	50,0	8	25,0	-	-	-	-
L-prolina	14	43,7	12	37,5	6	18,8	-	-	-	-
L-isoleucina	1	3,1	21	65,6	10	31,3	-	-	-	-
L-histidina	18	56,3	13	40,6	1	3,1	-	-	-	-
L-serina	18	56,3	11	34,4	3	9,4	-	-	-	-
L-lisina	18	56,3	11	34,4	3	9,4	-	-	-	-
L-arginina	6	18,7	20	62,5	6	18,8	-	-	-	-
Uridina	2	6,3	12	37,5	15	46,9	3	9,3	-	-
Inosina	6	18,8	16	50,0	9	28,1	1	3,1	-	-
Ágar	19	59,4	10	31,3	3	9,3	-	-	-	-

respectivamente.

Para uma melhor compreensão dos dados as respostas foram agrupadas em positivas e negativas, sendo as negativas a soma das respostas (1) e (2) e as positivas a soma das respostas (3), (4) e (5). Na Figura 3 foram representadas as respostas positivas dos robalos para os 13 tratamentos. Pode-se observar certas tendências de preferência para as diferentes substâncias testadas. Num

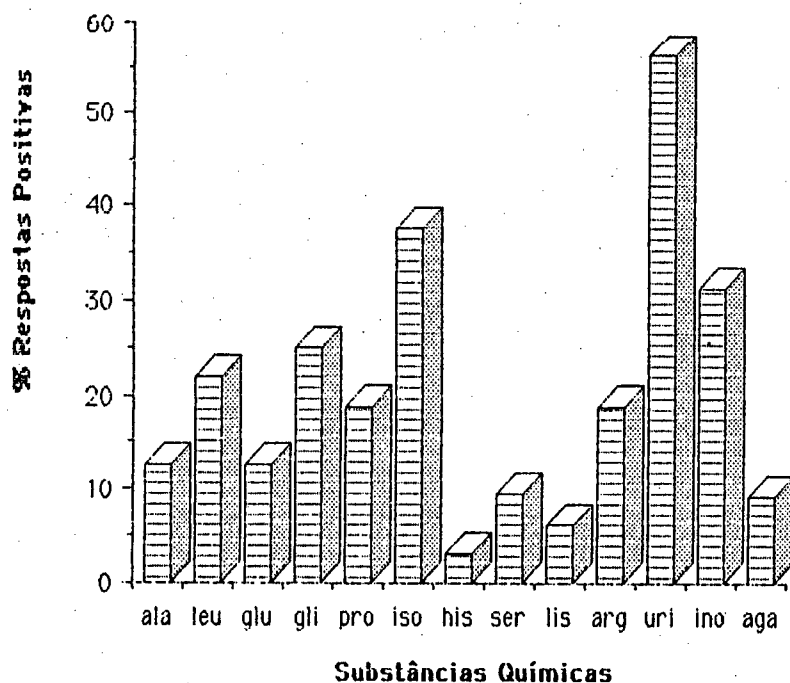


FIG. 3. Respostas alimentares positivas em porcentagem para as diferentes substâncias com um peixe por aquário.

primeiro grupo, com percentuais não superando 10 % das respostas positivas, estão junto ao tratamento testemunha: L-histidina, L-serina, e L-lisina. Num segundo grupo, com valores entre 10 e 20 %, estão: L-alanina, ácido L-glutâmico, L-prolina e L-arginina. Num último grupo, com valores acima de 21 % estão as seguintes substâncias em ordem crescente: L-leucina, L-glicina, Inosina, L-isoleucina e Uridina. Estas duas últimas com 37,5 e 56,3 % de respostas positivas, respectivamente.

O tratamento estatístico dos dados, com análise de variância, revelou diferenças significativas entre as médias

TABELA II. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das médias das respostas alimentares do robalo para diferentes substâncias. Experimento de um peixe por aquário.

TRATAMENTOS	N	MÉDIAS	GRUPOS DUNCAN *			
Uridina	4	2,549	a			
L-isoleucina	4	2,281	a	b		
Inosina	4	2,156	a	b		
L-leucina	4	2,125	a	b	c	
L-glicina	4	2,000		b	c	d
L-arginina	4	2,000		b	c	d
L-alanina	4	1,750		b	c	d
L-prolina	4	1,750		b	c	d
Ac. L-glutâmico	4	1,750		b	c	d
L-lisina	4	1,531			c	d
L-serina	4	1,531			c	d
Agar	4	1,500				d
L-histidina	4	1,469				d

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes.

das respostas alimentares.

Na comparação de médias mediante o teste de Duncan (Tabela II), pode-se observar que Uridina, L-isoleucina, Inosina e L-leucina foram os melhores tratamentos, não havendo diferenças significativas entre os mesmos. Tomando como referência a testemunha (ágar), as respostas alimentares médias das demais substâncias foram similares.

DISCUSSÃO

O principal objetivo deste experimento foi identificar quais das substâncias testadas estimulavam o comportamento alimentar. De acordo com a classificação de LINDSTEDT (1971), parece que as substâncias testadas com C. undecimalis atuaram fundamentalmente como atrativos, isto é, os peixes responderam orientando-se para a fonte alimentar. Este fato se justifica porque o robalo pode ser classificado como um consumidor visual, porque ele reage dirigindo a visão para qualquer partícula que entra na água. Por esta razão observa-se altos percentuais de respostas tipo (2) (Tabela I). Outros peixes, tais como Salmo gairdneri (ADRON e MACKIE, 1978) e Scophthalmus maximus (MACKIE e ADRON, 1978), também são primariamente consumidores visuais. Estes peixes tentam capturar qualquer partícula em movimento na água, que, uma vez na boca, é ingerida ou rejeitada em função do gosto e da textura. Apesar de que o robalo reaja visualmente a qualquer partícula que entre na água, é provável que ele só se aproximará se for estimulado quimicamente por ela. Isto se comprovou através das maiores porcentagem de respostas do tipo (3), (4) para as diferentes substâncias testadas (Tabela I).

O comportamento de consumidor visual do robalo também justificou a separação das respostas em positivas (aproximação, degustação e ingestão) e negativas (sem reação e orientação). Deste modo, a soma das respostas positivas mostrou um padrão de preferências mais claro para as diversas substâncias (Fig. 3). Entretanto, na análise estatística foram usadas todas as respostas.

Do ponto de vista estrutural, os aminoácidos podem ser classificados em três grupos: não polares, polares sem carga e polares com carga (LEHNINGER, 1979). Dos aminoácidos não polares utilizados, só L-isoleucina e L-leucina estimularam o robalo, com mais de 20 % de respostas positivas. HARA (1976), trabalhando com Salmo gairdneri, encontrou que todos os aminoácidos não polares e polares sem carga, provocavam um alto estímulo alimentar nesta espécie. Dos aminoácidos polares sem carga testados com o robalo, apenas L-glicina apresentou respostas positivas similares aos não polares (Fig. 3), no entanto, no cômputo geral, não diferiram significativamente do ágar (Tabela II).

Os aminoácidos polares com carga (ac. L-glutâmico, L-histidina, L-lisina e L-arginina) não provocaram estímulos alimentares importantes nos robalos, todos abaixo de 20 % de respostas positivas (Fig. 3). Computando-se todas as respostas, estes aminoácidos também não foram significativamente diferentes do tratamento com ágar (Tabela II). Estes resultados estão de acordo com os de HARA (1976, 1977) para truta arco-íris, Salmo gairdneri, que foi pouco estimulada por aminoácidos polares aniônicos ou catiônicos.

O robalo reagiu com orientação, com um considerável número de respostas a todas as substâncias testadas. No entanto, ele demonstrou algumas preferências. Isto pode ser comprovado observando as porcentagens de respostas positivas (Fig. 3). Também comparando as respostas médias de cada tratamento (Tabela II), pode-se concluir que os robalos foram mais sensíveis para as

seguintes substâncias: Uridina, L-isoleucina, Inosina e L-leucina. As restantes não foram significativamente diferentes do ágar puro. SANTOS (1983) trabalhando com *Penaeus paulensis* encontrou que a L-isoleucina, foi o único aminoácido que provocou uma resposta alimentar nessa espécie. Curiosamente este foi o aminoácido que provocou o maior número de respostas alimentares positivas no robalo.

A concentração (0,01 M) utilizada nos "pellets" não pode ser considerada baixa a ponto de justificar as pequenas porcentagens de respostas positivas em geral. Segundo SHPARKOVSKIY et al (1983) os peixes podem distinguir soluções de aminoácidos até concentrações de 10^{-9} M, embora os limiares de percepção sejam menores no salmão "parr" do que em peixes marinhos.

Os peixes marinhos parecem ser mais estimulados por misturas de aminoácidos (HASHIMOTO et al., 1968; KONOSU et al., 1968 e ADRON e MACKIE, 1978) do que por substâncias individuais. Respostas do tipo ingestão parecem estar mais relacionadas com o sinergismo existente entre os componentes de uma mistura do que com a concentração dos componentes individuais.

Apesar do robalo ter sido estimulado por algumas substâncias, o sentido utilizado neste caso dificilmente poderia ser reconhecido neste experimento. No entanto, é possível que o uso de substâncias individuais pudesse apenas estimular os quimiorreceptores do olfato. Este fato poderia explicar a quase ausência de respostas com captura do "pellet".

Para diversos peixes marinhos, tais como: Chrysophrys maior (INA e MATSUI, 1980), Solea solea (MACKIE et al. 1980) e Pleuronectes platessa (Mackie, 1982), a L-alanina e a L-glicina são aminoácidos considerados altamente estimulantes, o que não pode ser comprovado com o robalo.

Em estudos posteriores de comportamento alimentar com C. undecimalis devem ser testadas outras substâncias tais como a betaina, a Inosina 5-monofosfato e outros aminoácidos, para determinar se esta espécie mostra um comportamento similar ao já observado neste experimento. A betaina por exemplo é conhecida como um excelente estimulante alimentar em outros peixes marinhos (MACKIE, 1982 e CARR, 1982).

CAPÍTULO II

EFEITO DO NÚMERO DE PEIXES SOBRE O COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, *C. undecimalis*, ESTIMULADO POR DIVERSAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

INTRODUÇÃO

MACKIE e MITCHELL (1985) afirmaram que o comportamento alimentar dos peixes é influenciado pelo seguintes fatores relativos ao alimento: aparência, odor, textura e gosto. Junto a estas importantes características, o comportamento alimentar também está influenciado pela forma particular de alimentação do peixe em questão, se é predominantemente um consumidor visual, tal como a truta arco-íris (ADRON e MACKIE, 1978) ou um predador quimiosensorial, tal como o linguado, *Solea solea* (MACKIE, 1982).

Os inúmeros estudos que buscam determinar as substâncias quimioatrativas ou quimioestimulantes em peixes tentam manter constantes todos os fatores que influenciam o comportamento alimentar, de forma tal a identificar inequivocamente quais substâncias ou misturas das mesmas estimulam a alimentação (JOHNSTONE, 1980; CARR, 1982; MACKIE, 1982).

De acordo com as metodologias descritas na literatura (HASHIMOTO *et al.*, 1968; KONOSU *et al.*, 1968; MEARN, 1987 e STRADMEYER, 1989) a identificação de tais compostos nos estudos de comportamento é realizada, na maioria das vezes, medindo-se qualitativamente as respostas alimentares de peixes isolados em

aquários de teste. Somente os trabalhos de CARR (1976), CARR e CHANEY (1976), CARR et al. (1976) e CARR et al. (1977), usaram grupos de 6 a 20 peixes por aquário, nos quais registraou-se elétrica e quantitativamente o número de vezes que os peixes batiam num bulbo de borracha por onde entrava na água a substância testada. Nestes estudos não se discutiu se o número de peixes influenciou as respostas registradas.

