

TEOR DE PROTEÍNA BRUTA E RENDIMENTO DE FILÉ DE ALEVINOS DE TILÁPIA-DO-NILO SUPLEMENTADOS COM TRIPTOFANO DIETÉTICO: EFEITO DO TRIPTOFANO DIETÉTICO SOBRE O FILÉ DE TILÁPIAS-DO-NILO

Beatrice Ramos da Silva¹, Gislaine Aparecida Refundini², Graciela de Lucca Braccini³, Jaísa Caseta⁴, Bruno Lala⁵, Stefania Caroline Claudino da Silva⁶

^{1,2}Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsistas PIBIC/ICETI- UniCesumar. bia-loanda@hotmail.com, refundinigislaine@gmail.com

³Docente do Departamento de Agronegócios, UNICESUMAR, Maringá/PR. grabraccini@gmail.com

⁴Discente de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, PPZ-UEM. Maringá/PR. jaisacasetta@hotmail.com

⁵Docente do Departamento de Medicina Veterinária – UniFatecie. Paranavaí, Pr. brunolala@hotmail.com

⁶Docente do Departamento de Zootecnia – UEM. Maringá, Pr. scsilva@uem.br

RESUMO

No Brasil, a tilapicultura desempenha papel importante na economia. Dentre os diversos fatores que podem afetar a produção de tilápias destacam-se aqueles relacionados à qualidade nutricional das dietas. A suplementação de aminoácidos favorece a redução de custos, por meio de menor uso de alimentos proteicos, além de reduzir o impacto ambiental, uma vez que ocorre menor excreção nitrogenada. Para testar tal hipótese, foi realizado um ensaio submetendo alevinos de tilápias ao cultivo com duas dietas distintas, com níveis normais e com oito vezes mais triptofanos que o recomendado por 60 dias, e avaliados o rendimento de filé com pele (FCP), filé sem pele (FSP), porcentagem de vísceras (VSC), proteína bruta (PB%), rendimento de carcaça limpa (RCL), pele (P) e peso de cabeça (PC). Os valores lipídeos totais e a eficiência alimentar foram comparados entre os dois grupos por meio de teste T de *Student* em nível de significância de 5%. Os animais suplementados com triptofano extra apresentaram maior FCP ($p=0,001$), de FSP ($p<0,0001$) e menor porcentagem de VSC ($p<0,0001$) comparado aos animais do grupo controle. Não houve diferença para PB% ($p=0,767$), RCL ($p=0,611$), pele ($p=0,819$) e PC ($p=0,955$). Apesar do melhor desempenho relacionado ao filé, os níveis de coeficiente de variação dos animais suplementados com triptofano foi em média 76,5% maior que dos animais controle. Diante disso, é possível inferir que, apesar do aumento do rendimento de filé, a suplementação de triptofano nas condições avaliadas pode causar desuniformidade dos lotes em longo prazo.

PALAVRAS-CHAVE: Produção animal; *Oreochromis niloticus*; Tilapicultura.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CENÁRIO DA PESQUISA

No Brasil, a tilapicultura desempenha papel importante na economia; o preço praticado para o filé de tilápia nas principais regiões metropolitanas do país alcança valores muito positivos, entre R\$ 33 e R\$ 41 por quilo, o que torna pesquisas com esta espécie extremamente interessante quando comparada a outras espécies como a Merluza, principal substituta do filé de tilápia em consumo (Barroso et al., 2017), que apresenta valores entre R\$ 25 e 30 por quilo de filé. Além disso, a tilapicultura contribui ativamente para economia do estado do Paraná, que atualmente possui a maior produção nacional de tilápia (PeixeBR, 2019).

Dentre os diversos fatores que podem afetar a produção de tilápias destacam-se aqueles relacionados à baixa qualidade nutricional das dietas (Huang et al., 1997), sendo a proteína a porção mais cara (KUBITZA, 2011). A suplementação de aminoácidos favorece a redução de custos, por meio de menor uso de alimentos proteicos, além de reduzir o impacto ambiental, uma vez que ocorre menor excreção nitrogenada.

O triptofano, um aminoácido, aromático e apolar, é um dos aminoácidos essenciais para tilápias, e deve ser obtido através de alimentação. Embora em baixa concentração, este aminoácido participa da síntese de serotonina, que está associada a sensação de

saciedade, redução dos níveis séricos de cortisol, alteração de humor, depressão e regulação do sono (Lucki, 1998; Le Floc'h; Otten; Merlot, 2011) por meio da síntese de melatonina.

Possui ainda ação antioxidante, oncostática, regulação do sistema imunológico, cardíaco, manutenção óssea, e alterações hormonais (Lucki, 1998; Pandi-Perumal et al., 2006). Ele está entre os aminoácidos que mais afetam o ganho em peso dos animais, caso sua concentração esteja aquém ou além das exigências (WANG; CASTANON; PARSONS, 1997).

1.2 ANTECEDENTES

Em animais de produção, a suplementação com triptofano comprovadamente reduz o comportamento agressivo, melhora a padronização dos lotes, e diminui o canibalismo, especificamente em peixes adultos (Winberg; Øverli; Lepage, 2001; Øverli; Kotzian; Winberg, 2002; Hseu et al, 2003; Höglund et al., 2005), e alevinos (Król; Zakeš, 2016). A suplementação dietética pode ainda causar alterações fisiológicas e, concomitantemente, alterar alguns metabólitos (SCHOCK et al., 2012; GUO et al., 2014; GIL-SOLSONA et al., 2019).

