



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Centro de Aquicultura da Unesp- CAUNESP



**A INTERFERÊNCIA DA LUMINOSIDADE NA AGRESSIVIDADE
E NA HIERARQUIA SOCIAL DE CICLÍDEOS**

THAÍS BILLALBA CARVALHO

JABOTICABAL – SP

2009



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Centro de Aquicultura da Unesp- CAUNESP



**A INTERFERÊNCIA DA LUMINOSIDADE NA AGRESSIVIDADE
E NA HIERARQUIA SOCIAL DE CICLÍDEOS**

THAÍS BILLALBA CARVALHO

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Gonçalves de Freitas

Co-orientador: Prof. Dr. Gilson Luiz Volpato

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

JABOTICABAL – SP

2009

Dedico

Aos meus pais, Acácio e Fátima, pelo amor, confiança, incentivo e compreensão, mas principalmente pelo exemplo que são na minha vida. Obrigada também por toda a ajuda oferecida durante esses anos.

Aos meus irmãos, Igor e Liane, que além do carinho e apoio, são responsáveis pela minha posição de tia, da qual me orgulho muito.

Aos meus sobrinhos, Stéphaney e Breno, que me proporcionam os momentos mais alegres e divertidos da vida.

Amo muito vocês

Agradecimentos

À todos que contribuíram direta ou indiretamente com a realização deste trabalho, em especial:

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Eliane Gonçalves de Freitas, pela oportunidade, ensinamentos oferecidos e pela importante contribuição na minha formação profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Gilson Luiz Volpato por ter aceito a co-orientação do meu doutorado e pela ajuda, especialmente na qualificação.

Ao Prof. Dr. Rui Oliveira por me aceitar em seu laboratório e me dar a oportunidade de conhecer um outro lado da pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. Francisco Langeani Neto e à Prof^a Dr^a Percília Cardoso Giaquinto pela participação e sugestões feitas na minha qualificação.

Aos atuais e ex-companheiros do laboratório: André, Adriana, Fabrício, Francine, Wagner pelas sugestões e ajuda e Cristiani pela colaboração na coleta de dados do experimento III.

Ao pessoal do ISPA: David, Miguel, Olinda, Sara, Silvia, Tânia, em especial para a Magda pela grande ajuda no laboratório de fisiologia; a Leonor pelo apoio e acolhimento em um país estranho e a Marta pela companhia e amizade. Todos foram muito importantes durante minha estadia em Lisboa.

À Luciana de Souza Onde e à Rita Luiza Peruquetti pela amizade e anos que moramos juntas. Lu, obrigada também pelo auxílio no laboratório e Rita, agradeço a companhia diária, inclusive durante a estadia na nova moradia.

Ao Carlos Eduardo Souza e à Roselene S. C. Ferreira pela imprescindível ajuda na manutenção dos animais no laboratório e na coleta de dados.

Ao médico veterinário Msc. Carlos Eduardo Saranz Zago pela emissão do atestado sanitário necessário para a solicitação de autorização do transporte de material biológico.

Ao Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes do Laboratório de Peixes Ornamentais do CAUNESP / UNESP pelo fornecimento dos acarás bandeira utilizados no experimento.

Ao Prof. Dr. Gustavo Orlando Bonilla Rodríguez do Laboratório de Bioquímica de Proteínas e à Prof^a Dr^a Cláudia Bonini Domingos do Laboratório de Hemoglobinas do IBILCE / UNESP pelo empréstimo de equipamentos que permitiram a realização das análises fisiológicas.

À toda minha família pelo incentivo, apoio e amor.

auxílio financeiro: CNPq, FAPESP e CAPES/PDEE

"O êxito consiste em alcançar o que se deseja;
a felicidade, em desejar o que se alcança. "
(autor desconhecido)

SUMÁRIO

Resumo.....	1
Abstract.....	2
Introdução Geral.....	3
Referências.....	7

Experimento I: A intensidade luminosa modula a interação agonística dos ciclídeos, *Geophagus surinamensis*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*

Resumo.....	13
Introdução.....	14
Material e métodos.....	17
Resultados.....	22
Discussão.....	26
Referências.....	29

Experimento II: Efeito da luminosidade sobre a agressividade e níveis de estresse em fêmeas de *Tilapia rendalli*

Resumo.....	35
Introdução.....	36
Material e métodos.....	39
Resultados.....	43
Discussão.....	47
Referências.....	50

Experimento III: Intensidade luminosa e hierarquia social na tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*

Resumo.....	56
Introdução.....	57
Material e métodos.....	59
Resultados.....	63
Discussão.....	68
Referências.....	71

Experimento IV: Efeito do fotoperíodo no comportamento social e nos níveis circulantes de esteróides sexuais em *Tilapia rendalli*

Resumo.....	77
Introdução.....	78
Material e métodos.....	80
Resultados.....	84
Discussão.....	89
Referências.....	91