Considerando que existam diferenças individuais nos peixes em termos de quimiosensibilidade para uma mesma substância, é possível que peixes que identificarão primeiro uma substância e os demais, através de um comportamento social imitativo, encontrarão facilmente a fonte alimentar. Portanto, substâncias testadas com peixes isolados poderiam não estimular as mesmas respostas com peixes em grupos.

O objetivo do presente experimento é determinar se o número de peixes poderia influenciar as respostas alimentares para diversas substâncias químicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testadas as mesmas doze substâncias usadas no experimento do capítulo anterior. Também foram usados "pellets" sem atrativos como testemunha.

Em cada um dos quatro aquários foram colocados dois peixes, com um total de 32 provas para cada atrativo e oito por aquário. Cada unidade experimental compreendeu a média das 16

observações realizadas nos peixes (oito observações por peixe).

Para testar o efeito do número de peixes sobre a resposta alimentar foi feito uma análise de variância bifatorial, onde um fator foi o número de peixes e o outro os atrativos. Os resultados do experimento descrito no Capítulo I (com um peixe por aquário) foram utilizados na análise.

RESULTADOS

Os mesmos comportamentos descritos mas não quantificados no experimento com um peixe, foram também observados no experimento com dois peixes. Além disso, observou-se uma constante agressão de um dos peixes sobre o outro, quando percebiam a presença da substância na água. Esta agressão consistia numa perseguição com tentativas de morder o oponente. Estes comportamentos foram mais freqüente com aquelas substâncias que provocaram as maiores respostas positivas. Os peixes que capturaram algum "pellet" mantinham-no na boca como que mastigando, para logo rejeitá-lo.

A Tabela III mostra as diferentes respostas alimentares observadas para as substâncias testadas com dois peixes. Pode-se observar uma pequena diminuição, para alguns dos aminoácidos, das respostas do tipo (1), com respeito ao experimento de um peixe por aquário (Tabela I). Apenas no caso de L-leucina, L-prolina, L-isoleucina e L-arginina ocorreu o contrário, e somente a L-histidina teve mais de 50 % destas respostas. Por outro lado,

apenas 3,1 e 9,4 % das respostas para Uridina e Inosina, respectivamente, foram do tipo (1). Para nenhum tratamento houve resposta tipo (5), ingestão. Somente 1,6 % dos peixes degustaram os "pellets" com L-leucina, L-prolina, L-isoleucina e Inosina.

TABELA III. Respostas alimentares do robalo para diferentes substâncias. Experimento de dois peixes por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação, (4)= degustação e (5)= ingestão.

RESPOSTAS ALIMENTARES										
SUBSTANCIAS	(1)		(2)		(3)		(4)		(5)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
L-alanina	22	34,3	38	59,4	4	6,3	-	-	-	-
L-leucina	10	15,6	40	62,5	13	20,3	1	1,6	-	-
Ac.L-glutâmico	22	34,4	28	43,8	14	21,9	-	-	-	-
L-glicina	14	21,9	29	45,3	21	32,8	-	-	-	-
L-prolina	28	43,8	11	17,1	24	37,5	1	1,6	-	-
L-isoleucina	12	18,7	16	25,0	35	54,7	1	1,6	-	-
L-histidina	35	54,7	28	43,7	1	1,6	-	-	-	-
L-serina	30	46,9	30	46,8	4	6,3	-	-	-	-
L-lisina	31	48,4	27	42,3	6	9,3	-	-	-	-
L-arginina	18	28,1	27	42,2	19	29,7	-	-	-	-
Uridina	2	3,1	22	34,4	40	62,5	-	-	-	-
Inosina	6	9,4	36	56,2	21	32,8	1	1,6	-	-
Agar	28	43,8	34	53,1	2	3,1	-	-	-	-

A Figura 4 mostra a soma das porcentagens de respostas (3), (4) e (5), consideradas como respostas positivas, nos experimentos com um e dois peixes por aquário. Observa-se claramente, na

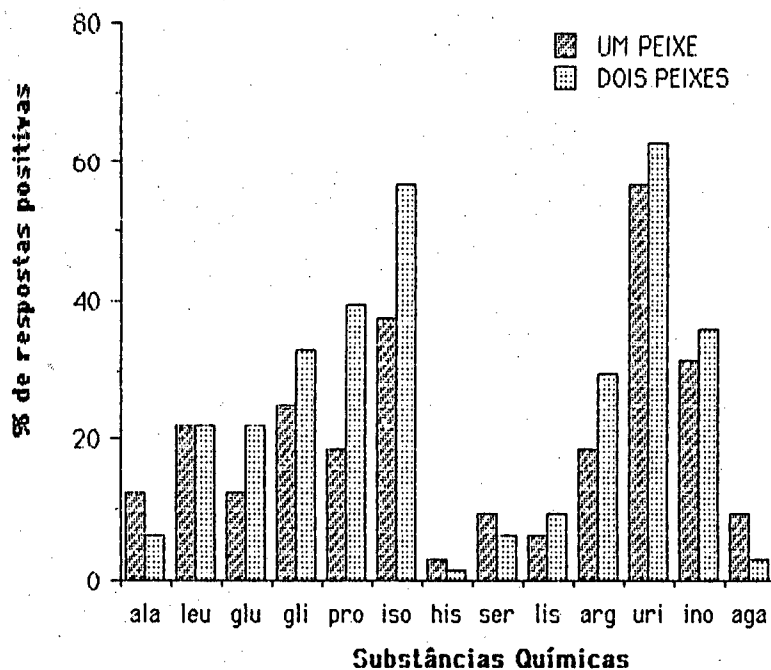


Fig. 4 Respostas alimentares positivas, em porcentagem, para diferentes substâncias com um e dois peixes por aquário.

maioria dos tratamentos, que o experimento com dois peixes teve um aumento das respostas positivas. Somente nos tratamentos L-alanina, L-histidina, L-serina e testemunha ocorreu o inverso.

Quando comparada estatisticamente, mediante análise de variância, a influência do número de peixes sobre a resposta alimentar do robalo, se encontrou diferenças significativas. Entretanto as substâncias tiveram um efeito altamente significativo sobre a resposta alimentar. A interação entre o número de peixes e as substâncias não foi significativa.

A comparação das respostas alimentares médias, mediante o teste de Duncan, no modelo de dois fatores (nº de peixes e substâncias) está resumida na Tabela IV. As substâncias que provocaram os maiores estímulos, em ordem decrescente, foram: Uridina, L-isoleucina, Inosina, L-glicina, L-leucina, L-arginina e L-prolina. Todas as respostas alimentares para estas substâncias foram significativamente diferentes da testemunha (ágar). O contrário ocorreu com ácido L-glutâmico, L-alanina, L-lisina, L-serina, e L-histidina.

TABELA IV. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para as diferentes substâncias. Experimento bifatorial.

TRATAMENTOS	N	MÉDIAS	GRUPOS DUNCAN *			
Uridina	8	2,593	a			
L-isoleucina	8	2,390	a	b		
Inosina	8	2,265	a	b	c	
L-Glicina	8	2,109		b	c	d
L-leucina	8	2,078		b	c	d e
L-arginina	8	2,015			c	d e
L-prolina	8	1,968			c	d e
Ac.L-glutâmico	8	1,875				d e f
L-alanina	8	1,718				e f g
L-lisina	8	1,609				f g
Ágar	8	1,593				f g
L-serina	8	1,593				f g
L-histidina	8	1,468				g

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes.

DISCUSSÃO

O presente experimento confirmou a hipótese de que o número de peixes pode influenciar a resposta alimentar do robalo com as substâncias que foram testadas. CARR e CHANEY (1976) e CARR *et al.* (1976, 1977), trabalhando com *Lagodon rhomboides* e *Orthopristis chrysopterus*, utilizaram em seus experimentos de comportamento alimentar grupos de seis a vinte peixes. Estes autores não questionaram se o número de peixes teve uma influência significativa.

As substâncias testadas com dois peixes por aquário provocaram no robalo um padrão de respostas similar, em termos de preferência, ao que foi observado com um peixe por aquário. Entretanto, no primeiro caso houve um maior número de substâncias (o dobro) que se diferenciou significativamente do tratamento com ágar. Isto sobressai quando se compara a ordem de respostas alimentares médias para as diferentes substâncias testadas (Tabela II e Tabela IV). A diferença entre um e outro experimento ocorreu sobretudo no aumento da porcentagem de respostas alimentares para uma dada substância. Assim por exemplo no caso da L-isoleucina, com um peixe por aquário houve 31,3 % de aproximação, enquanto que com dois peixes por aquário subiu para 54,7 % . Provavelmente, há peixes que são mais quimiosensíveis para detectar certas substâncias e influenciam os outros. Para MALYUKINA e MARUSOV (1971) a capacidade de perceber e diferenciar odores é responsável pelo dominante papel do olfato na alimentação, defesa, desova,

aprendizagem e comportamento de migração de algumas espécies. Peixes do gênero Ictalurus podem detectar à longa distância sinais químicos por meio do gosto somente, e exibem um verdadeiro gradiente de busca quando não existe corrente na água (BARDACH et al., 1967). No entanto, no presente experimento dificilmente pode-se afirmar se o robalo identificou as substâncias pelo olfato ou pela gustação.

As tentativas de agressão de um peixe contra outro sugerem que os robalos identificaram certas substâncias como provenientes de uma fonte alimentar já conhecida. Esta identificação, somada ao movimento do outro peixe, provavelmente estimulou o ataque, como se fosse capturar um alimento. Segundo KNIGHTS (1985), os sinais químicos e visuais aprendidos pelos peixes, em experiências anteriores, permitem uma seletividade na alimentação.

Embora o aumento do número de peixes tenha estimulado uma maior porcentagem de respostas alimentares positivas para as diferentes substâncias testadas, respostas do tipo (5) (ingestão) não foram observadas. No experimento com dois peixes existiu uma grande agitação dos robalos com aquelas substâncias mais estimulantes (Tabela IV). Eles se mantinham girando em torno dos "pellets", tocando-os com a boca, e às vezes agitando as mandíbulas, mas dificilmente capturando-os. No entanto, aqueles peixes que capturavam algum "pellet", mantinham-no na boca como que mastigando, para logo rejeitá-lo. Algumas vezes o mesmo "pellet" era capturado e rejeitado sucessivas vezes.

Provavelmente, a textura do ágar, um tanto elástica, e a forma cúbica do "pellet" dificultavam seu consumo. WANKOWSKI e TORPE (1978) e WANKOWSKI (1981), trabalhando com salmão do Atlântico, mostraram que a forma e a textura da partícula alimentar são de grande importância na rejeição ou consumo do alimento.

Para estudos posteriores seria desejável realizar experimentos que permitam medir se o aumento do número de peixes (acima de dois por aquário) provoca um maior estímulo na resposta alimentar. De igual forma, se a diminuição na concentração das substâncias com um maior número de peixes por aquário manteria a resposta alimentar. É provável que pequenas concentrações de estimulantes ou atrativos nas rações provoquem respostas alimentares bastante positivas, no caso de um grande número de peixes. Tais conhecimentos ajudariam a desenvolver técnicas adequadas de alimentação artificial do robalo.

CAPÍTULO III

RESPOSTA ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, *C. undecimalis*, PARA MISTURAS DE AMINOACIDOS E OUTRAS SUBSTANCIAS EM DIVERSAS CONCENTRAÇÕES

INTRODUÇÃO

O comportamento alimentar de variadas espécies de peixes marinhos e de água doce é mediado principalmente por misturas de substâncias químicas. Isto sugere que exista um espectro de diferentes células quimiorreceptoras, cada uma interagindo com uma ou mais substâncias, e que devem ser estimuladas simultaneamente para produzir uma resposta alimentar (MACKIE *et al.*, 1980).

