

# EFICIÊNCIA ALIMENTAR E TEOR DE LIPÍDEOS NO FILÉ DE ALEVINOS DE TILÁPIA-DO-NILO SUPLEMENTADOS COM TRIPTOFANO DIETÉTICO

## EFEITO DO TRIPTOFANO NO CULTIVO DE TILÁPIAS-DO-NILO

Vinicius Fiorillo Costa<sup>1</sup>, Graciela de Lucca Braccini<sup>2</sup>, Gustavo Henrique Montiel Navarro<sup>1</sup>, Gislaine Refundini<sup>1</sup>, Beatrice Ramos<sup>1</sup>, Caio Henrique Carniatto<sup>1</sup>, Jaísa Caseta<sup>3</sup>, Bruno Lala<sup>4</sup>, Rodrigo Paolozzi<sup>5</sup>, Stefania Caroline Claudino da Silva<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Acadêmicos de Medicina veterinária – Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar - Unicesumar.

<sup>2</sup>Bolsista PIBIC/ICETI-UniCesumar. fiorillovinicius@hotmail.com

<sup>3</sup>Orientadora, Docente do Departamento de Agronegócios – Unicesumar. grabraccini@gmail.com

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

<sup>5</sup>Docente do Departamento de Medicina Veterinária – UniFatecie. Paranavaí/Pr. brunolala@hotmail.com

<sup>6</sup>Docente do Departamento de Medicina Veterinária – Unicesumar. rodrigo.paolozzi@unicesumar.edu.br

<sup>6</sup>Docente do departamento de Zootecnia – UEM. sccsilva2@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 consumo de ração (CR), ganho em peso (GP), eficiência alimentar (EA) e o teor de gordura do filé (TG). 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%. Houve diferença estatística para as variáveis ganho GP ( $2,66 \pm 0,78$  e  $3,91 \pm 1,25$ ); EA ( $0,80 \pm 0,05$  e  $0,95 \pm 0,03$ ); e TG ( $2,81 \pm 0,52$  e  $2,31 \pm 0,31$ ), para os grupos controle e triptofano respectivamente. Não houve diferença entre para o consumo de ração. Estes dados sugerem que apesar de não interferir diretamente no consumo, o ganho em peso direto dos animais foi favorecido, provavelmente por diminuir os gastos energéticos com comportamento agonístico entre os animais, e assim potencializou a capacidade de conversão dos nutrientes em peso corporal, especialmente em filé.

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

## 1 INTRODUÇÃO

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. 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).

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; 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). 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 consequentemente, regulação da ingestão alimentar (HAGHIKIA 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). A presença de fatores estressantes diversos pode favorecer comportamento agonístico nos animais, com redução de consumo e aumento da taxa de natalidade 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. 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 (Höglund et al., 2005; Winberg et al., 2001; 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.

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**

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

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. 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.

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.

Para determinação das concentrações de O<sub>2</sub> 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 O<sub>2</sub>. 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. 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, enviado para análise de lipídeos totais. O método universalmente utilizado para a extração de lipídios com solventes é o de Bligh & Dyer (BLIGH; DYER, 1959), que utiliza o sistema ternário de solventes cloro-fórmio:metanol:água, adicionados em duas etapas. Ele é indicado quando se deseja a extração de lipídios de grandes quantidades de tecidos (CHRISTIE, 1982). Para determinação de lipídeos totais o método descrito por Bligh & Dyer (1959) foi utilizado.

Aproximadamente 100 g de tecido congelado foi homogeneizado em homogeneizador elétrico por 2 minutos com uma mistura de 100 ml de clorofórmio e 200 ml de metanol. À mistura foram então adicionados 100 ml de clorofórmio, 100 ml de água destilada em seriações de 30 segundos. O homogeneizado foi filtrado com de papel de filtro em funil de decantação. O filtrado foi transferido para um cilindro graduado de 500 ml e, após alguns minutos para separação e clarificação completa, o volume da camada de clorofórmio foi registrado e a camada alcoólica removida. A porção do extrato de lipídios foi evaporada até a secagem total em um balão volumétrico tarado e o peso do resíduo de lipídio determinado. Após a pesagem, um pequeno volume de clorofórmio foi adicionado a cada balão para detectar a presença de material não lipídico. O clorofórmio foi cuidadosamente decantado e o balão lavado três vezes com clorofórmio. O peso seco do resíduo foi determinado e subtraído do peso inicial.