Considerações finais.....	97
---------------------------	----

RESUMO

Alterações no ambiente aquático, provocadas por ações antrópicas no ambiente natural ou artificial, causam mudanças em fatores físicos (ex: luminosidade) que podem afetar o comportamento e a fisiologia dos peixes. Assim, foi testado o efeito da luminosidade sobre o comportamento agressivo, a hierarquia social, indicadores de estresse e os níveis de esteróides sexuais em ciclídeos. Para isso, foram realizados 4 experimentos. **Experimento I:** foi avaliada a influência da intensidade luminosa sobre a agressividade em juvenis de *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*. Foram comparadas duplas submetidas a duas intensidades luminosas ($253,56 \pm 62,25$ lx e $1.435,92 \pm 481,40$ lx). A maior luminosidade reduziu a agressividade em *O. niloticus*, aumentou em *P. scalare* e não afetou a de *G. proximus*. Observou-se também que o nível de agressividade em *O. niloticus* foi maior que em *G. proximus*, que, por sua vez, foi maior que *P. scalare*. Isso sugere que a intensidade luminosa modula diferentemente a interação de peixes sociais, podendo o mecanismo estar associado aos padrões de agressividade de cada espécie. **Experimento II:** foi testada a influência da intensidade luminosa sobre o comportamento agonístico e indicadores de estresse (taxa ventilatória e atividade da catalase) em fêmeas de *Tilapia rendalli*. Foram comparadas duas intensidades luminosas: menor ($253,56 \pm 62,25$ lx) e maior ($1.435,92 \pm 481,40$ lx) em condições social (dupla) e de isolamento. A menor luminosidade aumentou a frequência de ataques na dupla e no dominante, mas não afetou a interação do submisso. A taxa ventilatória do animal isolado foi maior na menor intensidade de luz. Assim, conclui-se que a luminosidade afeta a agressividade e atua como um estressor em fêmeas de *T. rendalli*. No entanto, essa resposta estressora pode não funcionar como o mecanismo causador do efeito da luminosidade sobre a interação agonística. **Experimento III:** foi testado o efeito da intensidade luminosa sobre a estabilidade da hierarquia social e indicadores de estresse (hematócrito e glicemia) em machos de *O. niloticus*. Foram avaliados dois níveis de intensidade luminosa ($280,75 \pm 50,60$ lx e $1.394,14 \pm 520,32$ lx). A maior luminosidade aumentou a interação do grupo e do subdominante (beta), mas não interferiu na estabilidade da hierarquia de dominância. O hematócrito e a glicemia foram semelhantes entre as intensidades luminosas e as posições sociais. Assim, a luminosidade interfere na agressividade, sendo o beta o principal afetado por esse efeito. No entanto, a estabilidade da hierarquia social e o estresse não são afetados pela condição ambiental. **Experimento IV:** foi testado o efeito do fotoperíodo no comportamento social e nos níveis circulantes de esteróides sexuais (testosterona e 11-cetotestosterona) em machos adultos de *T. rendalli*. Foram comparados dois fotoperíodos (16L:08D e 08L:16D), sendo os animais submetidos ao isolamento ou ao desafio social. O comportamento agressivo do dominante, submisso e dupla foi estimulado pelo maior período de luz. Os níveis de andrógenos não foram influenciados pelo fotoperíodo, mas sim pelo contexto social. Dessa forma, o fotoperíodo interfere na interação social, mas essa resposta não é modulada pelos andrógenos. Em conclusão, a luminosidade afeta o comportamento social em ciclídeos, sendo o seu mecanismo modulador dependente de fatores inter e intra-específicos.

Palavras-chave: comportamento agressivo; fotoperíodo; intensidade luminosa; peixes

ABSTRACT

Animals show behavioral and physiological changes due to variations of environmental physical factors. Thus, we compared the effect of luminosity on agonistic behaviour, hierarchy settlement, stress, and plasma sexual steroids levels in cichlids. **Experiment I:** we compared the effect of light intensity on agonistic behavior of pair juvenile cichlids *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* and *Pterophyllum scalare* under two light intensities (minor: 253.56 ± 62.25 lx and major: 1435.92 ± 481.40 lx). Major light intensity reduced aggressiveness in *O. niloticus*; increased in *P. scalare* and did not affect agonistic interactions in *G. proximus*. In the 2 light conditions, the aggressiveness level in *O. niloticus* is higher than *G. proximus* and *P. scalare*. We concluded rising light intensity affects agonistic interaction in different way in the three fish species, and mechanism underlying this data could be related to specific agonistic profile. **Experiment II:** we tested the influence of light intensity on aggressive behavior and indicators of stress (ventilatory frequency and catalase activity) in adult females of *Tilapia rendalli*. A minor (253.56 ± 62.25 lx) and major (1435.92 ± 481.40 lx) light intensity were compared in social condition (pair) and isolation. The pair and winner exhibited higher agonistic interactions at major intensity group, but luminosity did not affect attacks in loser. The ventilatory frequency of isolated animal was higher in the minor light intensity. Thus, we concluded that the luminosity affects the aggressiveness and it is a stressor in females of *T. rendalli*. However, that stressful event can not be main causing mechanism of the light intensity on agonistic behavior effect. **Experiment III:** we evaluated the effect of the light intensity on social hierarchy settlement and indicators of stress (hematocrit and glycemia) in males of *Oreochromis niloticus*. Two light intensity levels were tested (280.75 ± 50.60 lx and 1394.14 ± 520.32 lx). Major light intensity increased group and sub-dominant (beta) interactions, but this environmental factor did not affect hierarchy settlement. The hematocrit and glycemia had been similar between the light intensity and social status. Thus, the luminosity influences on the aggressiveness, and the beta fish is main one affected by this effect. However, the hierarchy settlement and stress did not affect by t environmental condition. **Experiment IV:** we tested the effect of photoperiod on aggressive behavior and plasma androgen levels (testosterone and 11-ketotestosterone) in adult males of *Tilapia rendalli*. We compared two photoperiods: long-day (16L:08D) and short-day (08L:16D) in social condition (pair) and isolation. Aggressive behavior of winner, loser and pair were stimulated for long-day. The testosterone and 11-ketotestosterone levels were similar between two photoperiods. The androgens levels were not correlated with aggressive interactions. Thus, photoperiod interfere in social interactions in *T. rendalli*, but this result can not be modulated for androgens. We concluded that luminosity affects agonistic interaction in cichlids, and mechanism underlying this data could be related to intra and inter specific factors.

Key-words: aggressive behavior; fish; light intensity; photoperiod

INTRODUÇÃO GERAL

Os estímulos ambientais são cruciais na modulação do ciclo de vida dos animais e, dessa forma, as modificações inerentes ao ambiente podem afetar o comportamento (Wingfield, 2003; Adamo & Parsons, 2006). As diferentes estratégias fisiológicas e comportamentais que emergem em situações de alteração ambiental (*emergency life-history stage*) têm sido testadas em aves, mas carecem de estudos para outros grupos de vertebrados, principalmente peixes. Esse tipo de estudo precisa ser expandido para fornecer melhor conhecimento de como os vertebrados respondem a alterações do ambiente e para auxiliar na conservação ambiental (Wingfield, 2003).

Atualmente, pode-se notar uma gradativa perda da qualidade ambiental aquática causada por ação humana, que se reflete também em outros grupos animais. Por exemplo, a destruição das matas ciliares pode causar redução do nível de água (devido ao assoreamento do leito), aumento da temperatura e da luminosidade (Barrella *et al.*, 2000). Os fatores ambientais também são essenciais em práticas de aquicultura, sendo comum a manipulação dessas condições a fim de melhorar a produção de espécies de interesse comercial (Baldisserotto, 2002). De fato, alguns estudos sugerem a manipulação da luminosidade como ferramenta para aumentar o crescimento e a reprodução de peixes em sistema de criação (Biswas *et al.*, 2005; Imsland *et al.*, 2006; Rad *et al.*, 2006). No entanto, essas modificações ambientais podem afetar o comportamento e a fisiologia dos animais, fazendo emergir estratégias alternativas (ex. Einarsdóttir & Nilssen, 1996; Piet, 1998; Flodmark *et al.*, 2002; Stefánsson *et al.*, 2002). Dessa forma, estudos envolvendo fatores abióticos são importantes, mas existem poucos trabalhos comportamentais relacionados com esses aspectos (ex. Gibson, 1978; Sloman *et al.*, 2002; Blanchet *et al.*, 2006).