HASHIMOTO *et al.* (1968) mostraram que misturas de 18 aminoácidos eram responsáveis pela efetividade do extrato de marisco branco na resposta alimentar da enguia, *Anguilla japonica*. Quando testados individualmente, cada um dos 18 não foi efetivo na concentração presente no extrato. Estes autores sugeriram que a atividade estimuladora do extrato é atribuível principalmente ao sinergismo entre os aminoácidos. YOSHII *et al.* (1979) trabalhando também com enguias encontraram que elas eram extremamente sensíveis à arginina, glicina e alanina, e que existia um sinergismo com histidina e outros aminoácidos.

HIDAKA *et al.* (1978) examinaram o efeito isolado de todos os constituintes do tecido do marisco branco (*Lapes japonica*) sobre o comportamento alimentar do *Fugu pardalis*. Eles

mostraram que todos foram muito menos efetivos do que o extrato sintético que continha todos os elementos. Substâncias simples, que estimularam os quimiorreceptores dos lábios desta mesma espécie, não foram efetivas em experimentos de comportamento alimentar. OHSUGI *et al.* (1978) explicaram que as concentrações utilizadas não foram suficientes para produzir uma resposta gustativa. Os mesmos autores, realizando testes de omissão, demonstraram que a palatabilidade do extrato de marisco branco é devida a alguns poucos aminoácidos. "Pellets" que continham alanina, glicina, prolina, serina e betaina foram quase tão efetivos como o extrato sintético com todos os constituintes. Outras misturas de aminoácidos e betaina foram menos efetivas.

O linguado *Solea solea*, quando maior que 50 g, respondeu positivamente à glicina-betaina, entretanto peixes com aproximadamente 2,5 g requeriam uma mistura de glicina-betaina com outros aminoácidos (MACKIE *et al.*, 1980). Para outro peixe marinho, *Pagrus major*, a mistura que provocou melhor resposta alimentar foi prolina, glicina e glucosamina (SHIMIZU *et al.*, 1990).

Está claro que as misturas de alguns aminoácidos produzem respostas alimentares positivas em numerosos peixes. Por outro lado parece que a variação da concentração de substâncias isoladas influenciaria a resposta alimentar. HIDAKA *et al.* (1978), usando bioensaios de comportamento, testaram o efeito de vários aminoácidos, em concentrações de 0,0001 a 0,1 M, sobre a resposta alimentar do *Fugu pardalis*, encontrando que as concentrações mais altas foram as que obtiveram mais respostas positivas.

No presente capítulo serão descritos dois experimentos. No primeiro pretende-se determinar o efeito de diversas misturas sobre o comportamento alimentar do robalo. Os critérios para selecionar as diversas misturas foram: agrupar substâncias similares, depois combinações entre substâncias diferentes, e finalmente, misturas seguindo um critério estrutural para os aminoácidos (polares, não polares, básicos, etc). No segundo experimento o objetivo é determinar se o aumento da concentração molar de uma mistura de aminoácidos provocaria uma resposta do tipo "ingestão", quando no experimento precedente se obtivesse no máximo respostas do tipo "degustação".

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento 1

Foram preparadas soluções individuais 0,01 M de todas as substâncias disponíveis. A seguir foram preparadas as seguintes oito misturas com igual proporção de cada componente:

MISTURAS	COMPONENTES
A	ala-leu-glu-gli-pro-ile-his-ser-lis-arg.
B	ala-leu-glu-gli-pro-ile-his-ser-lis-arg-uri-ino.
C	lis-arg-his (aminoácidos básicos).
D	gli-ser (aminoácidos polares).
E	ala-leu-ile-pro (aminoácidos não polares).
F	uri-ino.
G	pro-ile.
H	controle (somente ágar).

Experimento 2

Foram preparadas oito soluções com a mistura dos seguintes L-aminoácidos: lisina, arginina, alanina, leucina, ácido glutâmico, glicina, prolina, isoleucina, histidina e serina. Cada solução tinha as seguintes concentrações molares : 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,2 e 0,3.

Para ambos experimentos foi utilizado um peixe por aquário, testando-se 32 vezes cada tratamento, oito por aquário. Cada unidade experimental correspondeu à média de oito observações por peixe.

RESULTADOS

A Tabela V mostra as respostas alimentares do robalo para as sete misturas testadas no experimento 1. Pode-se observar baixos percentuais de respostas tipo (1), tanto é que para as misturas B e F 100 % dos peixes reagiram de alguma forma. Entretanto para a mistura C houve 25 % de respostas do tipo (1), sem reação. Os robalos foram bastante estimulados pelas misturas B, F e G, com os maiores percentuais de respostas do tipo (3), sendo que as duas últimas provocaram inclusive a degustação dos "pellets".

TABELA V. Respostas alimentares do robalo para sete misturas diferentes, cada uma com concentração molar 0,01. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação, (4)= degustação e (5)= ingestão.

MISTURAS	RESPOSTAS ALIMENTARES									
	(1)		(2)		(3)		(4)		(5)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
A	4	12,5	15	46,9	12	37,5	1	3,1	-	-
B	-	-	15	46,9	17	53,1	-	-	-	-
C	8	25,1	19	59,3	5	15,6	-	-	-	-
D	4	12,5	21	65,6	7	21,9	-	-	-	-
E	3	9,3	18	56,3	11	34,4	-	-	-	-
F	-	-	4	21,9	24	65,6	4	12,5	-	-
G	1	3,1	9	28,2	21	65,6	1	3,1	-	-
H	14	43,7	18	56,3	-	-	-	-	-	-

Quando somados os percentuais das respostas (3), (4) e (5), consideradas como respostas positivas, e colocadas num gráfico como se mostra na Figura 5, pode-se observar mais claramente o efeito dos distintos tratamentos. A mistura que provocou a maior porcentagem de respostas positivas foi Uridina + Inosina (F). A mistura de aminoácidos básicos (C) deu o menor índice, com 25 % de respostas positivas.

A análise de variância das respostas alimentares médias revelou que existem diferenças altamente significativas entre elas.

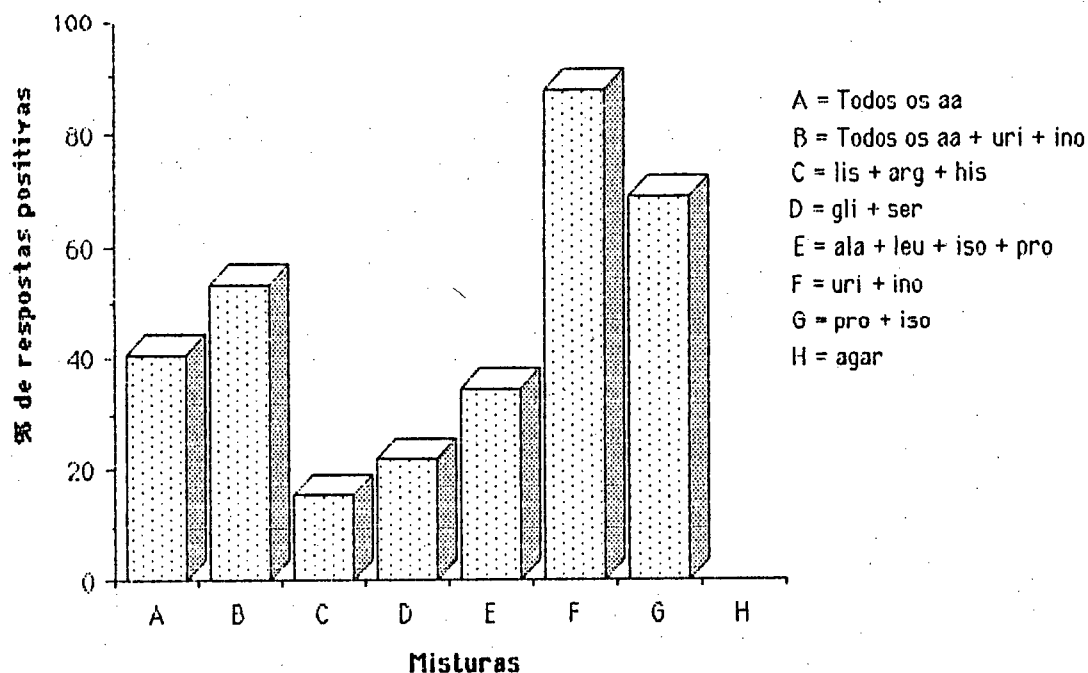


FIG. 5. Respostas alimentares positivas em porcentagem para sete misturas testadas com um peixe por aquário.

A tabela VI mostra a comparação dos valores médios mediante o teste de Duncan para as oito misturas testadas. Os melhores resultados foram obtidos com Uridina + Inosina, L-prolina + L-isoleucina e 10 aminoácidos + Uridina + Inosina, não existindo diferenças significativas entre elas. A pior mistura foi a de aminoácidos básicos que não se diferenciou significativamente do ágar (H). Todas as misturas restantes provocaram respostas significativamente diferentes do tratamento controle.

TABELA VI. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para as diferentes misturas testadas. Experimento de um peixe por aquário.

MISTURAS	N	MÉDIAS	GRUPOS DUNCAN *						
F	4	3,000	a						
G	4	2,688	a		b				
B	4	2,531	a	b	c				
A	4	2,313				b	c	d	
E	4	2,250				b	c	d	
D	4	2,094				c		d	
C	4	1,906						d	e
H	4	1,562						e	

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes.

A tabela VII mostra os resultados do experimento 2. Pode-se ver, como no experimento anterior, uma considerável diminuição de respostas do tipo (1), sem reação. Além disso existiu uma relação inversa entre esse tipo de resposta e a concentração molar da mistura. O oposto tendeu a ocorrer com a resposta do tipo (3), aproximação, existindo uma quebra de tendência na concentração 0,08 M. Respostas do tipo (4) só foram observadas num peixe na concentração 0,01 M, não ocorrendo respostas do tipo (5) como se esperava.

TABELA VII. Respostas alimentares do robalo para uma mistura de 10 aminoácidos em diferentes concentrações molares. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem resposta, (2)= orientação, (3)= aproximação, (4)= degustação e (5)= ingestão.

CONCENTRAÇÕES MOLARES	(1)		(2)		(3)		(4)		(5)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0,01	4	12,5	15	46,9	12	37,5	1	3,1	-	-
0,02	2	6,3	16	50,0	14	43,7	-	-	-	-
0,04	-	-	17	53,1	15	46,9	-	-	-	-
0,06	3	9,4	9	28,1	20	62,5	-	-	-	-
0,08	1	3,1	5	15,6	26	81,3	-	-	-	-
0,10	-	-	9	28,1	23	71,9	-	-	-	-
0,20	-	-	6	18,7	26	81,3	-	-	-	-
0,30	-	-	7	21,9	25	78,1	-	-	-	-

A Figura 6 mostra a soma das respostas (3) e (4), consideradas como positivas, para o experimento 2. Observa-se uma tendência de aumento das respostas alimentares conforme aumenta a concentração da mistura testada. Entretanto a análise de variância feita com as respostas alimentares médias não revelou diferenças significativas entre as distintas concentrações.