Do ponto de vista metabólico e fisiológico, o triptofano é hidroxilado a 5-hidroxitriptofano, e depois descarboxilado, dando origem a serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT), e posteriormente, a melatonina (Ruddick et al., 2006). A serotonina, por sua vez, é sintetizada e armazenada principalmente no Sistema Nervoso Central (SNC) e nas células enterocromafins do sistema gastrointestinal. Aparentemente, a regulação serotoninérgica do sistema nervoso central (SNC) envolve o estímulo vagal e o microbioma intestinal, sendo esta regulação bidirecional.

De forma pontual e direta, a regulação se dá por meio da modulação sinérgica de alguns ácidos graxos e metabólitos de triptofano do microbioma, os quais atuam sobre a superfície de células enterocromafins, ou ainda, atravessam em direção a barreira hematoencefálica promovendo sinalização neural, modulação do neurotransmissor GABA e conseqüentemente, regulação da ingestão alimentar (HAGHIKIA et al., 2015; O'MAHONY et al., 2015; YANO et al., 2015; MARTIN et al., 2018).

De forma recíproca, o sistema nervoso autônomo pode ativar as células enterocromafins para liberação de 5-HT no lúmen intestinal, e modular o microbioma intestinal (MAYER; SAVIDGE; SHULMAN 2014; MARTIN et al., 2018) (Fig. 1).

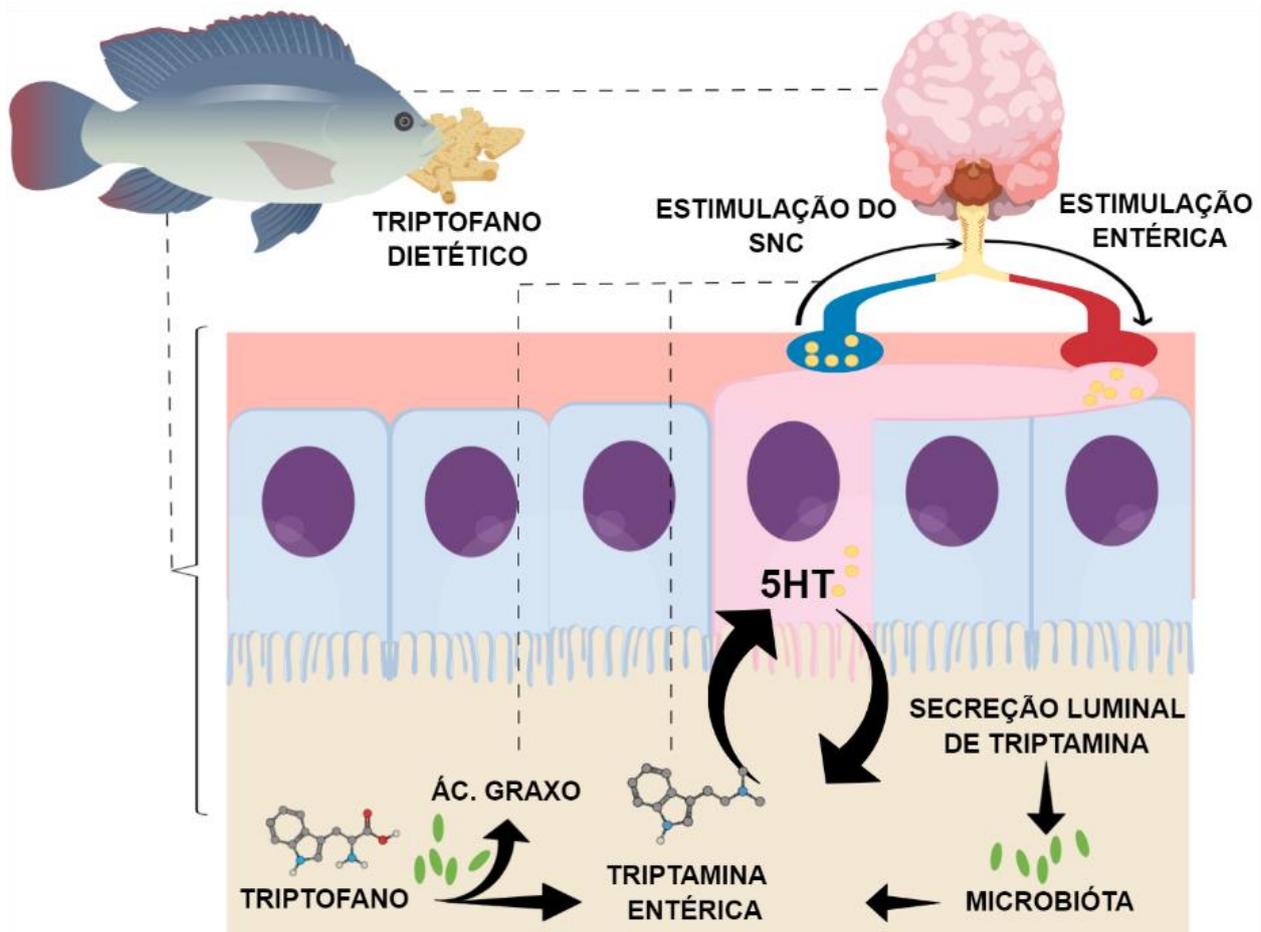


Figura 1: Relação da sinalização da serotonina (5HT) com a interação entre microbioma intestinal e SNC. A síntese de 5HT nas células enterocromafins é modulada pela estimulação dos produtos da microbiota, como ácidos graxos e outros metabólitos. As células enterocromafins são capazes de estimular as fibras nervosas aferentes. Este estímulo pode ocorrer ainda quando os ácidos graxos e demais metabólitos atravessam a barreira intestinal em direção a barreira hematoencefálica. De forma recíproca, o SNA pode estimular as células enterocromafins a liberar 5HT no lúmen intestinal, onde pode interagir com microbioma, modulando a disponibilidade do triptofano dietético