A luminosidade, por exemplo, é uma condição ambiental essencial para a sobrevivência dos peixes (Helfman, 1993). A luz também é o principal fator responsável pelo controle do ritmo biológico dos animais (Volpato & Trajano, 2006; Zhdanova & Reeb, 2006). De acordo com Hawkins & Anthony (1981), as principais características da luminosidade são: qualidade (espectro de absorção), quantidade (intensidade luminosa) e periodicidade (duração da luz ou fotoperíodo).

Muitas atividades e padrões comportamentais em peixes são regulados pela luminosidade, tais como, o crescimento (Boeuf & Le Bail, 1999; Biswas *et al.*, 2006), a taxa de sobrevivência (Reynalte-Tataje *et al.*, 2002), a densidade populacional (Juell & Fosseidengen, 2004), a eficiência alimentar (Petit *et al.*, 2003; White *et al.*, 2005; Biswas *et*

al., 2006; Sheng *et al.*, 2006), a reprodução (Ridha & Cruz, 2000; Bulger *et al.*, 2002; Pankhurst & Porter, 2003; Rick & Bakker, 2008), a taxa metabólica (Biswas *et al.*, 2002; Biswas & Takeuchi, 2002) e a atividade de natação (Utne-Palm & Stiansen, 2002; Almazán-Rueda *et al.*, 2004). Além desses, a luminosidade afeta o comportamento agonístico, no entanto, os resultados são contraditórios (ex. Britz & Pienaar, 1992; Sakakura & Tsukamoto, 1997; Bulger *et al.*, 2002; Almazán-Rueda *et al.*, 2005).

De acordo com Castro & Caballero (2004), a redução da agressividade em alta luminosidade é um mecanismo para mimimizar a conspicuidade do animal no ambiente. Além disso, peixes expostos a longos períodos de luz apresentam maiores níveis de cortisol (Almazan-Rueda *et al.*, 2005) que, por sua vez, podem diminuir o comportamento agressivo (Overli *et al.*, 2002; Summers & Winberg, 2006). Por outro lado, a maior luminosidade pode aumentar a frequência de encontros agonísticos (Nicieza & Metcalfe, 1999; Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Almazán-Rueda *et al.*, 2004). Esse efeito pode ser mediado pela redução dos níveis de melatonina, sendo esse hormônio liberado em maior quantidade em baixa intensidade luminosa ou durante a ausência de luz (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002). A melatonina também regula diversos eventos fisiológicos, metabólicos e comportamentais, incluindo a agressividade (Munro, 1986; Ebadi *et al.*, 1993; Pitcher, 1993). Assim, é provável que quanto maior a luminosidade, menor a liberação de melatonina e, conseqüentemente, maior a frequência do comportamento agressivo, o que pode aumentar o desafio entre os oponentes, gerando instabilidade social. Além disso, a melatonina controla o comportamento de submissão em truta arco-íris (Larson *et al.*, 2004), sendo que a menor liberação desse hormônio pode diminuir os sinais emitidos pelo submisso e reduzir a estabilidade da hierarquia de dominância.

A dominância é um tipo de organização social caracterizada pela definição, dentro do grupo, do dominante e submisso, sendo que o dominante possui prioridade de acesso a recursos limitados, como alimento, parceiros para acasalamento, abrigo e território (Ridley, 1995). Esse sistema é estabelecido por meio de interações agressivas e ocorre em vários grupos animais (Huntingford & Turner, 1987; Ridley, 1995). A hierarquia pode ser considerada estável ou instável, dependendo da manutenção da posição social dos animais ao longo do tempo (ex. Gómez-Laplaza & Morgan, 1993; Oliveira & Almada, 1996). De acordo com Lehner (1996), a formação e a estabilidade hierárquica são influenciadas por diversos fatores, podendo variar dependendo da espécie e das condições as quais os animais são submetidos.

Vários fatores modulam a hierarquia de dominância em peixes, particularmente aqueles que afetam diretamente a motivação agressiva. No entanto, estudos relacionando as condições ambientais (abióticas) e a hierarquia de dominância, principalmente em ciclídeos, são incipientes. O efeito da luminosidade sobre a estabilidade da hierarquia social, por exemplo, ainda não foi estudado.

A luminosidade também pode atuar como um estressor em diversas espécies de peixes (Hawkins & Anthony, 1981; Almazán-Rueda *et al.*, 2005; Karakatsouli *et al.*, 2008), podendo afetar a estabilidade da hierarquia de dominância. A instabilidade hierárquica, por sua vez, pode aumentar o estresse social (Zayan, 1991). Além disso, a luminosidade pode modular a liberação de hormônios reprodutivos em peixes (Skjaeraasen *et al.*, 2004; Biswas *et al.*, 2005; Rodriguez, *et al.*, 2005), no entanto, pouco é conhecido sobre a influência dessa condição ambiental na resposta ao desafio social.

De modo geral, alterações de luminosidade (intensidade luminosa e fotoperíodo) podem exercer efeito sobre a agressividade e, conseqüentemente, aumentar o desafio entre os oponentes. Essa resposta pode ser estressante, gerar instabilidade hierárquica e modular os níveis de andrógenos em peixes. Assim, a tese defendida neste estudo foi de que a luminosidade afeta as interações sociais, a estabilidade hierárquica, variáveis indicadoras de estresse e os níveis de esteróides reprodutivos em peixes territoriais. Para isso, foram realizados 4 experimentos com os seguintes objetivos:

Experimento I: testar se a maior intensidade luminosa aumenta a agressividade em 3 espécies de ciclídeos, *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*.

Experimento II: testar a influência da intensidade luminosa sobre o comportamento agonístico e indicadores de estresse (frequência ventilatória e atividade da cata lase) em fêmeas de *Tilapia rendalli*.

Experimento III: testar se a intensidade luminosa afeta a estabilidade da hierarquia de dominância e variáveis indicadoras de estresse (hematócrito e glicemia) em machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Experimento IV: testar o efeito do fotoperíodo no comportamento social e nos níveis circulantes de esteróides sexuais (testosterona e 11-cetotestosterona) em machos de *Tilapia rendalli*.