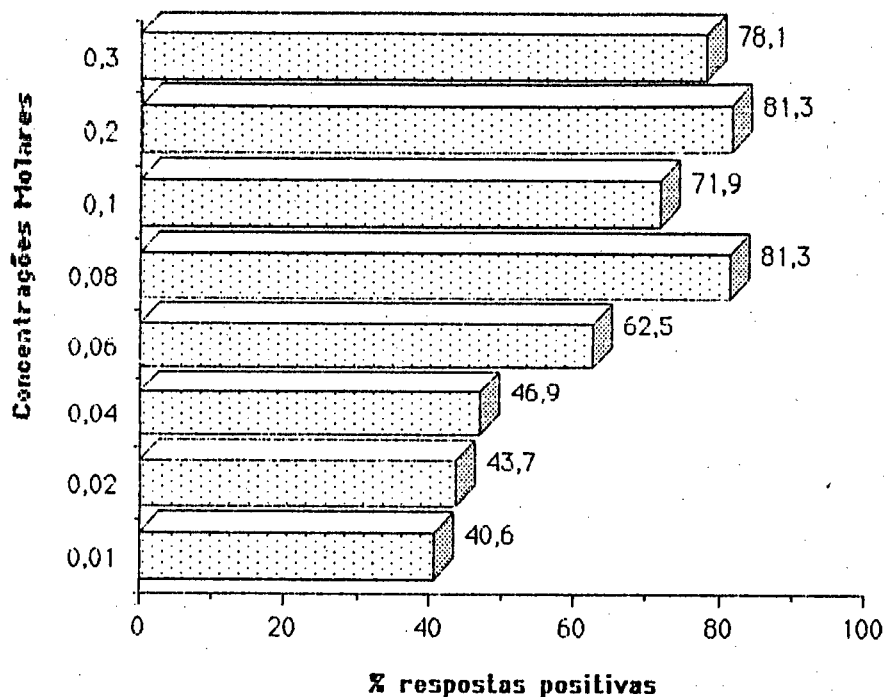


FIG. 6. Respostas alimentares positivas (%) para uma mistura de dez aminoácidos em diferentes concentrações molares.

DISCUSSÃO

O primeiro experimento mostrou que certas misturas de substâncias provocam significativas respostas alimentares nos robalos. Inúmeros autores (HASHIMOTO *et al.*, 1968; CARR e CHANEY, 1976; ADRON e MACKIE, 1978; SHIMIZU *et al.*, 1990) mostraram que misturas de aminoácidos e outras substâncias (nucleosídeos, nucleotídeos, betaina, etc.) atuam como atrativos e/ou estimulantes alimentares em peixes. As melhores misturas foram a F (Inosina mais Uridina) e a G (L-prolina mais L-isoleucina). Para ambas, o total de respostas alimentares positivas foi consideravelmente maior que para seus componentes individuais (Tabela I). No entanto, a soma

das respostas alimentares positivas obtidas para cada um destes componentes (Fig. 3), foi muito semelhante ao valor das respostas alimentares positivas para ambas as misturas. CARR (1976), assinala que misturas apropriadas de substâncias promovem fortes sinais sensoriais e por sua vez provocam respostas comportamentais, o mesmo não ocorrendo com seus componentes individuais.

HASHIMOTO et al. (1968) sugeriram que a atividade estimuladora de uma mistura é atribuível, principalmente, à sinergia entre aminoácidos. Este fato é claramente observado na mistura G, onde o efeito individual da L-prolina e da L-isoleucina não superou 40 % de respostas alimentares positivas (Fig. 3). No entanto, a combinação de ambas substâncias chegou a quase 70 % (Fig. 6).

CARR e CHANEY (1976) provaram com Orthocristis chrysopterus que a mistura de cinco aminoácidos mais a betaina foi consideravelmente mais efetiva que qualquer das substâncias individualmente. ADRON e MACKIE (1978) mostraram que a truta arco-íris tinha uma marcada preferência para dietas "aromatizadas" com as seguintes misturas: tirosina, fenilalanina mais lisina ou tirosina, fenilalanina mais histidina. A explicação neuro-sensorial dada por CARR et al. (1977) para a elevada atividade provocada pelas misturas foi que existiu uma estimulação simultânea de diferentes tipos de quimiorreceptores, os quais possuem diferentes sensibilidades para diferentes substâncias.

Como foi observado nos experimentos anteriores os aminoácidos básicos (histidina, arginina e lisina) e polares sem

carga (glicina e serina) tiveram pouco efeito sobre o comportamento alimentar do robalo. Esta situação se repetiu quando foram testados em misturas. HARA (1976, 1977) observou que a truta não era estimulada por aminoácidos básicos, quando testados individualmente. Entretanto, ADRON e MACKIE (1978) demonstraram, para a mesma espécie, que dois destes aminoácidos (lisina e histidina) eram bastante ativos quando presentes numa mistura com os aminoácidos aromáticos, tirosina e fenilalanina. No presente estudo, estes últimos não foram testados. Em futuros trabalhos com o robalo poderá ser verificado se as misturas de aminoácidos básicos e aromáticos atuam sinergicamente sobre seu comportamento alimentar, como ocorreu na truta.

A mistura de todos os aminoácidos (A) não foi tão efetiva quanto as misturas G e F. Entretanto, a mistura B (aminoácidos mais Inosina e Uridina) foi aproximadamente 10 % mais efetiva em termos de respostas alimentares positivas. Provavelmente a Uridina e a Inosina provocaram este aumento.

A baixa efetividade das misturas de aminoácidos (A, B e E) com respeito às misturas mais efetivas (F e G) pode ser explicada de três maneiras:

1º: Os aminoácidos em geral poderiam não ser as mais adequadas substâncias atrativas ou estimulantes para o robalo. Para o Scolopthalmus maximus (MACKIE e ADRON, 1978) as misturas de L-aminoácidos foram totalmente inativas como estimulantes alimentares, e o contrário ocorreu com a Inosina e a Inosina 5-monofosfato.

29: As misturas de aminoácidos foram preparadas juntando, em partes iguais, as soluções (0,01 M) de cada um dos componentes. Portanto, a concentração individual de cada aminoácido na mistura era sensivelmente inferior, ao contrário das misturas com apenas duas substâncias. Deste modo, a maior concentração individual dos componentes numa mistura poderia provocar um estímulo maior.

30: Finalmente, é provável que exista certa especificidade dos quimiorreceptores do robalo para certos aminoácidos e certas concentrações. MACKIE *et al.* (1980), sugeriu que existe um espectro muito variado de células quimiorreceptoras, cada uma interagindo com uma ou mais substâncias, devendo ser estimuladas simultânea e adequadamente para produzir uma resposta alimentar.

No experimento 2, esperava-se provocar respostas tipo (5) aumentando a concentração de uma mistura de aminoácidos. De fato isto não aconteceu. HIDAKA *et al.* (1978) testou o efeito de vários aminoácidos, individualmente e em diversas concentrações, sobre a resposta alimentar do *Eugu pardalis*, encontrando que as concentrações mais altas foram as mais estimuladoras.

Da mesma forma que as misturas de aminoácidos do experimento 1 não provocaram ingestão dos "pellets", no experimento 2, o aumento da concentração não foi suficiente para ultrapassar o limiar de excitação das células quimiosensoriais para provocar isto. Uma possível explicação é que, para uma dada concentração, seja necessário alguma outra substância para desencadear o processo. É também provável que as altas concentrações de uma mistura de aminoácidos provoquem uma saturação dos quimiorreceptores e inibam a ingestão do "pellet".

CAPÍTULO IV

EFEITO DE EXTRATOS AQUOSOS ANIMAIS E EXTRATOS SINTÉTICOS SOBRE O COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO JUVENIL DO ROBALO, *C. undecimalis*

INTRODUÇÃO

O uso de extratos aquosos de presas tem sido a primeira etapa na determinação das substâncias que influenciam o comportamento alimentar em peixes. Inúmeros autores (HAYNES *et al.*, 1967; CARR, 1976; CARR *et al.*, 1976; PAWSON, 1977; CARR *et al.*, 1977; DEMPSEY, 1978; ADRON e MACKIE, 1978; MACKIE *et al.*, 1980; MACKIE, 1982; JOHNSEN e ADAMS, 1986; MEARNS *et al.*, 1987 e SHIMIZU *et al.*, 1990) determinaram que extratos integros de animais aquáticos ou frações dos mesmos produzem respostas alimentares em peixes.

HAYNES *et al.* (1967) encontraram que as substâncias presentes em 10 extratos preparados de invertebrados produziam um comportamento alimentar exploratório em *Bathystoma rimator*. Eles também realizaram uma caracterização preliminar dos fatores ativos em tais extratos.

CARR *et al.* (1977) determinaram que os extratos aquosos de carangueios, ostras, ouriços e tainhas provocaram respostas alimentares em *Orthopristes chrysopterus*. Também mostraram que as substâncias presentes em tais extratos têm peso molecular menor que

1000. Outros trabalhos determinaram que os constituintes do extrato de camarão foram efetivos no comportamento alimentar da espécie citada anteriormente e do Lagodon rhomboides (CARR, 1976 e CARR e CHANEY, 1976).

MACKIE (1982) analisou extratos de mexilhão e lula para preparar misturas sintéticas baseadas em seus componentes. Testes de omissão permitiram a este autor determinar quais substâncias atuavam como estimulantes alimentares nos linguados, Scophthalmus maximus e Solea solea.

Recentemente, Allahpichay e Shimizu (1984) citados por SHIMIZU et al. (1990), relataram que as dietas suplementadas com farinha de krill antártico (Euphausia superba) provocaram um estímulo do comportamento alimentar dos seguintes peixes: Pagrus maior, Anquilla japonica, Myllo macrocephalus e Seriola quinqueradiata. SHIMIZU et al. (1990) foi quem identificou os aminoácidos da farinha de krill que produziram tal resposta no Pagrus maior.

Escasso é o conhecimento sobre o hábito alimentar do robalo no sul do Brasil. Entretanto, se sabe, através de trabalhos efetuados no sudeste e nordeste do país (SILVA, 1976 e PATRONA, 1984) que o robalo em geral se alimenta preferencialmente de camarões e peixes. Experiências preliminares em laboratório também permitiram estabelecer a afinidade deste peixe pelas espécies das quais foram preparados extratos.

O presente experimento comparou o efeito de quatro

extratos aquosos animais (camarão, lula, tainha e tilápia) e quatro extratos sintéticos (camarão, lula, tainha e Langobuds) sobre as respostas de comportamento alimentar do robalo.

MATERIAL E MÉTODOS

Para preparar os extratos aquosos animais, apenas as partes mais brandas dos espécimens foram maceradas em um picador elétrico até fazer uma espécie de pasta. Logo este macerado foi misturado com duas partes de água do mar e homogeneizado num liquidificador por 15 a 20 minutos. Após foi aquecido até 90 °C e posteriormente filtrado para extrair somente a fração líquida. Este extrato foi conservado em baixa temperatura (4 °C).

Foram preparadas três misturas sintéticas com as substâncias químicas que constam da lista utilizada no presente trabalho. Cada uma destas misturas mantém as proporções de seus componentes segundo as análises de extratos naturais de camarão (MEARNS *et al.*, 1987), lula (MACKIE, 1982) e tainha (CARR *et al.*, 1977) que constam na Tabela IX. A concentração destas misturas foi aumentada 10 vezes no preparo das soluções.

A solução com Langobuds foi preparada a 2 %, ou seja, duas gramas do produto em 100 g de água do mar.

Com as diversas soluções foram preparados os "pellets" para os testes, constituindo oito tratamentos. Foi utilizado um peixe por aquário, 32 provas para cada tratamento, oito por aquário. Cada unidade experimental compreendeu a média de oito

observações feitas em cada peixe.

Para determinar se existiam diferenças significativas entre as respostas alimentares, fez-se uma análise de variância considerando os oito tratamentos. A estrutura dos tratamentos permitiu também realizar uma segunda análise de variância, em arranjo fatorial, para estudar o fator fonte, com dois níveis (natural e artificial) e o fator tipo de extrato, com três níveis (camarão, lula e tainha), além da interação entre eles.

TABELA IX. Composição química dos extratos naturais de camarão, lula e tainha segundo MEARNNS *et al.* (1987), MACKIE (1982) e CARR *et al.* (1977), respectivamente. Os valores originais estavam expressos em micromoles por litro.

SUBSTANCIAS	CAMARÃO *	LULA *	TAINHA *
	em mg/100 ml solução		
L-serina	0,017	0,033	0,178
Ac. L-glutâmico	0,034	0,053	0,132
L-prolina	0,128	1,456	--
L-glicina	0,230	0,890	3,435
L-alanina	0,058	0,273	0,489
L-isoleucina	0,029	0,029	0,058
L-leucina	0,039	0,055	0,098
L-histidina	0,021	0,015	7,905
L-lisina	0,043	0,029	1,241
L-arginina	0,131	0,228	0,243

* as espécies não foram assinaladas pelos autores.