Fonte: ROLDI (2020)

A presença de fatores estressantes diversos pode favorecer comportamento agonístico nos animais, com redução de consumo e aumento da taxa de natação para fuga (Van de Nieuwegiessen et al., 2008). Este comportamento pode favorecer o aumento de atividade na musculatura branca e potencializar as taxas de glicólise anaeróbica, modulando os padrões de produção de ácido láctico, pH do músculo e consumo de ácidos graxos das fibras musculares (Poli et al., 2005; Rahmanifarah et al., 2011; Goes et al., 2015), gerando um filé de baixa qualidade.

1.3 LACUNA E OBJETIVOS

Dada a sua relação direta com a síntese de serotonina, a suplementação dietética de triptofano pode reduzir alguns parâmetros fisiológicos relativos ao estresse (Lepage et al., 2005) e comportamento agonístico em peixes (Höglung et al., 2005; Winberg et al., 2001 e Wolkers et al., 2012; Barbosa et al., 2019), possibilitando maior deposição de massa muscular e melhoria da qualidade do filé. Em contrapartida, a suplementação além do

necessário pode causar apatia, redução da capacidade de interação social e por fim, redução do consumo de ração.

1.4 CONTRIBUIÇÕES

Por fim, é provável que a suplementação de triptofano afete diretamente a produção de tilápia, principalmente na primeira fase criação, e altere tanto a eficiência alimentar, quanto a concentração de lipídeos no filé nestes animais. Para testar tal hipótese, foi realizado um ensaio submetendo alevinos de tilápias ao cultivo com duas dietas distintas, com níveis normais e com oito vezes mais triptofanos que o recomendado.

2 METODOLOGIA

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ASPECTOS ÉTICOS

Os procedimentos neste experimento foram submetidos a aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho - UNESP - Botucatu - Brasil.

2.2 LOCAL DO ESTUDO

O projeto foi conduzido em uma propriedade privada situada latitude -23.446302 e longitude -51.935163, no município de Maringá-Pr.

2.3 COLETA DOS DADOS

Foram utilizados 180 alevinos revertidos sexualmente para macho da linhagem GIFT, com peso médio inicial de aproximadamente 1g, provenientes de piscicultura local.

O desenho experimental adotado foi o delineamento blocos casualizados (DBC), sendo cada hapa considerada como bloco. Os peixes foram distribuídos em 6 hapas (0,40 x 0,58 x 0,34), sendo três hapas para Dieta controle (CONTROLE – níveis recomendados de acordo com NRC) e três para suplementação extra (TRIPTOFANO – oito vezes a recomendação do NRC). Os peixes foram submetidos a sete dias de adaptação às instalações e densidades antes do início do experimento, como segue:

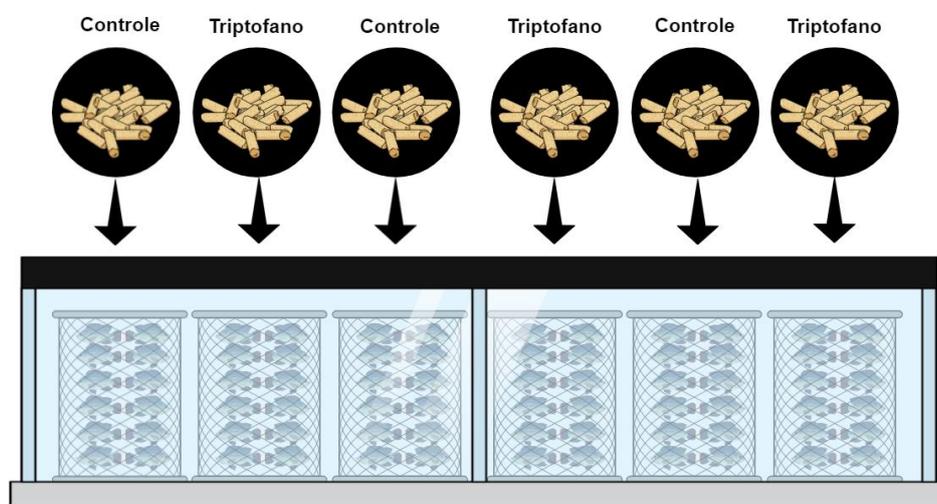


Figura 2: Esquema experimental com duas densidades de cultivo, baixa (1,5 L /peixe) e alta (3 L /peixe), com três repetições cada. Todos os animais consumiram a mesma dieta.

Fonte: ROLDI (2020).

As mortalidades foram tomadas e anotadas nos quatro períodos de alimentação; para todas as hapas de forma individual.