Representantes da família Cichlidae foram escolhidos porque possuem organização social baseada na hierarquia de dominância e defesa territorial (ex. Alvarenga & Volpato, 1995; Cacho *et al.*, 1996; Teresa & Gonçalves-de-Freitas, 2003), ideal para testar os objetivos propostos. Além disso, os ciclídeos apresentam grande acuidade visual (Fernald, 1984),

sugerindo que a luminosidade é um estímulo importante para esses peixes. *Geophagus proximus* (Castelnau, 1855) é um ciclídeo amazônico que vive principalmente em canais e associado a substrato arenoso (informações obtidas para *G. surinamensis*; <http://www.fishbase.org/search.php>). Relatos mostram que essa espécie apresenta alta responsividade a luminosidade (Palicka, 1992) e possui grande potencial para a indústria alimentícia e para a aquariofilia. Já a tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), é um ciclídeo africano que ocorre em uma grande variedade de habitats. Essa espécie é importante para a aquicultura mundial, sendo amplamente criada em piscicultura (<http://www.fishbase.org/search.php>). O acará bandeira, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), é originário da Bacia Amazônica e habita sistemas com grande densidade de vegetação, preferindo águas pouco profundas e cristalinas (<http://www.fishbase.org/search.php>). Esse ciclídeo apresenta grande interesse na aquariofilia mundial (Chapman *et al.*, 1997). A *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) é uma espécie de origem africana que vive em ambientes lânticos e com vegetação abundante (<http://www.fishbase.org/search.php>).

Este trabalho permite avaliar se a condição ambiental modula o comportamento agressivo e a hierarquia social e, também, se afeta alguns parâmetros fisiológicos nessas quatro espécies de peixes sociais. Além disso, estudos comparativos são pouco frequentes e tornam-se cada vez mais necessários, uma vez que a diversidade de peixes tropicais é grande e muitas generalizações são feitas com base em poucas espécies. Os resultados poderão ser utilizados tanto em termos de conservação do ambiente aquático, como em condições de criação, onde o controle adequado da luminosidade é importante.

REFERÊNCIAS

- Adamo, S.A. & Parsons, N.M. (2006). The emergency life-history stage and immunity in the cricket, *Gryllus texensis*. *Animal Behaviour*, 72: 235-244.
- Almazán-Rueda, P.; Schrama, J.W. & Verreth, J.A.J. (2004). Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 347-359.
- Almazán-Rueda, P.; Van-Helmond, A.T.M.; Verreth, J.A.J. & Schrama, J.W. (2005). Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039.
- Alvarenga, C.M.D. & Volpato, G.L. (1995). Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiology and Behavior*, 57: 75-80.
- Baldisserotto, B. (2002). Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura. Editora UFSM, Santa Maria, 211p.
- Barrella, W.; Petreire, M. Jr.; Smith, W.S. & Montag, L.F.de A. (2000). As relações entre as matas ciliares, os rios e os peixes. In: Ed. Rodrigues, R.R. & Filho, H. de F.L.; Matas Ciliares: conservação e recuperação, EDUSP e FAPESP, São Paulo, 320p.
- Bayarri, M.J.; Madrid, J.A. & Sánchez-Vázquez, F.J. (2002). Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32: 34-40.
- Biswas, A.K.; Endo, M. & Takeuchi, T. (2002). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*: Part I. *Fisheries Science*, 68: 465-477.
- Biswas, A.K. & Takeuchi, T. (2002). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of fed and unfed adult *Oreochromis niloticus*: Part II. *Fisheries Science*, 68: 543-553.
- Biswas, A.K.; Morita, T.; Yoshizaki, G.; Maita, M. & Takeuchi, T. (2005). Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* by photoperiod manipulation. *Aquaculture*, 243: 229-239.
- Biswas, A.K.; Seoka, M.; Tanaka, Y.; Takii, K. & Kumai, H. (2006). Effect of photoperiod manipulation on the growth performance and stress response of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 258: 350-356.

- Blanchet, S., Dodson, J.J. & Brosse, S. (2006). Influence of habitat structure and fish density on Atlantic salmon *Salmo salar* L. territorial behaviour. *Journal of Fish Biology*, 68: 951-957.
- Boeuf, G. & Le Bail, P.Y. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129-152.
- Britz, P.J. & Pienaar, A.G. (1992). Laboratory experiments on the effect of light and cover on the behaviour and growth of African catfish, *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae). *Journal of Zoology*, 227: 43-62.
- Bulger, A.G.; Wildhaber, M. & Edds, D. (2002). Effects of photoperiod and courtship of the Neosho madtom (*Noturus placidus*). *Journal of Freshwater Ecology*, 17: 141-150.
- Cacho, M.S.R.F.; Yamamoto, M.E. & Chellappa, S. (1996). Encontros agonísticos entre machos de acará bandeira *Pterophyllum scalare* durante a fase reprodutiva. *Boletim do DOL/CB/UFRN*, 9: 19-23.
- Castro, J.J. & Caballero, C. (2004). Effect of the light intensity upon the agonistic behaviour of juvenile of white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behavior*, 30: 313-318.
- Chapman, F. A.; Fitz-Coy, S. & Thunberg, J. T. (1997). United States of America International Trade in Ornamental Fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28: 1-10.
- Ebadi, M.; Samejima, M. & Pfeiffer, R.F. (1993). Pineal gland in synchronizing and refining physiological events. *NIPS*, 8: 30-33.
- Einarsdóttir, I.E. & Nilssen, K.J. (1996). Stress responses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) elicited by water level reduction in rearing tanks. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15: 395-400.
- Ekström, P. & Meissl, H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Review in Fish and Fisheries*, 7: 199-284.
- Fernald, R.D. (1984). Vision and behavior in an african cichlid fish. *American Scientist*, 72: 58-65.
- Flodmark, L.E.W.; Urke, H.A.; Halleraker, J.H.; Arnekleiv, J.V.; Vollestad, L.A. & Poléo, A.B.S. (2002). Cortisol and glucose responses in juvenile brown trout subjected to a fluctuating flow regime in an artificial stream. *Journal of Fish Biology*, 60: 238-248.
- Gibson, R.J. (1978). The behavior of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Brook trout (*Salvelinus fontinalis*) with regard to temperature and to water velocity. *Transactions of the American Fisheries Society*, 107: 703-712.