RESULTADOS

A Tabela X mostra as respostas alimentares obtidas para cada tratamento, classificadas nos cinco tipos de observações feitas. Dos extratos naturais, só com tilápia e tainha se obteve respostas do tipo (1), 25 e 3,1 %, respectivamente. Os "pellets" com extrato natural de camarão, lula e tainha foram degustados 28,1, 18,7 e 6,3 % das 32 vezes que foram testados, respectivamente. Somente os "pellets" com extrato natural de tainha foram ingeridos duas vezes, 6,3 % do total das provas.

TABELA X. Respostas alimentares do robalo para quatro extratos naturais e quatro extratos sintéticos. Experimento de um peixe por aquário. (1)= sem reação, (2)= orientação, (3)= aproximação, (4)= degustação e (5)= ingestão.

RESPOSTAS ALIMENTARES										
EXTRATOS	(1)		(2)		(3)		(4)		(5)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Naturais										
Camarão	-	-	9	28,1	14	43,8	9	28,1	-	-
Lula	-	-	8	25,0	18	56,3	6	18,7	-	-
Tainha	1	3,1	13	40,6	14	43,8	2	6,3	2	6,3
Tilápia	8	25,0	20	62,5	4	12,5	-	-	-	-
Sintéticos										
Camarão	-	-	11	34,4	21	65,6	-	-	-	-
Lula	-	-	6	18,7	22	68,8	3	9,4	1	3,1
Tainha	3	9,4	9	28,1	20	62,5	-	-	-	-
Langobuds	3	9,4	15	46,8	14	43,8	-	-	-	-

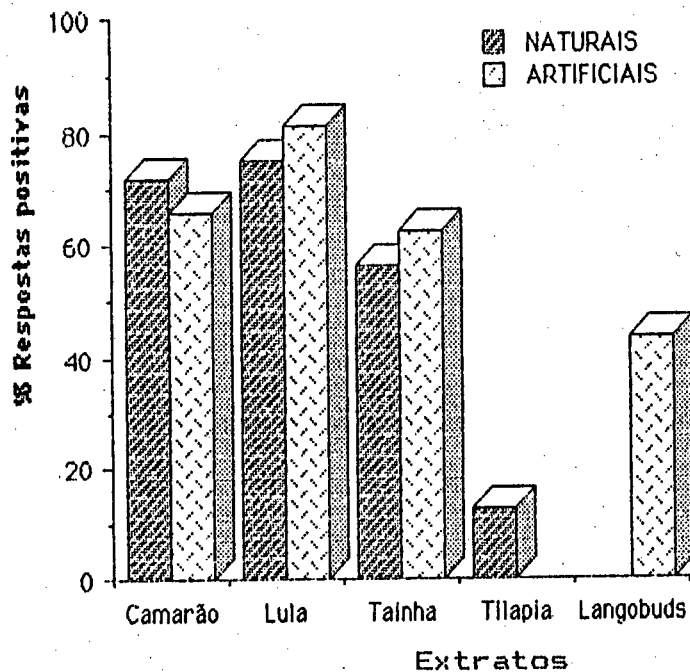


FIG. 7. Respostas alimentares positivas em porcentagem para os extratos naturais e sintéticos. Um peixe por aquário.

Para os extratos sintéticos, 9,4 % das respostas para tainha e Langobuds foram sem reação. As respostas de aproximação para todos os extratos sintéticos foram altas, acima de 60 %, com exceção do Langobuds com 43,8 %. Respostas do tipo degustação e ingestão só foram observadas para o extrato sintético de lula, com 9,4 e 3,1 %, respectivamente.

Quando somadas as respostas consideradas positivas pode-se observar (Fig. 7) que quase todos os tratamentos tiveram um efeito similar sobre o comportamento alimentar do robalo, com

exceção do extrato de tilápia, que foi o pior de todos os testados.

A análise de variância das respostas médias para os oito extratos revelou diferenças significativas. Entretanto, quando a análise foi feita para ver se existiam diferenças em função da natureza do extrato (natural ou sintético), eliminando os extratos de tilápia e Langobuds, não se encontrou diferenças significativas entre as médias dos tratamentos.

TABELA XI. Resultados da comparação, mediante o teste de Duncan, das respostas alimentares médias do robalo para diferentes extratos. Experimento de um peixe por aquário.

EXTRATOS	N	MÉDIAS	GRUPOS DUNCAN *
Camarão natural	4	3,000	a
Lula artificial	4	2,969	a
Lula natural	4	2,938	a
Tainha natural	4	2,719	a
Camarão artificial	4	2,656	a
Tainha artificial	4	2,531	a
Langobuds	4	2,344	a b
Tilapia	4	1,875	b

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes.

A comparação das médias mediante o teste de Duncan para os oito extratos, sem considerar a natureza dos mesmos, está resumida na Tabela XI. As médias das respostas alimentares não foram significativamente diferentes para a maioria dos extratos, com exceção do de tilápia, com média inferior aos demais. Por sua vez, este não diferiu do Langobuds.

DISCUSSÃO

No presente experimento, embora as médias das respostas alimentares do robalo, para a maioria dos extratos testados, não tenham sido significativamente diferentes, alguns resultados merecem ser analisados em detalhe. O robalo, estimulado com extratos naturais, à diferença dos extratos artificiais, recebeu uma incitação ao consumo dos "pellets". As respostas alimentares tipo (4), obtidas com os extratos naturais de lula, camarão e tainha, sugerem que estas espécies possuem em seus tecidos certas substâncias capazes de produzir um intenso estímulo alimentar. Estas substâncias, provavelmente, poderiam não ser exclusivamente os L-aminoácidos. As respostas tipo (4) e (5) dificilmente foram obtidas com os extratos artificiais, a não ser com tainha. Estes, possuíam apenas a fração de L-aminoácidos presente num extrato natural (Tabela IX).

MEARNS *et al.* (1987), através de bioensaios de comportamento alimentar com truta arco-íris e salmão do Atlântico, identificou e quantificou em diversas frações de extratos aquosos de camarão os seguintes grupos químicos: aminoácidos livres, bases pirimídicas, nucleosídeos e nucleotídeos. As frações que foram mais palatáveis para as duas espécies foram o extrato inteiro e a fração sem as proteínas hidrossolúveis.

CARR e CHANEY (1976), CARR (1976) e CARR *et al.* (1977) analisaram quimicamente cinco extratos de espécies aquáticas que provocavam respostas alimentares em *Orthoeristes chrysopterus*

(Família Pomadasyidae) e Lagodon rhomboides (Família Sparidae). A fração com melhor capacidade estimuladora dos extratos de camarão, siri, ostra e tainha foi a mistura artificial que continha betaina e um conjunto de L-aminoácidos.

MACKIE e ADRON (1979), determinaram estimulantes alimentares do Scophthalmus maximus utilizando dietas "aromatizadas" com misturas artificiais, baseadas em extratos de lula. A omissão de componentes na mistura artificial, em inúmeras dietas, permitiu estabelecer que a espécie era estimulada basicamente por certos nucleosídeos e nucleotídeos em baixas concentrações.

Todos os trabalhos citados anteriormente mostraram evidências de que os extratos de animais aquáticos possuem certas substâncias, tais como aminoácidos, betaina, nucleosídeos e nucleotídeos, que induzem respostas alimentares em peixes. Da comparação entre as respostas tipo (4) e (5), para os dois tipos de extratos (natural e artificial), emergem algumas hipóteses para a identificação das substâncias atrativas e/ou estimulantes para o robalo. Como foi assinalado anteriormente, provavelmente a fração aminoacídica não seja a melhor estimuladora existente nos extratos naturais. Ou, talvez ela reaja sinergicamente com alguma outra substância, tal como a betaina, que não foi incluída nos extratos artificiais. Poderia ser essa a explicação para a diferença entre extratos naturais e artificiais. Lula, camarão e tainha possuem a betaina em seus tecidos (CARR et al., 1977 e MACKIE, 1982). Como já foi discutido na revisão bibliográfica, esta

substância é um forte estimulante alimentar de várias espécies de peixes.

Finalmente, é também provável que nucleosídeos e/ou nucleotídeos presentes nos tecidos do camarão e da lula sejam responsáveis pela maior porcentagem de respostas tipo (4) e (5) registrada para tais extratos.

Futuros experimentos de comportamento alimentar deverão ser feitos com robalo para elucidar estas questões. MACKIE (1982), sugeriu a seguinte metodologia para identificar as substâncias atrativas e/ou estimulantes em extratos aquosos animais. Dietas à base de caseína são totalmente inaceitáveis para experimentos com peixes. Se a adição de uma mistura química sintética, baseada em extratos de organismos de seu hábito alimentar, induzir o peixe a comer, a omissão de alguns componentes da mistura em várias dietas testes deverá ser feita até que a atividade estimuladora desapareça.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem o estabelecimento das seguintes conclusões:

1. O juvenil do robalo, *Centropomus undecimalis*, pode ser considerado um consumidor visual, ele reage dirigindo a visão para qualquer partícula que entre na água, no entanto, só se aproxima se for estimulado quimicamente.
2. Em termos gerais, os aminoácidos polares com carga, não provocaram estímulos alimentares nos juvenis do robalo.
3. Os robalos foram estimulados pelas seguintes substâncias: Uridina, L-isoleucina, Inosina, L-leucina, L-glicina, L-arginina e L-prolina, sendo que as três primeiras foram as melhores.
4. O número de peixes por aquário influenciou positivamente a resposta alimentar do juvenil do robalo.
5. As melhores misturas que estimularam o comportamento alimentar foram: Uridina mais Inosina, L-prolina mais L-isoleucina e dez aminoácidos (ala-leu-glu-gli-pro-ile-his-ser-lis-arg) mais Inosina e Uridina.
6. A mistura de aminoácidos básicos (lis-arg-his) não estimulou o comportamento alimentar dos indivíduos testados.

7. O aumento da concentração (de 0,01 até 0,3 M) numa mistura de aminoácidos não estimulou a ingestão dos "pellets".
8. A presença da Uridina e da Inosina numa mistura de aminoácidos incrementou a resposta alimentar dos peixes.
9. O juvenil do robalo respondeu positivamente tanto para os extratos naturais como artificiais de camarão, lula e tainha.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADAMS, M. A. e JOHNSEN, P. B. 1986. A solid matrix bioassay for determining chemical feeding stimulants. *The Progressive Fish-Culturist* 48: 147-149.
- X ADRON, J. W. e MACKIE, A. M. 1978. Studies on the chemical nature of feeding stimulants for rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biology*, 12: 303-310.
- AGER, L. A., HAMMOND, D. E. e WARE, F. J.. 1976. Artificial spawning of snook, *C. undecimalis*. *Proceeding of the 30th Annual Conference SE Game and Fish Commission*, 30: 158-166.
- BARDACH, J. E., TODD J. H. e CRICKMER R. 1967. Orientation by taste in fish of the genus *Ictalurus*. *Science Wash.* 155: 1276-1278.
- BELGHAUG RAGNAR e DOVING KYELL B.. 1977. Odour threshold determined by studies of the induced waves in the olfactory bulb of the char (*Salmo alpinus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 57 A: 327-330.
- CAPRIO, JOHN. 1975. High sensitivity of catfish taste receptors to amino acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 52 A: 247-251.
- CARR, W. E. S. 1976. Chemoreception and feeding behavior in the pigfish, *Orthopristis chrysopterus* : characterization and identification of stimulatory substances in a shrimp extract. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55 A: 153-157.