A temperatura do ar e água foi aferida diariamente com auxílio de termômetro apropriado em todos os tanques, sempre as 8 horas da manhã. As medidas de cada repetição foram anotadas e posteriormente avaliadas. A taxa de renovação de água foi de 30 % ao dia e aeração foi constante por meio de pedra porosa acoplada a um soprador central, para garantir a oxigenação recomendada.

Foram elaboradas duas dietas isoproteicas e isoenergéticas com aproximadamente 3000 kcal ED/kg de dieta e 29% de proteína digestível, diferindo apenas quanto a suplementação de triptofano.

Tabela 1: MS (Matéria Seca); EB (Energia Bruta); PB (Proteína Bruta); ED (Energia Digestível); PD (Proteína Digestível); FB (Fibra Bruta); EE (Extrato Etéreo); Ca (Cálcio); P disp. (Fósforo disponível); ED/PD (relação Energia Digestível/Proteína Digestível)

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (%)
Soja, farelo-45	43,50	43,50
Concent. Protéico de Soja	10,00	10,00
Vísceras, farinha	5,00	5,00
Milho, grão	33,04	33,04
Soja, óleo	0,50	0,50
Trigo, farelo	2,00	2,00
DL-metionina	0,22	0,22
L-Treonina	0,36	0,36
L-Triptofano	0,32	2,56
Fosfato bicálcico	2,01	2,01
Inerte (caulim)	2,24	0,00
BHT	0,02	0,02
PremixVit/min	0,60	0,60
Vit. C	0,09	0,09
NaCl	0,10	0,10
Total	100,00	100,00

Fonte: Dados da pesquisa

Para avaliar a qualidade de água as variáveis pH, amônia e oxigênio dissolvido foram aferidas a cada três dias com auxílio de kits individuais, e os valores anotados (PIPER ET AL., 1982).

Para determinação dos níveis de amônia foi usado o kit comercial Amônia tóxica (água doce) LabconTest® que possui sensibilidade de variação de leitura da amostra inicial entre 0 e 6,5 ppm, de acordo com a seguinte escala colorimétrica.



Figura 3: Escala colorimétrica para determinação de amônia. Adaptado do kit comercial Amônia tóxica (água doce) LabconTest®

Fonte: Dados da pesquisa

Os valores diretos obtidos na escala colorimétrica foram então correlacionados com temperatura da água e pH, e assim determinadas os valores ideais de acordo com a tabela

de correlação fornecida pelo fabricante. Foi considerado dentro dos padrões mínimos para o bem-estar dos animais medidas ajustadas menores que 0,020 ppm.

Para determinação do PH foi usado o kit comercial LabconTest® que possui sensibilidade de variação entre 6,2 e 7,5. Foi considerado dentro dos padrões mínimos para o bem-estar dos animais medidas entre 6,8 e 7,2; de acordo com a seguinte escala colorimétrica:

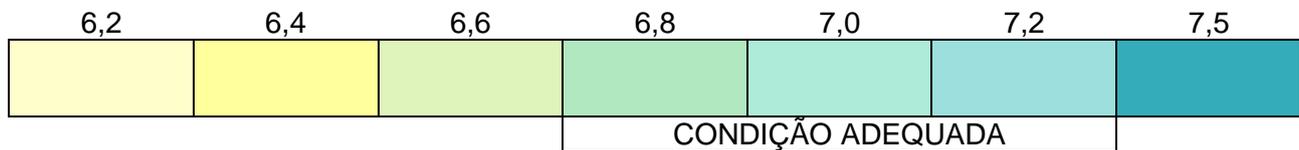


Figura 4: Escala colorimétrica para determinação de pH. Adaptado do kit comercial pH para aquários de água doce, LabconTest®

Fonte: Dados da pesquisa

Para determinação das concentrações de O₂ dissolvido foi usado o kit comercial LabconTest® que possui sensibilidade de variação entre 0 e 11 ppm (ponto de saturação). Foi considerado dentro dos padrões mínimos para o bem-estar dos animais medidas acima de 4 ppm de O₂, de acordo com a seguinte escala colorimétrica:

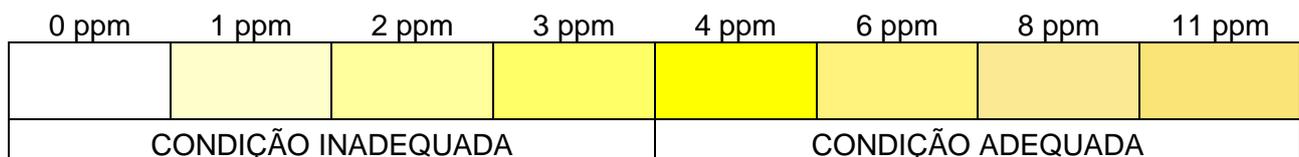


Figura 5: Escala colorimétrica para determinação de O₂. Adaptado do kit comercial de O₂ dissolvido para aquários de água doce, LabconTest®

Os animais foram alimentados quatro vezes ao dia (7h, 11h, 15h e 19h), até saciedade aparente. Inicialmente os animais receberão dieta farelada, e a granulometria adaptada dentro do período experimental de 60 dias.

2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Antes do abate, os animais foram anestesiados com auxílio de eugenol de acordo com as concentrações recomendadas pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA). Após o abate foi realizada a retirada do filé do lado direito dos animais, e enviado para análise de proteína bruta, cuja determinação foi realizada pelo método de Kjeldahl.