- Gómez-Laplaza, L.M. & Morgan, E. (1993). Social isolation, aggression, and dominance in attacks in juvenile Angelfish, *Pterophyllum scalare*. *Aggressive Behaviour*, 19: 213-222.
- Hawkins, A.D. & Anthony, P.D. (1981). Aquarium Design and Construction. *In*: Hawkins, A.D.; Aquarium Systems. Academic Press, London, 452p.
- Helfman, G.S. (1993). Fish Behaviour by Day, Night and Twilight. *In*: Pitcher, T.J. (Org.); Behaviour of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London, 715p.
- Huntingford, F. & Turner, A. (1987). Animal Conflict. Chapman and Hall, New York, 448p.
- Immland, A.K.; Foss, A.; Stéfansson, S.O.; Mayer, I.; Norberg, B.; Roth, B. & Jenssen, M.D. (2006). Growth, feed conversion efficiency and growth heterogeneity in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at three different photoperiods. *Aquaculture Research*, 37: 1099-1106.
- Juell, J.E. & Fosseidengen, J.E. (2004). Use of artificial light to control swimming depth and fish density of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in production cages. *Aquaculture*, 233: 269-282.
- Karakatsouli, N.; Papoutsoglou, S.E.; Panopoulos, G.; Papoutsoglou, E.S.; Chadio, S. & Kalogiannis, D. (2008). Effects of light spectrum on growth and stress response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared under recirculating system conditions. *Aquacultural Engineering*, 38: 36-42.
- Larson, E.T.; Winberg, S.; Mayer, I.; Lepage, O.; Summers, C.H. & Overli, O. (2004). Social stress affects circulating melatonin levels in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 136: 322-327.
- Lehner, P.N. (1996). Handbook of Ethological Methods. Cambridge University Press, United Kingdom, 672p.
- Munro, A.D. (1986). Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *Journal of Pineal Research*, 3: 257-262.
- Nicieza, A.G. & Metcalfe, N.B. (1999). Costs of rapid growth: the risk of aggression is higher for fast-growing salmon. *Functional Ecology*, 13: 793-800.
- Oliveira, R.F. & Almada, V.C. (1996). Dominance hierarchies and social structure in captive groups of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* (Teleostei Cichlidae). *Ethology Ecology and Evolution*, 8: 39-55.
- Øverli, Ø.; Kotzian, S. & Winberg, S. (2002). Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 42:53-61.
- Palicka, J. (1992). The care of *Geophagus surinamensis*. *Tropical Fish Hobbyist*, 40: 8-12.

- Pankhurst, N.W. & Porter, M.J.R. (2003). Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28: 385-389.
- Petit, G.; Beauchaud, M.; Attia, J. & Buisson, B. (2003). Food intake growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/dark cycle (12L:12D) or exposed to continuous light. *Aquaculture*, 228: 397-401.
- Piet, G.J. (1998). Impact of environmental perturbation on a tropical fish community. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55: 1842-1853.
- Pitcher T.J. (1993). Behaviour of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London, 715p.
- Rad, F.; Bozaoglu, S.; Gözükar, S.E.; Karahan, A. & Kurt, G. (2006). Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 255: 292-300.
- Reynalte-Tataje, D.; Luz, R.K.; Meurer, S.; Zaniboni-Filho, E. & Nuñez, A.P.O (2002). Influência do fotoperíodo no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Osteichthyes, Characidae). *Acta Scientiarum*, 24: 439-443.
- Rick, I.P. & Bakker, T.C.M. (2008). UV wavelengths make female three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) more attractive for males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62: 439-445.
- Ridha, M.T. & Cruz, E.M. (2000). Effect of light intensity and photoperiod on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. seed production. *Aquaculture Research*, 31: 609-617.
- Ridley, M. (1995). Animal Behavior. Blackwell Scientific Publications, Boston, 288p.
- Rodriguez, L.; Begtashi, I.; Zanuy, S. & Carrillo, M. (2005). Long-term exposure to continuous light inhibits precocity in European male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.): hormonal aspects. *General and Comparative Endocrinology*. 140: 116-125.
- Sakakura, Y. & Tsukamoto, K. (1997). Effects of water temperature and light intensity on aggressive behavior in the juvenile yellowtails. *Fisheries Science*, 63(1): 42-45.
- Sheng, J.; Lin, Q.; Chen, Q.; Gao, Y.; Shen, L. & Lu, J. (2006). Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture*, 256: 596-607.
- Skjaeraasen, J.E.; Salvanes, A.G.V.; Karlson, O.; Dahle, R.; Nilsen, T. & Norberg, B. (2004). The effect of photoperiod on sexual maturation, appetite and growth in wild atlantic cod (*Gadus morhua* L). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30: 163-174.

- Sloman, K.A.; Wilson, L.; Freel, J.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2002). The effects of increased flow rates on linear dominance hierarchies and physiological function in brown trout, *Salmo trutta*. *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1221-1227.
- Stefánsson, M.O.; Fitzgerald, R.D. & Cross, T.F. (2002). Growth, feed utilization and growth heterogeneity in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Rafinesque) under different photoperiod regimes. *Aquaculture Research*, 33: 177-187.
- Summers, C.H. & Winberg, S. (2006). Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 4581-4589.
- Teresa, F.B. & Gonçalves-de-Freitas, E. (2003). Interação agonística em *Geophagus surinamensis* (Teleostei, Cichlidae). *Revista Brasileira de Etologia*, 5: 121-126.
- Utne-Palm, A.C. & Stiansen, J.E. (2002). Effect of larval ontogeny, turbulence and light on prey attack rate and swimming activity in herring larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 268: 147-170.
- Valdimarsson, S.K. & Metcalfe, N.B. (2001). Is the level of aggression and dispersion in territorial fish dependent on light intensity? *Animal Behaviour*, 61: 1143-1149.
- Volpato, G.L. & Trajano, E. (2006). Biological Rhythms. In: Val, L.A.; Val, V.M.F.A. & Randall, D.J. (Org.); *Fish Physiology*. Elsevier & Academic Press, San Diego, p. 101-153.
- White, E.M.; Church, S.C.; Willoughby, L.J.; Hudson, S.J. & Partridge, J.C. (2005). Spectral irradiance and foraging efficiency in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour*, 69: 519-527.
- Wingfield, J.C. (2003). Control of behavioural strategies for capricious environments. *Animal Behaviour*, 66: 807-816.
- Zayan, R. (1991). The specificity of social stress. *Behavioural Processes*, 25: 81-93.
- Zhdanova, I.V. & Reeb, S.G. (2006). Circadian Rhythms in Fish. In: Sloman, K.A.; Wilson, R.W. & Balshine, S. (Org.); *Behaviour and Physiology of Fish*. Academic Press, San Diego, p. 197-228.