- CARR, W.E.S. e CHANEY, T.B. 1976. Chemical stimulation of feeding behavior in the pinfish, Lagodon rhomboides: characterization and identification of stimulatory substances extracted from shrimp. *Comp. Biochem. Physiol.*, 54 A: 437-441.
- CARR, W.E.S., BLUMENTHAL, K.M. e NETHERTON, J.M. 1977. Chemoreception in the pigfish, Orthopristis chrysopterus: the contribution of amino acids and betaine to stimulation of feeding behavior by various extracts. *Comp. Biochem. Physiol.*, 58 A: 69-73.
- CARR, W. E. S., GONDECK, A. R. e DELANDY, R. L. 1976. Chemical stimulation of feeding behavior in the pinfish, Lagodon rhomboides: a new approach to an old problem. *Comp. Biochem. Physiol.*, 54: 161-166.
- CARR, W. E. S.. 1982. Chemical stimulation of feeding behavior. In: *Chemoreception in Fishes*. (Ed. by Hara T. J.) Elsevier N. Y. pp. 259-273.
- CHAPMAN, P., CROSS, F., FISH, W., e JONES, K. 1982. Final report for sportfish introduction project, Study I: Artificial culture of snook. Florida Game and Fresh Water Fish Commission, 35 p (mineo report).
- CHAVEZ, H.. 1963. Contribución al conocimiento de la biología de los robalos, chucumite y constantino (Centropomus sp) del estado de Veracruz (Pisces, Centropomidae). *Ciencia, Mexico*, 22 (9): 141-161.

- DAGNELIE, P., 1975. Théorie et méthodes statistiques, VOL 2. Gembloux, Belgique, Les Pesses Agronomiques de Gembloux, 463 p.
- DEMPSEY, C.H. 1978. Chemical stimuli as a factor in feeding and intraspecific behaviour of herring larvae. J.Mar.Biol.Ass. U.K. 58: 739-747.
- GOH, Y., TAMURA, T. e KOBAYASHI, H. 1979. Olfactory responses to amino acids in marine teleosts. Comp. Biochem. Physiol., 62 A: 863-868.
- HARA, T. J. 1973. Olfactory responses to amino acids in rainbow trout Salmo gairdneri. Comp. Biochem. Physiol. 44 A: 407-416.
- HARA, T. J. 1976. Structure-activity relationships of amino acids in fish olfaction. Comp. Biochem. Physiol. 54 A: 31-36.
- HARA, T. J. 1977. Further studies on the structure-activity relationships of amino acids in fish olfaction. Comp. Biochem. Physiol. 56 A: 559-565.
- HARDER, WILHELM. 1975. Anatomy of fishes. Part I: Text E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nagele u. Obermiller). Germany. 612 p.
- HASHIMOTO, Y., KONOSU, S., FUSETANI, N. e NOSE, T., 1968. Attractants for eels in the extracts of short-necked clam. I. Survey of constituents eliciting feeding behaviour by the omission test. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 34: 78-83. (resumo em inglês).

- HAYNES L. J., SANGSTER A. W., STEVEN D. M. e THOMAS S., 1967. Chemical factors inducing exploratory feeding behavior in fish EFB inducing properties of marine invertebrates. *Comp Biochem. Physiol.* 20: 755-765.
- HIDAKA, I., OHSUGI, T. e KUBOMATSU, T., 1978. Taste receptor stimulation and feeding behavior in the puffer, Eugu pardalis. I. Effect of single chemicals. *Chemical Senses and Flavour*, 3(4): 341-354.
- HIDAKA, I., KIYOHARA, S. e ODA, S., 1977. Gustatory response in the puffer. III stimulatory effectiveness of nucleotides and derivatives. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 43: 423-428.
- HIGBY, M. e BEULIG, A., 1988. Effects of stocking density and food quantity on growth of young snook, Centropomus undecimalis, in aquaria. *Florida Sci.*, 51(3/4): 163-171.
- INA K. e MATSUI H., 1980. Survey of feeding stimulants for the sea bream (Chrysophrys major) in the marine worm Perinereis vancaurica tetradentata. *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* 54: 7-12.
- JOHNSON, P.B. e ADAMS, M.A., 1986. Chemical feeding stimulants for the herbivorous fish, Tilapia zillii. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83 A (1): 109-112.
- JOHNSTONE, A. D., 1980. The detection of dissolved amino acids by the atlantic cod, Gadus morhua L. *J. Fish. Biol.*, 17(2): 219-230.

KNIGHTS, BRAIN. 1985. Feeding behaviour and fish culture. In: Nutrition and Feeding in Fish. Edited by Cowey, Mackie and Bell. Academic Press London. pp 223-241.

KONOSU S., FUSETANI N., NOSE T. e HASHIMOTO Y.. 1968. Attractants for eels in the extracts of short-necked clam. II. Survey of constituents eliciting feeding behavior by fractionation of the extracts. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 34: 84-87. (resumo em inglês)

LINDSTEDT, K. J. 1971. Chemical control of feeding behavior. Comp. Biochem. Physiol., 39 A: 553-581.

LEHNINGER, A. L. 1979. Bioquímica. Las Bases moleculares de la estructura y función celular. Barcelona. Ediciones Omega, S.A. 1117 p.

LOVSHIN, L.L. e RUSHING, J.H.. 1989. Acceptance by largemouth bass fingerlings of pelleted feeds with a gustatory additive. The progressive Fish-Culturist, 51: 73-78.

MACKIE, A. M. e MITCHELL A. I. 1985. Identification of gustatory feeding stimulants for fish-applications in aquaculture. In: Nutrition and Feeding in Fish. Edited by Cowey, Mackie and Bell. Academic Press London. pp 177-189.

MACKIE, A. M. 1982. Identification of the gustatory feeding stimulants. In: Chemoreception in Fishes (Edited by Hara, T. J.) Elsevier, New York. pp 275-291.

- MACKIE, A.M., ADRON, J.W. e GRANT, P.T.. 1980. Chemical nature of feeding stimulants for the juvenile Dover sole, Solea solea (L). J. Fish. Biol., 16: 701-708.
- MACKIE, A.M. e ADRON, J.W. 1978. Identification of inosine and inosine 5 - monophosphate as the gustatory feeding stimulants for the turbot, Scophthalmus maximus. Comp. Biochem. Physiol. 60 A: 79-83.
- MAIA, E. P., ROCHA, I. P., OKADA, Y., 1980. Cultivo arraçoado de curimã (Mugil brasiliensis Agassiz, 1829) em associação com tainha (Mugil curema Valenciennes, 1836) e camorim (Centropomus undecimalis Bloch, 1792), em viveiros estuarinos de Itamaracá-Pernambuco, Brasil. Em: Anais do I Simpósio Brasileiro de Aquicultura, Recife 1978. Ed. Acad. Bras. de Ciências, Rio de Janeiro p. 141-149.
- MALYUKINA, G.A. e MARUSOV Ye. A. 1971. Study of the olfaction of fishes by electrocardiography. Journal of Ichthyology, 11 (4-6): 959-966.
- MEARNS, K.J., ELLINGSEN, O.F., DOVING, K.B. e HELMER, S.. 1987. Feeding behaviour in adult rainbow trout and Atlantic salmon Parr, elicited by chemical fractions and mixtures of compounds identified in shrimp extrac. Aquaculture, 64: 47-63.
- MEARNS, K.J.. 1985. Response of Atlantic salmon (Salmo salar L.) yearlings to individual L-amino acids. Aquaculture, 48: 253-259.

- OHSUGI, T., HIDAKA, I. e IKEDA, M.. 1978. Taste receptor stimulation and feeding behaviour in the puffer, Egus pardilis. II. Effects produced by mixtures of constituents of clam extracts. Chemical Senses and Flavour, 3(4): 355-368.
- PATRONA, L. DELLA. 1984. Contribution a la biologie du robalo Centropomus parallelus (Pisces Centropomidae) du sud-est du Brésil: possibilités aquacoles. Institut National Polytechnique de Toulouse, França, Tese de Doutorado, 175 p.
- PAWSON, M. G., 1977. Analysis of a natural chemical attractant for whiting Merlangius merlangus L. and cod Gadus morhua L. using a behavioral bioassay. Comp. Biochem. Physiol., 56 A: 129-135.
- RIVAS, L. R. 1986. Systematic review of the perciform fishes of the genus Centropomus. Copeia, 3: 579-611.
- ROCHA, I. P. e OKADA, Y. 1980. Experimentos de policultivo entre curimã (Mugil brasiliensis Agassiz, 1829) e camorim (Centropomus undecimalis Bloch, 1792) em viveiros estuarinos (Itamaracá-Pernambuco), Brasil. Em: Anais do I Simpósio Brasileiro de Aquicultura, Recife 1978. Ed. Acad. Bras. de Ciências, Rio de Janeiro pp. 163-173.
- SANTOS F., E. A. DOS. 1983. The inducer of the feeding response in Penaeus paulensis (Crustacea-Decapoda). Physiol. Behav. 31 (5): 733-734.

SHAFLAND, P. L. e FOOTE, K. J. 1983. A lower lethal temperature for fingerling snook, Centropomus undecimalis. Northeast Gulf Science 6 (2): 175-177.

SHIMIZU, C., IBRAHIM, A., TOKORO, T. e SHIRAKAWA, Y. 1990. Feeding stimulation in sea bream, Pagrus major, fed diets supplemented with Antarctic krill meals. Aquaculture 89: 43-53.

SHPARKOVSKIY, I. A., PAULOV, I. D. e CHINARINA, A. D. 1983. Behavior of young hatchery-reared Atlantic Salmo salar, (Salmonidae) influenced by amino acids. Journal Ichthyology, 23 (4): 140-147.

SILVA, J. E. da,. 1976. Fisiocologia do camorin (Centropomus undecimalis Bloch, 1792). Estudo experimental de crescimento em ambiente confinado. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, 101 p.

SILVER, W. L., CAPRIO, J., BLACKWELL, J. F., TUCKER D. 1976. The underwater electro-olfatogram: a tool for the study of the sense of smell of marine fishes. Experientia, 32 (9): 1216-1217.

SOKAL, R. R. e ROHLK, F. J.. 1979. Biometria: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica (traducido por Miguel Lahoz Leon). 1ª Edición española H. Blume Ediciones, Madrid, 839 p.

STRADMEYER, L.. 1989. A behavioural method to test feeding responses of fish to pelleted diets. Aquaculture, 79: 303-310.

- SUTTERLIN A. M. 1975. Chemical attraction of some marine fish in their natural habitat. J. Fish. Res. Bd. Can. 32: 729-738.
- SUTTERLIN, A. M. e SUTTERLIN, N.. 1970. Taste responses in Atlantic salmon (Salmo salar) Parr. J. Fish. Res. Bd. Canada, 27: 1927-1942.
- SUTTERLIN, A. M. e SUTTERLIN, N.. 1971. Electrical responses of the olfactory epithelium of Atlantic salmon (Salmo salar). Journal Fisheries Research Board of Canada, 28(4): 565-572.
- SUZUKI, N. e TUCKER, D.. 1971. Amino acids as olfactory stimuli in fresh water catfish (Ictalurus catus L.) Compar. Biochem. Physiol., 40(4): 399-404.
- TUCKER, J. W., Jr. 1987. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. Prog. Fish-Cult. 49: 49-57.
- WANKOWSKI, J.W.J.. 1981. Behavioural aspects of predation by juvenile, Atlantic salmon (Salmo salar L.) on particulate, drifting prey. Animal Behaviour, 29 (2): 557-571.
- WANKOWSKI, J.W.J. e THORPE, J.E.. 1978. The role of food particle size in the growth of juvenile Atlantic salmon (Salmo salar L.). J. Fish. Biol., 14: 351-370.
- YOSHII, K., KAMO, N., KURIHARA, K. e KOBATAKE, Y. 1979. Gustatory responses of eel palatine receptors to amino acids and carboxylic acids. J. Gen. Physiol. 74: 301-317.