O método de Kjeldahl determina a matéria nitrogenada total de uma amostra. O método foi realizado em três etapas: digestão, destilação e titulação. A digestão consistiu na transformação do nitrogênio das substâncias nitrogenadas, por ebulição com ácido sulfúrico concentrado e catalisadores, em sulfato de amônio. Na destilação, o sulfato de amônio foi tratado com hidróxido de sódio em excesso, liberando amônia sob a forma de hidróxido de amônio, que foi destilado e recolhido em ácido bórico. O nitrogênio foi então determinado por titulação com ácido clorídrico valorado, ao vermelho de metila (IAL, 2008). A determinação do teor de nitrogênio foi realizada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Nitrogênio total (\%)} = \frac{V \times M \times f \times 0,014 \times 100}{P}$$

Onde:

V = volume de solução de ácido utilizado (mL);

M = concentração molar teórica da solução de ácido utilizado;
f = fator de correção da solução de ácido utilizado;
P = massa da amostra úmida (g).

Após a determinação do teor de nitrogênio total (%) este foi multiplicado por 6,25 para a estimativa da proteína bruta (PB%) do filé. A determinação do rendimento de filé foi realizada de acordo com a figura 6.

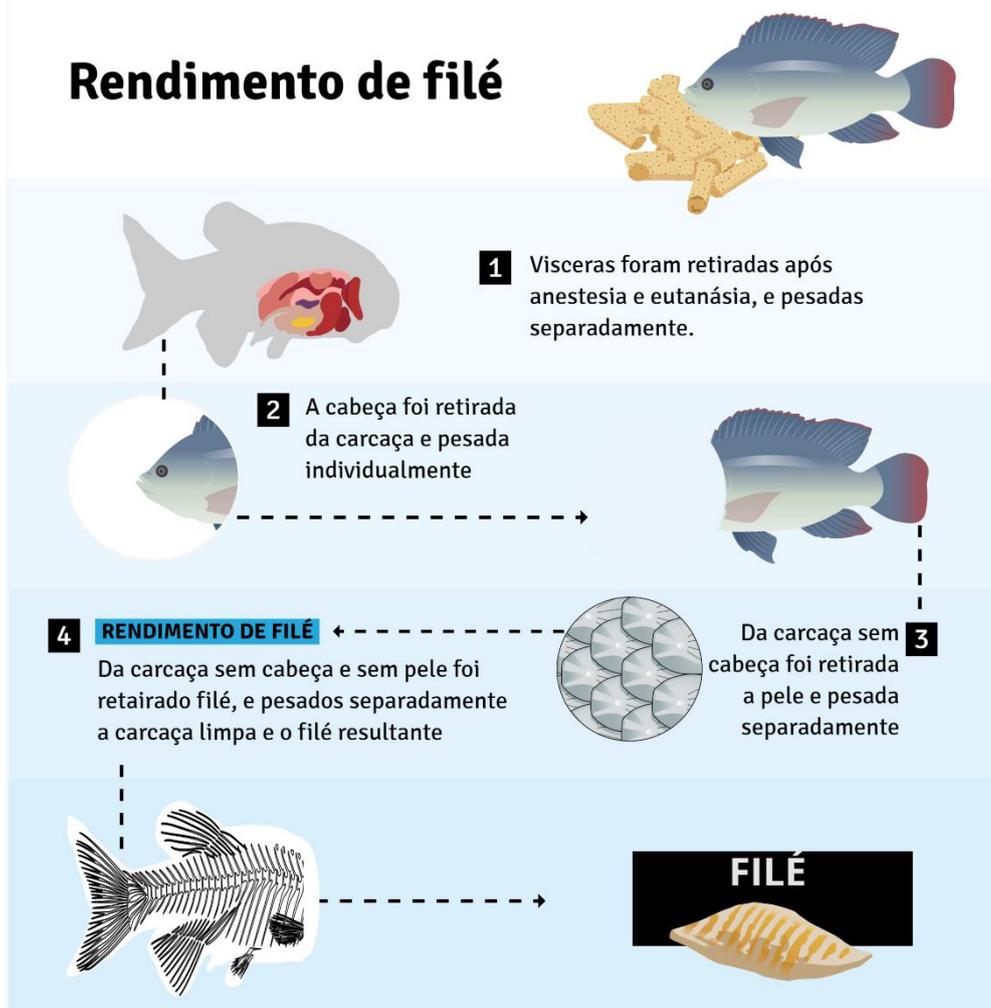


Figura 6: Determinação do rendimento de filé
Fonte: Dados da pesquisa

Para determinação do rendimento de filé foi realizada a retirada do filé do lado esquerdo dos animais e somado ao peso do filé do lado direito, anteriormente retirado para análise de proteína bruta, e este peso aplicado a seguinte equação:

$$\text{Rendimento de filé (\%)} = \frac{\text{peso do filé (g)}}{\text{peso corporal total(g)}} \times 100$$

Os valores PB% e rendimento de filé foram então comparados entre os dois grupos por meio de teste T de Student em nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS

A mortalidade observada foi de 16% (CONTROLE) e 12% (TRIPTOFANO), sem diferença estatística entre os grupos. Não houve diferença para os valores das variáveis oxigênio dissolvido ($6,5 \pm 1,2 \text{ mg L}^{-1}$), NH_3 ($0,0014 \pm 0,001 \text{ mg L}^{-1}$), pH ($6,85 \pm 0,3$) e temperatura ($23,6 \pm 1,5 \text{ }^\circ\text{C}$) entre as hapas.