EXPERIMENTO I

A intensidade luminosa modula a interação agonística dos ciclídeos, *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*

RESUMO

Foi comparado o efeito da intensidade luminosa sobre a agressividade em ciclídeos juvenis, *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*. Foram testados dois níveis de intensidade luminosa: menor ($253,56 \pm 62,25$ lx) e maior ($1.435,92 \pm 481,40$ lx). Os animais foram isolados em aquários de 30 L por 96 h e, em seguida, pareados (paradigma residente-intruso) por tempo suficiente para o estabelecimento da hierarquia de dominância, sendo a interação agonística registrada nesse período. A maior intensidade luminosa aumentou a latência para os confrontos em *G. proximus* e *O. niloticus* e não afetou *P. scalare*. Reduziu a frequência de ameaça perpendicular, confronto paralelo, perseguição e ataques totais em *O. niloticus* e aumentou a exibição frontal e o confronto frontal em *P. scalare*, não afetando as interações agressivas em *G. proximus*. O tempo para a definição da hierarquia social foi semelhante entre os tratamentos nas 3 espécies. Assim, o aumento da intensidade luminosa reduz a agressividade em *O. niloticus*, aumenta em *P. scalare* e não afeta a de *G. proximus*. Observou-se também, nas 2 condições de luminosidade, que o nível de agressividade em *O. niloticus* foi maior que em *G. proximus*, que, por sua vez, foi maior que *P. scalare*. Isso sugere que a intensidade luminosa modula diferentemente a interação de peixes sociais, podendo o mecanismo estar associado aos padrões de agressividade de cada espécie.

INTRODUÇÃO

Conflitos de interesse são frequentemente observados entre os animais e decorrem da competição e defesa de recursos limitados entre dois indivíduos (Eibl-Eibesfeldt, 1961). Essa disputa de recursos é realizada por meio do comportamento agressivo (agonístico) que, por sua vez, é caracterizado por interações de ameaça e luta (Eibl-Eibesfeldt, 1961; Becker *et al.*, 1993).

A função da interação agressiva varia entre as espécies e dependendo das condições sociais e ambientais (Villars, 1983). Em peixes, as lutas podem definir o acesso a sítios de alimentação e acasalamento (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998), a defesa de parceiros (Yamamoto *et al.* 1999) e de prole (Fitzgerald & Keenleyside, 1978). A importância do comportamento agonístico também é evidente nas espécies de peixes da Família Cichlidae cuja organização social é baseada na hierarquia de dominância e territorialidade (Baerends & Baerends Van Roon, 1950).

O desenvolvimento da interação agonística depende da associação entre o estado interno do indivíduo e os estímulos externos que atuam sobre ele (Huntingford, 1991). Assim, em peixes, os fatores que podem afetar a agressividade são: o isolamento social (Gómez-Laplaza & Morgan 2000), o tamanho do grupo (Andries & Nelissen, 1990; Haller, 1992; Quinn *et al.*, 1996), a fase reprodutiva (Holder *et al.*, 1991; Yamamoto *et al.*, 1999; Jaroensutasinee & Jaroensutasinee, 2003), os níveis hormonais (Villars, 1983; Munro & Pitcher, 1985; Pitcher, 1993; Øverli *et al.*, 2002; Summers & Wiberg, 2006; Trainor & Hofman, 2006), a experiência social prévia (Nelissen & Andries, 1988), o sexo do animal (Balshine-Earn & Lotem, 1998, Carvalho & Gonçalves-de-Freitas, 2008) e as condições abióticas (Adams *et al.*, 1998; Nieceza & Metcalfe, 1999; Sloman *et al.*, 2001).

O comportamento agressivo pode ser modificado por fatores ambientais, tais como, a disponibilidade de refúgios (Fischer & Ohl, 2005), variações estruturais do ambiente (Hofmann *et al.*, 1999; Blanchet *et al.*, 2006), o fluxo e o nível de água (Sloman *et al.*, 2001; Sloman *et al.*, 2002; Teresa, 2005), a turbulência (Sneddon, *et al.*, 2006) a concentração de oxigênio (Sneddon & Yerbury, 2004) e de poluentes (Sloman *et al.*, 2003; Scott & Sloman, 2004), a temperatura (Olla *et al.*, 1978; Fitzgerald *et al.*, 1986) e a luminosidade (Sakakura & Tsukamoto, 1997). De fato, a luminosidade regula muitas atividades e padrões comportamentais em peixes, incluindo a agressividade (Helfman, 1993). No entanto, embora o efeito desse fator abiótico sobre as interações agressivas seja observado, a resposta em diferentes espécies e os mecanismos que desencadeiam essa relação são pouco conhecidos.

O aumento da luminosidade, por exemplo, pode reduzir a agressividade em algumas espécies de peixes (Sakakura & Tsukamoto, 1997; Castro & Caballero, 2004). De acordo com Olla *et al.* (1978), em um ambiente que exige grande demanda energética com ajustes fisiológicos (como em uma condição de alta luminosidade) a redução da agressão seria uma resposta adaptativa, pois minimizaria os gastos de energia. Além disso, peixes expostos a longos períodos de luz apresentam maiores níveis de cortisol (Almazan-Rueda *et al.*, 2005) que, por sua vez, podem diminuir o comportamento agressivo (Øverli *et al.*, 2002; Summers & Winberg, 2006). Castro & Caballero (2004) também sugerem que a redução da agressividade em alta luminosidade é um mecanismo para reduzir a conspicuidade do animal no ambiente.

Contrariando os trabalhos acima, alguns estudos mostram que a maior luminosidade pode aumentar a frequência de encontros agonísticos (Nicieza & Metcalfe, 1999; Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Almazán-Rueda *et al.*, 2004). Esse efeito pode ser mediado pela redução dos níveis de melatonina. Esse hormônio é produzido pela glândula pineal e liberado em maior quantidade em baixa intensidade luminosa ou durante a ausência de luz (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002). A melatonina também regula diversos eventos fisiológicos, metabólicos e comportamentais, incluindo a agressividade (Ebadi *et al.*, 1993; Pitcher, 1993). De fato, Munro (1986) demonstrou que a injeção de melatonina reduz a agressão em *Aequidens pulcher*. Além disso, o L- triptofano, precursor da melatonina (Ekström & Meissl, 1997), diminui a agressividade em peixes (Winberg *et al.*, 2001; Hoglund *et al.*, 2005). Assim, é provável que quanto maior a luminosidade, menor a liberação de melatonina e, conseqüentemente, maior a frequência do comportamento agressivo.

Independente dos mecanismos envolvidos, espera-se que a exposição à maior luminosidade module as interações sociais em peixes territoriais. De acordo com essa predição, o objetivo foi testar se a intensidade luminosa interfere na agressividade de 3 espécies de ciclídeos, *Geophagus proximus* (Castelnau, 1855), *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) e *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823).