A N E X O S

ANEXO 1. ANALISE ESTATÍSTICA DOS EXPERIMENTOS DO CAPÍTULO I E
CAPÍTULO II

NOTE: Copyright(c) 1985,86,87 SAS Institute Inc., Cary, NC 27512-8000, U.S.A.

NOTE: SAS (r) Proprietary Software Release 6.03
Licensed to INSTITUTO CEPA/SC, Site 20595001.

NOTE: AUTOEXEC processing completed.

```
1  OPTIONS LS=80 PS=64;
2  DATA ALIRO1;
3  INPUT P TRAT REP V1;
4  *EXPERIMENTO: INFLUENCIA DO NUMERO DE PEIXES SOBRE A RESPOSTA
5  ALIMENTAR DO ROBALO PARA DIVERSAS SUBSTANCIAS.
6  PESQUISADOR: ALIRO BORQUEZ RAMIREZ  ENG. AQUICULTURA.
7
8  DELINEAMENTO: INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM FATORIAL A*B E 4
9  REPETICOES POR COMBINACAO
10 FATOR A = NUMERO DE PEIXES (P)
11     1 = AQUARIO COM 1 PEIXE
12     2 = AQUARIO COM 2 PEIXES
13 FATOR B = 13 TIPOS DE ALIMENTO (TRAT)
14     1 = ALANINA           6 = ISOLEUCINA           11 = URIDINA
15     2 = LEUCINA           7 = HISTIDINA           12 = INOSINA
16     3 = AC. GLUTAMICO     8 = SERINA              13 = AGAR
17     4 = GLICINA           9 = LISINA
18     5 = PROLINA           10 = ARGININA
19 UNIDADE EXPERIMENTAL= 1 AQUARIO COM 1 OU 2 PEIXES (SEGUNDO O
20 TRATAMENTO). 8 OBSERVAÇOES POR PEIXE. TOTAL OBSERVAÇOES POR
21 AQUARIO 8 E 16 RESPECTIVAMENTE. CADA UNIDADE EXPERIMENTAL
22 COMPREENDE A MEDIA DE 8 OU 16 SUBAMOSTRAS (FATOR A TRAT 1 E 2)
23 V1= PREFERENCIA DO PEIXE PELO TRAT DADO EM NOTAS DE 1= SEM REAÇAO
24     2= ORIENTAÇAO 3= APROXIMAÇAO 4= DEGUST. 5= INGESTAO;
25 CARDS;
130 ;
```

NOTE: The data set WORK.ALIRO1 has 104 observations and 4 variables.
NOTE: The DATA statement used 12.00 seconds.

```
131 PROC PRINT;
132 TITLE 'DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO 1';
133 PROC ANOVA;
```

NOTE: The PROCEDURE PRINT used 13.00 seconds.

```
134 CLASS P TRAT;
135 MODEL V1 = P TRAT P*TRAT;
136 MEANS P TRAT P*TRAT;
137 MEANS TRAT/DUNCAN REGWF REGWQ;
138 TITLE 'ANALISE DE VARIANCIA COMBINACAO DE TRATAMENTOS ALIRO1';
139 PROC ANOVA; BY P;
```

NOTE: The PROCEDURE ANOVA used 3.43 minutes.

```
140 CLASS TRAT;
141 MODEL V1 = TRAT;
142 MEANS TRAT/DUNCAN REGWF REGWQ;
143 TITLE 'ANALISE DE VARIANCIA POR NUMERO PEIXES/AQUARIO DA ALIRO 1';
144 RUN;
```

NOTE: Interactivity disabled with BY processing.

DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO1

OBS	P	TRAT	REP	V1
1	1	1	1	1.750
2	1	1	2	1.375
3	1	1	3	1.625
4	1	1	4	2.250
5	1	2	1	2.375
6	1	2	2	2.000
7	1	2	3	2.125
8	1	2	4	2.000
9	1	3	1	2.000
10	1	3	2	1.000
11	1	3	3	2.000
12	1	3	4	2.000
13	1	4	1	2.125
14	1	4	2	1.625
15	1	4	3	2.000
16	1	4	4	2.250
17	1	5	1	1.750
18	1	5	2	2.000
19	1	5	3	1.250
20	1	5	4	2.000
21	1	6	1	2.125
22	1	6	2	2.500
23	1	6	3	2.125
24	1	6	4	2.375
25	1	7	1	1.625
26	1	7	2	1.500
27	1	7	3	1.125
28	1	7	4	1.625
29	1	8	1	1.750
30	1	8	2	1.375
31	1	8	3	1.250
32	1	8	4	1.750
33	1	9	1	1.500
34	1	9	2	1.375
35	1	9	3	1.000
36	1	9	4	2.250
37	1	10	1	2.250
38	1	10	2	2.000
39	1	10	3	1.625
40	1	10	4	2.125
41	1	11	1	2.750
42	1	11	2	2.250
43	1	11	3	2.750
44	1	11	4	2.625
45	1	12	1	2.750
46	1	12	2	2.000
47	1	12	3	2.125
48	1	12	4	1.750
49	1	13	1	1.375
50	1	13	2	1.000
51	1	13	3	1.250

OBS	P	TRAT	REP	V1
52	1	13	4	2.375
53	2	1	1	1.666
54	2	1	2	1.666
55	2	1	3	1.833
56	2	1	4	1.666
57	2	2	1	2.250
58	2	2	2	2.250
59	2	2	3	1.583
60	2	2	4	2.000
61	2	3	1	1.750
62	2	3	2	2.250
63	2	3	3	2.083
64	2	3	4	1.916
65	2	4	1	2.333
66	2	4	2	2.333
67	2	4	3	2.083
68	2	4	4	2.083
69	2	5	1	1.666
70	2	5	2	2.750
71	2	5	3	2.083
72	2	5	4	2.250
73	2	6	1	2.416
74	2	6	2	2.500
75	2	6	3	2.416
76	2	6	4	2.666
77	2	7	1	1.583
78	2	7	2	1.583
79	2	7	3	1.250
80	2	7	4	1.416
81	2	8	1	1.583
82	2	8	2	2.000
83	2	8	3	1.416
84	2	8	4	1.583
85	2	9	1	1.583
86	2	9	2	1.916
87	2	9	3	1.500
88	2	9	4	1.750
89	2	10	1	1.750
90	2	10	2	2.666
91	2	10	3	1.583
92	2	10	4	2.083
93	2	11	1	2.250
94	2	11	2	2.500
95	2	11	3	2.916
96	2	11	4	2.666
97	2	12	1	2.500
98	2	12	2	2.416
99	2	12	3	2.333
100	2	12	4	2.250
101	2	13	1	1.666
102	2	13	2	1.916
103	2	13	3	1.416
104	2	13	4	1.750

ANALISE DE VARIANCIA COMBINACAO DE TRATAMENTOS ALIRO1

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	25	12.22337765	0.48893511	4.90	0.0001
Error	78	7.77877400	0.09972787		
Total	103	20.00215165			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.611103	16.25356	0.3157972	1.94294231

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
P	1	0.41454188	0.41454188	4.16	0.0449
TRAT	12	11.26764865	0.93897072	9.42	0.0001
P*TRAT	12	0.54118712	0.04509893	0.45	0.9359

ANALISE DE VARIANCA COMBINAÇÃO DE TRATAMENTOS ALIRO1
 Analysis of Variance Procedure

Level of P (Número de peixes)	N	Mean	SD
1	52	1.87980769	0.46307366
2	52	2.00607692	0.41186595

Level of TRAT (subst)	N	Mean	SD
1	8	1.71887500	0.24806015
2	8	2.07887500	0.24279706
3	8	1.87487500	0.38054376
4	8	2.10900000	0.22921543
5	8	1.96862500	0.44087087
6	8	2.39037500	0.18608826
7	8	1.46837500	0.18688341
8	8	1.59337500	0.24245114
9	8	1.60925000	0.37322638
10	8	2.01525000	0.35951227
11	8	2.59337500	0.24016538
12	8	2.26550000	0.31010321
13	8	1.59350000	0.42994684

Level of P	Level of TRAT	N	Mean	SD
1	1	4	1.75000000	0.36799004
1	2	4	2.12500000	0.17677670
1	3	4	1.75000000	0.50000000
1	4	4	2.00000000	0.27003086
1	5	4	1.75000000	0.35355339
1	6	4	2.28125000	0.18750000
1	7	4	1.46875000	0.23662118
1	8	4	1.53125000	0.25769410
1	9	4	1.53125000	0.52415607
1	10	4	2.00000000	0.27003086
1	11	4	2.59375000	0.23662118
1	12	4	2.15625000	0.42542871
1	13	4	1.50000000	0.60380736
2	1	4	1.70775000	0.08350000
2	2	4	2.02075000	0.31473097
2	3	4	1.99975000	0.21520901
2	4	4	2.20800000	0.14433757
2	5	4	2.18725000	0.44840263
2	6	4	2.49950000	0.11785160
2	7	4	1.45800000	0.15945532
2	8	4	1.64550000	0.24910038
2	9	4	1.68725000	0.18456684
2	10	4	2.02050000	0.47789573
2	11	4	2.58300000	0.28021182
2	12	4	2.37475000	0.10754030
2	13	4	1.68700000	0.20840026

ANALISE DE VARIANCIA COMBINACAO DE TRATAMENTOS ALIRO1

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: V1

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 78 MSE= 0.099728

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	0.315	0.331	0.341	0.349	0.356	0.361

Number of Means	8	9	10	11	12	13
Critical Range	0.365	0.369	0.372	0.374	0.376	0.378

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping				Mean	N	TRAT
		A		2.593	8	11
		A				
B		A		2.390	8	6
B		A				
B		A	C	2.265	8	12
B			C			
B		D	C	2.109	8	4
B		D	C			
B	E	D	C	2.078	8	2
	E	D	C			
	E	D	C	2.015	8	10
	E	D	C			
	E	D	C	1.968	8	5
	E	D				
F	E	D		1.875	8	3
F	E					
F	E	G		1.718	8	1
F		G				
F		G		1.609	8	9
F		G				
F		G		1.593	8	13
F		G				
F		G		1.593	8	8
		G				
		G		1.468	8	7

ANALISE DE VARIANCIA POR NUMERO PEIXES/AQUARIO DA ALIRO1

----- P = 1 -----

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	12	5.77223558	0.48101963	3.63	0.0011
Error	39	5.16406250	0.13241186		
Total	51	10.93629808			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.527805	19.35753	0.3638844	1.87980769

ANALISE DE VARIANCIA POR NUMERO PEIXES/AQUARIO DA ALIRO1

----- P = 1 -----

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: V1

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.132412

Number of Means	2	3	4	5	6	7
Critical Range	0.520	0.547	0.565	0.577	0.587	0.595
Number of Means	8	9	10	11	12	13
Critical Range	0.601	0.607	0.611	0.614	0.618	0.620

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	2.594	4	11
A			
B A	2.281	4	6
B A			
B A	2.156	4	12
B A			
B A C	2.125	4	2
B C			
B D C	2.000	4	4
B D C			
B D C	2.000	4	10
B D C			
B D C	1.750	4	1
B D C			
B D C	1.750	4	5
B D C			
B D C	1.750	4	3
D C			
D C	1.531	4	9
D C			
D C	1.531	4	8
D			
D	1.500	4	13
D			
D	1.469	4	7

ANALISE DE VARIANCIA POR NUMERO PEIXES/AQUARIO DA ALIRO1

----- P = 2 -----

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	12	6.03660019	0.50305002	7.50	0.0001
Error	39	2.61471150	0.06704388		
Total	51	8.65131169			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.697767	12.90720	0.2589283	2.00607692