## 2.1 RESULTADOS E DISCUSSÕES

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<sub>3</sub> ( $0,0014 \pm 0,001 \text{ mg L}^{-1}$ ), pH ( $6,85 \pm 0,3$ ) e temperatura ( $23,6 \pm 1, 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) entre as hapas. O consumo de ração entre as hapas do grupo

controle foi bem uniforme (CV=1,25%) enquanto consumo de ração entre as hapas do grupo triptofano foram mais desuniformes (CV=35,01%), justificando a não diferença estatística observada. Esses dados sugerem que existe interação entre o triptofano e os indivíduos. 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). Assim, o aumento do coeficiente de variação observado nos animais suplementados com triptofano pode ser decorrente da capacidade genética individual em direcionar o triptofano recebido para a síntese de serotonina. 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.

Em nossa pesquisa, os animais do grupo triptofano ganharam mais peso quando comparados aos do grupo controle, indicando maior disponibilidade 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, em decorrência do aumento da produção de leite das porcas (MIAO et al., 2019). Estes dados sugerem que, tanto o consumo de ração, quanto o ganho em peso são dependentes da dose e da espécie, além do fator individual dentro da espécie.

Apesar do maior ganho em peso, os animais suplementados com triptofano apresentaram redução no teor de gordura do filé ( $p=0,0004$ ). A síntese e a degradação de ácidos graxos em um organismo estão relacionadas a muitos processos biológicos. De forma objetiva, a suplementação de triptofano, e conseqüentemente a serotonina produzida no intestino pelas células enterocromafins, atuam no fígado suprimindo a captação de glicose e estimulando a gliconeogênese (SUMARA et al., 2012). Já nos adipócitos, a sinalização da serotonina pode promover a lipólise, resistência à insulina e, conseqüentemente, a supressão da captação de glicose. Tal ação ocorre por meio da ligação da serotonina aos seus receptores do tipo 2b (5HTR-2b) na superfície do adipócito, onde desencadeiam resposta do tipo segundo mensageiro para ativação da lipase sensível a hormônio. Esta ativação enzimática é a chave para a hidrólise dos triacilgliceróis e liberação dos ácidos graxos da gotícula lipídica do adipócito.

Por fim, a relação entre ganho em peso e o consumo de ração para determinação da eficiência alimentar evidencia a superioridade dos animais suplementados com triptofano. Estes dados sugerem que apesar de não interferir diretamente no consumo, o ganho em peso direto dos animais foi favorecido, provavelmente por diminuir os gastos energéticos com comportamento agonístico entre os animais, e assim potencializou a capacidade de conversão dos nutrientes em peso corporal, especialmente em filé.

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A suplementação com triptofano interferiu no desempenho geral dos alevinos de tilápia, sendo que, sob as condições experimentais aqui avaliadas, o grupo suplementado com triptofano se mostrou mais eficiente em converter a dieta em peso, sem alterar o teor lipídico da carcaça.

## REFERÊNCIAS

- 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.
- BLIGH, E. G.; DYER, W.J.; A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959. DOI: <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- CARLSON, L. A.; EKELUND, L. G.; ORÖ, L. Metabolic and cardio-vascular effects of serotonin. **Life sciences**, v. 6, n. 3, p. 261-271, 1967. DOI: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(67\)90155-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(67)90155-5)
- 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>
- CHRISTIE, W.W. **Lipid analysis**. 2nded. Oxford: Pergamon Press, 1982. 207p.
- EL-MERAHBI, R.; LÖFFLER, M.; MAYER, A.; SUMARA, G. The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. **FEBS letters**, v. 589, n. 15, p. 1728-1734, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.054>
- 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>
- GOES, E. SR; LARA, J.A. F; GASPARINO, E; VESCO, A. P. D; D. GOES, M; FILHO, L. A; P. RIBEIRO, R. Pre-slaughter stress affects ryanodine receptor protein gene expression and the water-holding capacity in fillets of the Nile tilapia. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0129145, 2015. DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129145>
- GUO, C. HUANGA, 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>
- 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.; KLEINWIETFELD, 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:  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.028>

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>

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

LEONARD, B. E. The HPA and immune axes in stress: the involvement of the serotonergic system. **European Psychiatry**, v. 20, p. S302-S306, 2005. DOI:  
[https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(05\)80180-4](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(05)80180-4)

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>

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)

MARKUS, C. R. OLIVIER, B.; EM PANHUYSEN, G.; der GUGTEN, J. V.; ALLES, S. M.; TUITEN, A.; GM WESTENBERG, H.; FEKKES, D.; KOPPESCHAAR, H. F; EHF de HAAN, E. The bovine protein  $\alpha$ -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>

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 CO<sub>2</sub> stunning, chilling and asphyxia. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 11, n. 1, p. 139-147, 2011.

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

SALMERÓN, CRISTINA. Adipogenesis in fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 221, n. Suppl\_1, p. jeb161588, 2018.

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>

SUMARA, G.; SUMARA, O.; KIM, J. K.; KARSENTY, G. Gut-derived serotonin is a multifunctional determinant to fasting adaptation. **Cell metabolism**, v. 16, n. 5, p. 588-600, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.09.014>

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

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