Representantes da família Cichlidae foram escolhidos porque possuem organização social baseada na hierarquia de dominância e defesa territorial (ex. Volpato *et al.*, 1989; Cacho *et al.*, 1996; Teresa & Gonçalves-de-Freitas, 2003), ideal para testar a hipótese sugerida. Além disso, estudos comparativos são pouco frequentes e tornam-se cada vez mais necessários, uma vez que a diversidade de peixes tropicais é grande e muitas generalizações são feitas com base em poucas espécies. *Geophagus proximus* (Castelnau, 1855) é um ciclídeo amazônico que vive principalmente em canais e associado a substrato arenoso (informações obtidas para *G. surinamensis*; <http://www.fishbase.org/search.php>). Já a tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*

(Linnaeus, 1758), é um ciclídeo africano que ocorre em uma grande variedade de habitats (Axelrold, 1996). O acará bandeira, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), é originário da Bacia Amazônica e habita sistemas com grande densidade de vegetação, preferindo águas pouco profundas e cristalinas (<http://www.fishbase.org/search.php>). Assim, este trabalho testou se a condição ambiental modula o comportamento agressivo nessas três espécies de peixes sociais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi avaliada a influência da intensidade luminosa sobre a agressividade em jovens de *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*. Foram utilizados *G. proximus* e tilápias-do-Nilo (*O. niloticus*) provenientes da Mini-Estação de Piscicultura do CAUNESP / UNESP, São José do Rio Preto, SP. Já os acarás bandeira (*P. scalare*) foram procedentes do Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Jaboticabal, SP.

Aclimação

Os espécimes foram aclimatados no laboratório em caixa de cimento amianto de 500L (1 animal/5L) por, no mínimo, 15 dias antecedendo os experimentos. Durante esse período, a temperatura foi mantida em torno de 27 °C, a intensidade luminosa em $706,90 \pm 89,80$ lx e o fotoperíodo em 12 h (07:00 h às 19:00 h). Filtros biológicos garantiram a qualidade da água e a ração comercial (*G. proximus*: Alcon Bottom fish; *O. niloticus*: 32% de proteína; Guabi / Pirá- Campinas, Brasil e *P. scalare*: Alcon Basic) foi oferecida à vontade duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).

Delineamento Experimental

Foi comparado o perfil agonístico em duplas de *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare* para inferir se há efeito da luminosidade sobre a agressividade dessas espécies. Para isso foram realizados dois tratamentos para cada espécie, sendo que no primeiro os animais foram submetidos à intensidade luminosa de $253,56 \pm 62,25$ lx e, no segundo, à intensidade de $1.435,92 \pm 481,40$ lx (n=10, com exceção para maior intensidade de *G. proximus* onde n=8). A média da intensidade luminosa em cada condição experimental foi obtida a partir de 36 pontos amostrados no aquário, por meio de luxímetro digital portátil (modelo LD 240). A maior intensidade de luz foi emitida por duas lâmpadas fluorescentes de 9 W fixadas a 5,5 cm da superfície da água do aquário. A menor intensidade foi obtida a partir da iluminação convencional do laboratório.

Os peixes foram medidos, pesados, isolados por 96 h e, em seguida, pareados por um período suficiente para o estabelecimento da hierarquia de dominância, isto é, 30 min para *G. proximus* (Teresa & Gonçalves-de-Freitas, 2003), 40 min para *O. niloticus* (Carvalho & Gonçalves-de-Freitas, 2008) e 20 min para *P. scalare* (observação pessoal). Durante todo o período de isolamento e pareamento os animais estavam sob luminosidade de acordo com o tratamento experimental. Foi utilizado o paradigma residente-intruso (Figler & Einhorn, 1983),

sendo que os acarás bandeira foram identificados por diferenças naturais nos padrões de coloração e *G. proximus* e tilápia-do-Nilo por pequenos cortes na nadadeira caudal.

Como o tamanho é um fator que interfere no perfil agonístico (Beeching, 1992), as duplas foram formadas por indivíduos de comprimento padrão e peso semelhantes (Tabela 1). Não existe evidente dimorfismo sexual secundário em *Pterophyllum scalare* (Cacho, 2002) e *Geophagus surinamensis* (= *G. proximus*) (Palicka, 1992). Dessa forma, todos os animais utilizados foram jovens para evitar efeito do sexo do oponente sobre a interação agonística, como observado por Carvalho & Gonçalves-de-Freitas (2008) para a tilápia-do-Nilo.

Tabela 1. Comprimento padrão e peso (média \pm desvio padrão) dos residentes e intrusos de *Geophagus proximus* (n=18), *Oreochromis niloticus* (n=20) e *Pterophyllum scalare* (n=20).

	<i>Geophagus proximus</i>			<i>Oreochromis niloticus</i>			<i>Pterophyllum scalare</i>		
	residente	intruso	P ¹	residente	intruso	P ¹	residente	intruso	P ¹
Comprimento padrão (cm)	7,29 \pm 0,28	7,22 \pm 0,30	0,524	6,06 \pm 0,33	6,05 \pm 0,32	0,935	3,11 \pm 0,20	3,03 \pm 0,19	0,218
peso (g)	10,25 \pm 1,35	9,96 \pm 1,65	0,571	8,69 \pm 1,95	7,80 \pm 1,24	0,092	1,12 \pm 0,29	0,98 \pm 0,23	0,090

¹Teste t independente

Interação Agonística

A interação agonística foi registrada em uma filmagem correspondente ao tempo de pareamento e iniciada imediatamente após inclusão do peixe intruso no aquário do residente. A interação foi quantificada pela frequência de itens agressivos, a partir dos etogramas descritos abaixo, baseados em Teresa & Gonçalves-de-Freitas (2003) para *Geophagus surinamensis* (= *G. proximus*), Falter (1983) e Alvarenga & Volpato (1995) para *Oreochromis niloticus* e modificados de Cacho *et al.* (1999) e Yamamoto *et al.* (1999) para *Pterophyllum scalare*.

Etograma da interação agonística em *Geophagus surinamensis* (= *G. proximus*)

AMEAÇA: o peixe se aproxima lateralmente de outro e abre a boca sem encostá-la no corpo do oponente.

FRONTAL: dois peixes justapõem suas mandíbulas e um dele empurra o outro, ou ambos empurram mutuamente.

FUGA: o peixe se afasta do oponente que o persegue ou ataca.

LATERAL: o peixe abre a boca e percute com ela o corpo do oponente, fechando-a no momento do contato. Pode ocorrer nas laterais medianas do corpo, no ventre, no dorso, nas nadadeiras ou cabeça do peixe agredido.

PARALELO: dois peixes ficam lado a lado com as cabeças voltadas no mesmo sentido ou em sentido oposto, ondulando o corpo vigorosamente.