ANEXO 2. ANALISE ESTATISTICA DOS EXPERIMENTOS DO CAPITULO III

EXPERIMENTO 1

1285 OPTIONS LS=80 PS=64;
1286 DATA ALIRO 4;
NOTE: The PROCEDURE ANOVA used 8.00 minutes.
1287 INPUT TRAT REP V1;
1288 * EXPERIMENTO RESPOSTA ALIMENTAR DO ROBALO DIVERSAS MISTURAS DE
1289 AMINOACIDOS E/OU NUCLEOSIDEOS
1290 PESQUISADOR: ALIRO BORQUEZ RAMIREZ ENG. AQUICULTURA
1291 DELINEAMENTO: INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM 8 TRATS E 4 REPETICOES
1292 TRATAMENTOS:
1293 A = 10 AA
1294 B = 10 AA + URI + INO
1295 C = AA BASICOS
1296 D = AA POLARES
1297 E = AA NO POLARES
1298 F = NUCLEOSIDEOS
1299 G = PROLINA + ISOLEUCINA
1300 H = CONTROLE (SEM AMINOACIDO)
1301 UNIDADE EXPERIMENTAL = 1 AQUARIO COM 1 PEIXE COM 8 OBSERVACOES
1302 EM CADA PEIXE. CADA UNIDADE EXPERIMENTAL CORRESPONDE A MEDIA DE
1303 8 AMOSTRAS
1304 V1= PREFERENCIA DO PEIXE PELO TRAT DADO EM NOTAS DE 1= SEM RESPOSTA
1305 2= ORIENTACAO 3= APROXIMACAO 4= DEGUSTACAO 5= INGESTAO;
1306 CARDS;
1339 ;
NOTE: The data set WORK.ALIRO4 has 32 observations and 3 variables.
NOTE: The DATA statement used 9.00 seconds.
1340 PROC PRINT;
1341 TITLE 'DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO4';
1342 PROC ANOVA;
NOTE: The PROCEDURE PRINT used 7.00 seconds.
1343 CLASS TRAT;
1344 MODEL V1 = TRAT;
1345 MEANS TRAT/DUNCAN REGWF REGW0;
1346 TITLE 'ANALISE DE VARIANCIA DADOS ALIRO4';
1347 RUN;

DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO4

OBS	TRAT	REP	V1
1	1	1	2.875
2	1	2	2.375
3	1	3	1.625
4	1	4	2.375
5	2	1	2.375
6	2	2	2.500
7	2	3	2.750
8	2	4	2.500
9	3	1	1.875
10	3	2	1.375
11	3	3	2.500
12	3	4	1.875
13	4	1	2.625
14	4	2	1.750
15	4	3	2.000
16	4	4	2.000
17	5	1	2.125
18	5	2	1.857
19	5	3	2.375
20	5	4	2.750
21	6	1	3.250
22	6	2	3.000
23	6	3	3.000
24	6	4	2.750
25	7	1	2.625
26	7	2	3.125
27	7	3	2.375
28	7	4	2.625
29	8	1	1.500
30	8	2	1.750
31	8	3	1.375
32	8	4	1.625

ANALISE DE VARIANCIA DADOS ALIRO4

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	5.74282088	0.82040298	6.89	0.0002
Error	24	2.85861800	0.11910908		
Total	31	8.60143887			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.667658	15.02939	0.3451218	2.29631250

ANALISE DE VARIANCIA DADOS ALIRO4

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: V1

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.119109

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	0.503	0.529	0.546	0.557	0.565	0.572	0.578

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping		Mean	N	TRAT
	A	3.000	4	F
	A			
B	A	2.688	4	G
B	A			
B	A	2.531	4	B
B				
B	D	2.313	4	A
B	D			
B	D	2.250	4	E
	D			
	D	2.094	4	D
	D			
E	D	1.906	4	C
E				
E		1.562	4	H

EXPERIMENTO 2

1222 OPTIONS LS=80 PS=64;
1223 DATA ALIRO3;
NOTE: The PROCEDURE ANOVA used 8.10 minutes.
1224 INPUT TRAT REP V1;
1225 *EXPERIMENTO: RESPOSTA ALIMENTAR DO ROBALO A UMA MISTURA DE OITO
1226 AMINOACIDOS EM DIFERENTES CONCENTRACOES MOLARES
1227 PESQUISADOR: ALIRO BORQUEZ RAMIREZ ENG. AQUICULTURA
1228 DELINEAMENTO: INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM 8 TRATS E 4 REPETICOES
1229 TRATAMENTOS:
1230 1 = 0.01 M
1231 2 = 0.02 M
1232 3 = 0.04 M
1233 4 = 0.06 M
1234 5 = 0.08 M
1235 6 = 0.1 M
1236 7 = 0.2 M
1237 8 = 0.3 M
1238 UNIDADE EXPERIMENTAL = 1 AQUARIO COM 1 PEIXE COM 8 OBSERVACOES EM
1239 CADA PEIXE. CADA UNIDADE EXPERIMENTAL CORRESPONDE A MEDIA DE 8
1240 SUBAMOSTRAS
1241 V1= PREFERENCIA DO PEIXE PELO TRAT DADO EM NOTAS DE 1= SEM RESPOSTA
1242 2= ORIENTACAO 3= APROXIMACAO 4= DEGUSTACAO 5= INGESTAO;
1243 CARDS;
1276 ;
NOTE: The data set WORK.ALIRO3 has 32 observations and 3 variables.
NOTE: The DATA statement used 9.00 seconds.
1277 PROC PRINT;
1278 TITLE 'DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO3';
1279 PROC ANOVA;
NOTE: The PROCEDURE PRINT used 7.00 seconds.
1280 CLASS TRAT;
1281 MODEL V1 = TRAT;
1282 MEANS TRAT/DUNCAN REGWF REGWD;
1283 TITLE 'ANALISE DE VARIANCIA DADOS ALIRO3';
1284 RUN;

DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO3

OBS	TRAT	REP	V1
1	1	1	2.875
2	1	2	2.375
3	1	3	1.625
4	1	4	2.375
5	2	1	2.625
6	2	2	2.500
7	2	3	1.750
8	2	4	2.625
9	3	1	2.625
10	3	2	2.750
11	3	3	2.125
12	3	4	2.375
13	4	1	2.875
14	4	2	3.000
15	4	3	1.750
16	4	4	2.500
17	5	1	3.000
18	5	2	3.000
19	5	3	2.375
20	5	4	2.750
21	6	1	3.000
22	6	2	2.875
23	6	3	2.500
24	6	4	2.500
25	7	1	3.000
26	7	2	2.875
27	7	3	2.875
28	7	4	2.500
29	8	1	2.875
30	8	2	2.875
31	8	3	2.750
32	8	4	2.625

ANALISE DE VARIANCIA DADOS ALIROS

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	1.12060547	0.16008656	1.22	0.3309
Error	24	3.15234375	0.13134766		
Total	31	4.27294922			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.262256	13.95178	0.3624192	2.59765625

ANALISE DE VARIANCA DADOS ALIROS

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: V1

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df=24 MSE= 0.131348

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	0.528	0.555	0.574	0.585	0.594	0.601	0.607

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	2.813	4	7
A			
A	2.781	4	8
A			
A	2.781	4	5
A			
A	2.719	4	6
A			
A	2.531	4	4
A			
A	2.469	4	3
A			
A	2.375	4	2
A			
A	2.313	4	1

ANEXO 3. ANALISE ESTATÍSTICA DO EXPERIMENTO DO CAPÍTULO IV

```

1348  OPTIONS LS=80 PS=64;
1349  DATA ALIRO5;
NOTE: The PROCEDURE ANOVA used 12.92 minutes.
1350  INPUT FONTES TRAT REP V1 COMB;
1351  *EXPERIMENTO: RESPOSTA ALIMENTAR DO ROBALO A ESTRATOS
1352                NATURAIS E ARTIFICIAIS
1353  PESQUISADOR: ALIRO BORQUEZ RAMIREZ  ENG. AQUICULTURA
1354  DELINEAMENTO: INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM FATORIAL A*B E
1355                4 REPETICOES POR COMBINACAO
1356  FATOR A = FONTES
1357                1 = FONTE NATURAL
1358                2 = FONTE ARTIFICIAL
1359  FATOR B = ISCAS
1360                1 = CAMARAO
1361                2 = LULA
1362                3 = TAINHA
1363                4 = TILAPIA PARA A=1 E LANGOBUDS PARA A=2
1364  UNIDADE EXPERIMENTAL = 1 AQUARIO COM 1 PEIXE
1365  V1= PREFERENCIA DO PEIXE PELO TRAT DADO EM NOTAS DE 1= SEM
1366  REACAO 2= ORIENTACAO 3= APROXIMACAO 4= DEGUSTACAO 5= INGESTAO
1367  CARDS;
1400  ;
NOTE: The data set WORK.ALIRO5 has 32 observations and 5 variables.
NOTE: The DATA statement used 10.00 seconds.
1401  PROC SORT; BY COMB FONTES TRAT REP;
1402  PROC PRINT
NOTE: The data set WORK.ALIRO5 has 32 observations and 5 variables.
NOTE: The PROCEDURE SORT used 7.00 seconds.
1403  TITLE 'DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIRO5';
1404  PROC ANOVA;
NOTE: The PROCEDURE PRINT used 7.00 seconds.
1405  CLASS COMB;
1406  MODEL V1 = COMB;
1407  MEANS COMB/DUNCAN REGWF REGWQ;
1408  TITLE 'ALIRO5 ANAL COMPARANDO AS 8 COMBINACOES';
1409  RUN;

```

DADOS ORIGINAIS ARQUIVO ALIROS

OBS	FONTES	TRAT	REP	V1	COMB
1	1	1	1	2.625	1
2	1	1	2	3.000	1
3	1	1	3	2.375	1
4	1	1	4	4.000	1
5	1	2	1	3.375	2
6	1	2	2	2.750	2
7	1	2	3	2.500	2
8	1	2	4	3.125	2
9	1	3	1	2.625	3
10	1	3	2	3.125	3
11	1	3	3	2.500	3
12	1	3	4	2.625	3
13	1	4	1	2.000	4
14	1	4	2	1.500	4
15	1	4	3	1.750	4
16	1	4	4	2.250	4
17	2	1	1	2.875	5
18	2	1	2	2.875	5
19	2	1	3	2.500	5
20	2	1	4	2.375	5
21	2	2	1	3.250	6
22	2	2	2	2.875	6
23	2	2	3	3.250	6
24	2	2	4	2.500	6
25	2	3	1	2.625	7
26	2	3	2	2.875	7
27	2	3	3	2.750	7
28	2	3	4	1.875	7
29	2	4	1	2.375	8
30	2	4	2	2.250	8
31	2	4	3	2.500	8
32	2	4	4	2.250	8

ALIR05 ANAL COMPARANDO AS 8 COMBINACOES

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	4.06591797	0.58084542	3.71	0.0074
Error	24	3.76171875	0.15673828		
Total	31	7.82763672			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.519431	15.05957	0.3959019	2.62890625

ALIRQS ANAL. COMPARANDO AS 8 COMBINACOES

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: V1

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.156738

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8
Critical Range	0.577	0.606	0.627	0.639	0.649	0.656	0.663

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	COMB
A	3.000	4	1
A	2.969	4	6
A	2.938	4	2
A	2.719	4	3
A	2.656	4	5
A	2.531	4	7
A	2.344	4	8
B	1.875	4	4

ALIR05 ANAL DO FATORIAL FONTES COM TRAT

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: V1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.74739583	0.14947917	0.95	n.s.
Error	18	3.40625000	0.15673828		
Total	23	4.15364583			

R-Square	C.V.	Root MSE	V1 Mean
0.179937	15.52462	0.4350128	2.80208333

Source	DF	ANOVA SS	Mean Square	F Value	Pr > F
FONTES	1	0.16666667	0.16666667	1.0633	n.s.
TRAT	2	0.43880208	0.21940104	1.3998	n.s.
FONTES*TRAT	2	0.14192708	0.07096354	0.4527	n.s.