Os animais suplementados com triptofano extra apresentaram maior rendimento de filé com pele ($p=0,001$), de filé sem pele ($p<0,0001$) e menor porcentagem de vísceras ($p<0,0001$) comparado aos animais do grupo controle (Fig. 7). Não houve diferença para PB% ($p=0,767$), rendimento de carcaça limpa ($p=0,611$), pele ($p=0,819$) e peso de cabeça ($p=0,955$).

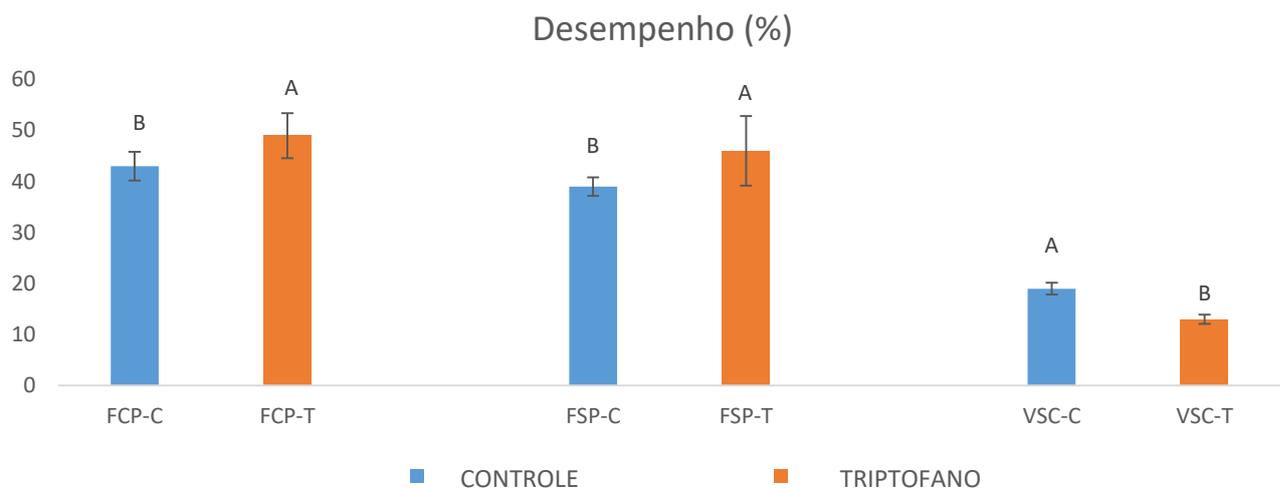


Figura 7: Rendimento de Filé Com Pele (FCP), Filé Sem Pele (FSP) e Vísceras (VSC) observados entre animais do grupo controle (C) e triptofano (T). Letras diferentes sobre as barras de desvio padrão indicam diferença estatística pelo teste t de Student a 5% de significância

Fonte: Dados da pesquisa

4 DISCUSSÃO

A suplementação dietética de triptofano tem se mostrado ambígua dependendo da espécie e da fase avaliada. Em juvenis de *Sparus aurata*, o triptofano pode melhorar o status imunológico após duas semanas de suplementação (RAMOS-PINTO et al. 2019). Em contrapartida, quando o triptofano dietético foi oferecido 30% acima do seu nível necessário para robalos (*Dicentrarchus labrax*), estes apresentaram aumento do cortisol plasmático, além da redução de linfócitos e monócitos / macrófagos quando desafiados com infecção bacteriana (MACHADO, M. et al. 2019).

Na piscicultura, ambientes de confronto, predação, ou até mesmo de disputa territorial têm sido frequentemente associados ao aumento do cortisol. O balanço entre a produção de cortisol e serotonina está intimamente relacionado. O alto nível de cortisol, assim como o de triptofano, por períodos prolongados estimula a produção de quinurenina, sintetizada primariamente no fígado, e que tem como substrato o triptofano. A quinurenina é um intermediário na rota da produção de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD), uma coenzima que atua em processos de oxidação-redução (Chen; Guillemin, 2009; Garten et al., 2009).

A elevação na produção de quinurenina promove a diminuição da concentração de triptofano disponível para síntese de serotonina (Leonard, 2005). Por outro lado, o aumento

nos níveis de triptofano, que pode ser fornecido por dietas, leva a uma maior produção de serotonina, melhorando a resposta ao estresse (MARKUS et al., 2000).

O crescimento corporal na maioria dos peixes ocorre por hiperplasia e hipertrofia muscular, que são influenciadas por diferentes fatores regulatórios, como níveis de miostatina, GH, IGF1, dentre outros. A regulação destes fatores é, em sua maioria, dependente da disponibilidade energética e de aminoácidos, que deve ser superior às exigências mínimas de manutenção. Além disso, fatores relacionados ao estresse, como níveis de cortisol, por exemplo, são frequentemente associados à redução de desempenho nos animais.

Em nossa pesquisa, os animais do grupo triptofano apresentaram melhor rendimento de filé quando comparados aos do grupo controle, indicando maior destinação de nutrientes disponíveis da dieta para a produção. De modo semelhante ao observado em nossa pesquisa, a suplementação dietética com triptofano em patos melhorou o ganho de peso sem alterar o consumo de ração (LIU et al., 2015). De forma oposta, a suplementação dietética de triptofano aumentou o consumo de ração em porcas em lactação e, conseqüentemente, o ganho em peso da leitegada ao desmame (MIAO et al., 2019).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do melhor desempenho relacionado ao filé, os níveis de coeficiente de variação dos animais suplementados com triptofano foi 38,46% maior para filé com pele, 214,89% maior para filé limpo e 16,66% maior para teor de vísceras. Mesmo para as variáveis que não apresentaram diferença estatística, este aumento do coeficiente de variação para os animais suplementados com triptofano também ocorreu: rendimento de carcaça limpa (37,03%), pele (8,34%) e peso de cabeça (143,66%). Este aumento de CV% generalizado evidencia que a resposta à suplementação é dependente dos fatores individuais de cada animal. Esta teoria é suportada de forma clara por Gibson, E. (2018), que comprovou a interação entre sexo x genótipo x fatores estressantes e os níveis de suplementação de triptofano. Assim, no cultivo de tilápias, poderíamos acrescentar ainda os fatores associados a inversão sexual, e a interação do sexo morfológico e genético. Diante destes fatores, e do aumento do CV% observados, é possível inferir que esta suplementação pode causar desuniformidade dos lotes em longo prazo.

REFERÊNCIAS

ALFARO, Andrea C.; YOUNG, Tim. Show casing metabolomic applications in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 1, p. 135-152, 2018.

BARBOSA, H. P.; LIMA-MAXIMINO M. G.; MAXIMINO, C. Acute fluoxetine differently affects aggressive display in zebrafish phenotypes. **Aggressive behavior**, v. 45, n. 1, p. 62-69, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/ab.21797>.

BARROSO, Renata Melon; MEZZALIRA, Ruth Beatriz; MUNOZ, AEP. O mercado da tilápia-2 trimestre de 2017 e Análise da estrutura do preço da tilápia no varejo. Embrapa Pesca e Aquicultura-Outras publicações técnicas (INFOTECA-E), 2017.

BARTON, Bruce A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and comparative biology**, v. 42, n. 3, p. 517-525, 2002.

BEYOĞLU, Diren; IDLE, Jeffrey R. Metabolomics and its potential in drug development. **Biochemical pharmacology**, v. 85, n. 1, p. 12-20, 2013.

CHEN, Y.; GUILLEMIN, G. J. Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states. **International Journal of Tryptophan Research**, v. 2, p. IJTR. S2097, 2009. DOI: <https://doi.org/10.4137/IJTR.S2097>.

GARTEN, A.; PETZOLD, S.; KÖRNER, A.; IMAI, S.; KIESS, W. Nampt: linking NAD biology, metabolism and cancer. **Trends in endocrinology ; metabolism**, v. 20, n. 3, p. 130-138, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.10.004>.

GIBSON, E. (2018). Tryptophan supplementation and serotonin function: Genetic variations in behavioural effects. **Proceedings of the Nutrition Society**, 77(2), 174-188. DOI: 10.1017/S0029665117004451.

GOES, Elenice SR et al. Pre-slaughter stress affects ryanodine receptor protein gene expression and the water-holding capacity in fillets of the Nile tilapia. **PloSone**, v. 10, n. 6, p. e0129145, 2015.

GUO, C. HUANG, X.; YANG, M.; WANG, S.; REN, S.; LI, H.; PENG, X. GC/MS-based metabolomics approach to identify biomarkers differentiating survivals from death in crucian carps infected by *Edwardsiella tarda*. **Fish ; shellfish immunology**, v. 39, n. 2, p. 215-222, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.017>.

GUYTON, A. C. Tratado de Fisiologia Médica/Arthur C Guyton, John E. Hall: tradução Bárbara de Alencar Martins, et al. 12ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 921, 2011a, 2011.

HAGHIKIA, A.; JORG, S.; DUSCHA, A.; BERG, J.; MANZEL, A.; WASCHBISCH, A.; HAMMER, A.; LEE, DH.; MAY, C.; WILCK, N.; BALOGH, A.; OSTERMANN, A.I.; SCHEBB, N.H; AKKAD, D. A.; GROHME, D. A.; KLEINWIETFIELD, M.; KEMPA, S.; THONE, J.; DEMIR, S.; MULLER, D. N.; GOLD, R.; LINKER, R. A. Dietary fatty acids directly impact central nervous system autoimmunity via the small intestine. **Immunity**, v. 43, n. 4, p. 817-829, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.09.007>.

HÖGLUND, E.; BAKKE, M.J.; ØVERLI, Ø.; WINBERG, S.; E. NILSSON, S. Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by l-tryptophan supplementation. **Aquaculture**, v. 249, n. 1-4, p. 525-531, 2005. DOI: 467 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.028>.

HSEU, J. R.; LU, F.I.; SU, H.M.; WANG, L.S.; TSAI, C.L.; HWANG, P. P. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. **Aquaculture**, v. 218, n. 1-4, p. 251-263, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00503-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00503-3).

HUANG, W.-B.; CHIU, T.-S. Effects of stocking density on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry. **Aquaculture research**, v. 28, n. 3, p. 165-173, 1997. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.t01-1-00843.x>.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4.ed. São Paulo: IAL, 2008.

KRÓL, J.; ZAKĘŚ, Z.; Effect of dietary L-tryptophan on cannibalism, survival and growth in pikeperch *Sander lucioperca* (L.) post-larvae. **Aquaculture International**, v. 24, n. 2, p. 441-451, 2016. DOI 10.1007/s10499-015-9936-1.

LE FLOC'H, N.; OTTEN, W.; MERLOT, E. Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. **Amino acids**, v. 41, n. 5, p. 1195-1205, 2011. DOI 10.1007/s00726-010-0752-7.

LEPAGE, O.; T. LARSON, E; MAYER, I.; WINBERG, S. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant–subordinate relationships and aggression in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 48, n. 2, p. 233-242, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.02.012>.

LOPES, Ivã Guidini; DE OLIVEIRA, Renan Gracia; RAMOS, Fabrício Menezes. Perfil do consumo de peixes pela população brasileira. **Biota Amazônia** (BioteAmazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), v. 6, n. 2, p. 62-65, 2016.

LUCKI, Irwin. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. **Biological psychiatry**, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(98\)00139-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(98)00139-5).

MACHADO, M. et al. Dietary tryptophan deficiency and its supplementation compromises inflammatory mechanisms and disease resistance in a teleost fish. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2019.

MARCOS, Josep et al. Targeting tryptophan and tyrosine metabolism by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1434, p. 91-101, 2016.

MARKUS, C. R. OLIVIER, B.; EM PANHUYSSEN, G.; der GUGTEN, J. V.; ALLES, S. M.; TUITEN, A.; GM WESTENBERG, H.; FEKKES, D.; KOPPESSCHAAR, H. F.; EHF de HAAN, E. The bovine protein α -lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress. **The American journal of clinical nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1536-1544, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1536>.

MARTIN, C. R.; OSADCHIY, V.; KALANI, A.; MAYER, E. A. The brain-gut-microbiome axis. **Cellular and molecular gastroenterology and hepatology**, v. 6, n. 2, p. 133-148, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.04.003>.

MAYER, E. A; SAVIDGE, T; SHULMAN, R.J.; Brain–gut microbiome interactions and functional bowel disorders. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1500-1512, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.02.037>.

OLSSON, GunnBerit; OLSEN, Ragnar L.; OFSTAD, Ragni. Post-mortem structural characteristics and water-holding capacity in Atlantichal ibut muscle. *LWT-Food Science and Technology*, v. 36, n. 1, p. 125-133, 2003.

PANDI-PERUMAL, S. R.; SRINIVASAN, V.; MAESTRONI, G. J. M.; CARDINALI, D. P.; POEGGELER, B.; HARDELAND, R. Melatonin: nature's most versatile biological signal? *The FEBS journal*, v. 273, n. 13, p. 2813-2838, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05322.x>.

PEIXE, B. R. Anuário Peixe BR da piscicultura 2019. **São Paulo: Associação Brasileira de Piscicultura**, p. 16-27, 2019.

PIPER, ROBERT G. **Fish hatchery management**. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, 1982.

POLI, B. M. et al. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International*, v. 13, n. 1-2, p. 29-49, 2005.

RAHMANIFARAH, Kaveh; SHABANPOUR, Bahareh; SATTARI, Amir. Effects of clove oil on behavior and flesh quality of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in comparison with pre-slaughter CO₂ stunning, chilling and asphyxia. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 11, n. 1, p. 139-147, 2011.

RAMOS-PINTO, Lourenço et al. Dietary tryptophan supplementation induces a transient immune enhancement of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles fed fishmeal-free diets. **Fish & shellfish immunology**, v. 93, p. 240-250, 2019.

RUDDICK, J.P.; EVANS, A.K.; NUTT, D.J.; LIGHTMAN, S.L.; A.W. ROOK, G.; A. LOWRY, C. Tryptophan metabolism in the central nervous system: medical implications. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 8, n. 20, p. 1-27, 2006. DOI:10.1017/S1462399406000068.

SCHOCK, T. B. NEWTONA, S.; BRENKERT, K.; LEFFLER, J.; BEARDENA, D. W. An NMR-based metabolomic assessment of cultured cobia health in response to dietary manipulation. **Food Chemistry**, v. 133, n. 1, p. 90-101, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.077>.

VAN DE NIEUWEGIESSEN, PASCAL G; ANNETTE S. BOERLAGE; JOHAN A.J. VERRETH; JOHAN W. SCHRAMA. Assessing the effects of a chronic stressor, stocking density, on welfare indicators of juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 115, n. 3-4, p. 233-243, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2008.05.008>.

WANG, X.; CASTANON, F.; PARSONS, C. M. Order of amino acid limitation in meat and bone meal. **Poultry science**, v. 76, n. 1, p. 54-58, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/76.1.54>.

WINBERG, S.; ØVERLI, Ø.; LEPAGE, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. **Journal of Experimental Biology**, v. 204, n. 22, p. 3867-3876, 2001. Online ISSN: 1477-9145.

WISHART, David S. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. *Nature reviews Drug discovery*, v. 15, n. 7, p. 473, 2016.

WOLKERS, C. P. B.; SERRA, M.; HOSHIBA, M.A.; URBINATI, E.C.; Dietary L-tryptophan alters aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 819-827, 2012. DOI: 10.1007/s10695-011-9569-x.