ONDULAÇÃO: o peixe ondula o corpo no sentido antero-posterior quando está próximo do oponente.

PERSEGUIÇÃO: o peixe segue o oponente enquanto este foge.

Etograma da interação agonística em *Oreochromis niloticus*

AMEAÇA: animal se aproxima do oponente com a boca aberta, preparando-se para uma mordida lateral, mas seu oponente foge antes de ser atacado.

AMEAÇA LATERAL SIMULTÂNEA: caracterizado pelo nado em trajetória circular dos 2 animais, geralmente com as nadadeiras eriçadas. É mais lento que perseguição e fuga.

AMEAÇA PERPENDICULAR: um indivíduo fica no centro do aquário enquanto o outro nada ao seu redor, em trajetória circular. O animal do centro mantém os olhos voltados para o oponente, acompanhando sua trajetória, porém mantendo-se no centro do círculo.

FRONTAL: dois animais se aproximam frontalmente, justapõem as mandíbulas com a boca aberta e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo.

FUGA: caracteriza-se por natação rápida do animal perseguido ou atacado, distanciando-se do oponente.

LATERAL: um animal se aproxima de outro e ataca a região lateral do oponente com mordidas ou golpes com a boca aberta.

PARALELO: dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam simultaneamente o corpo, sem que ocorra contato físico.

ONDULAÇÃO: animal ondula vigorosamente o corpo no sentido antero-posterior.

PERSEGUIÇÃO: um animal nada em direção ao outro, acompanhando sua trajetória.

Etograma da interação agonística em *Pterophyllum scalare*

AMEAÇA: movimento de investida de um peixe em direção ao oponente que foge antes de ser atacado.

EXIBIÇÃO FRONTAL: dois peixes posicionam-se frente a frente, sem contato e com as cabeças levantadas (ângulo em torno de 45°).

FRONTAL: peixes justapõem as mandíbulas, permanecem seguros por essas e se empurram.

FUGA: caracteriza-se por natação rápida do animal perseguido ou atacado, distanciando-se do oponente.

LATERAL: animal se aproxima de outro e ataca a região lateral do oponente com mordidas ou golpes com a boca aberta.

ONDULAÇÃO: peixe ondula vigorosamente o corpo no sentido ântero-posterior.

PERSEGUIÇÃO: peixe nada rapidamente em direção ao oponente.

Também foi registrado o número total de confrontos, correspondendo a todos os eventos agonísticos, com exceção da fuga. Os ataques emitidos e recebidos foram analisados para a dupla (residente + intruso) nas 3 espécies. Além disso, foram avaliadas as latências para os confrontos e para a definição da hierarquia social.

Aquários e manutenção dos animais

Os animais foram mantidos em aquários de 30 x 30 x 40 cm (~ 30 L) revestidos por plástico azul opaco em três lados para evitar contato visual com animais de aquários vizinhos no laboratório, ficando apenas a porção frontal livre para as observações. A cor azul foi utilizada porque reduz o estresse na tilápia-do-Nilo (Volpato & Barreto, 2001). A qualidade da água dos aquários foi mantida por meio de filtro biológico e aeração constante. A temperatura da água foi controlada em $25,80 \pm 1,30$ °C e o fotoperíodo em 12 h (7:00h às 19:00h). Os animais receberam ração comercial (como utilizado na aclimatação) na proporção de 2% da biomassa oferecida no início da manhã e no final da tarde.

Manipulação dos animais

A manipulação dos animais para o isolamento foi precedida por anestesia com solução de benzocaína (12,8 mg/L). A transferência do animal intruso para o aquário do residente foi realizada sem anestesia, mas a manipulação foi feita cuidadosamente, de modo a minimizar estresse adicional. Ao final do experimento os animais foram mortos por dose letal de anestésico (benzocaína: 25,6 mg/L) e dissecados para inspeção macroscópica do estágio de desenvolvimento das gônadas para confirmar se todos os animais estavam imaturos. O critério utilizado foi baseado em Paiva *et al.* (1988).

Análise dos Dados

Foi analisada a existência de valores discrepantes que foram retirados dos dados brutos e substituídos pelas medianas. Em seguida, os dados foram testados quanto à normalidade pelo

teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variância pelo teste F max (Zar, 1999). A latência para confrontos, o tempo para a definição da hierarquia de dominância e a frequência de itens agonísticos entre os dois tratamentos (menor e maior intensidade luminosa) para cada espécie foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Também foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, completado pelo teste LSD, para a comparação da latência para confrontos, do estabelecimento da hierarquia social e da frequência de interação agressiva entre as 3 espécies em cada intensidade luminosa. Foi considerado $p \leq 0,05$ para significância estatística. Todas as análises foram baseadas em Zar (1999) e Siegel & Castellan (2006).

Nota Ética

Este estudo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da UNESP, Botucatu, SP (protocolo n° 52/06).

RESULTADOS

A latência para os confrontos foi maior no grupo submetido à maior intensidade luminosa em *G. proximus* (Mann-Whitney, $U = 18,50$; $p = 0,05$) e *O. niloticus* (Mann-Whitney, $U = 13,50$; $p = 0,00$). Já para *P. scalare*, não foi observada diferença na latência entre as condições experimentais (Mann-Whitney, $U = 41$; $p = 0,50$; Figura 1). Considerando a latência para a definição da hierarquia social, não foi observada diferença entre menor e maior intensidade nas 3 espécies (Mann-Whitney, $U > 26$; $p > 0,07$). A maior intensidade luminosa não afetou a agressividade das duplas em *Geophagus proximus*, (Mann-Whitney, $U > 27$; $p > 0,25$) diminuiu a frequência do comportamento agonístico (ameaça perpendicular, paralelo, perseguição e total de ataques) na tilápia-do-Nilo (Mann-Whitney, $U < 23,5$; $p < 0,04$) e aumentou (exibição frontal e frontal) no acará bandeira (Mann-Whitney, $U < 21$; $p < 0,03$; Figura 2).

Nas duas intensidades luminosas, observou-se que *O. niloticus* apresentou menor latência para os confrontos que *G. proximus* e *P. scalare*, não sendo observada diferença entre essas 2 espécies (LSD, $p < 0,02$; Figura 1). Já a latência para a duração da interação foi semelhante entre as 3 espécies na menor e na maior intensidade luminosa (Kruskal-Wallis, $H < 0,87$; $p > 0,63$; Figura 1). Nas duas intensidades luminosas, a interação agressiva de *O. niloticus* foi semelhante a de *G. proximus*, no entanto, ambas apresentaram algumas diferenças em relação a *P. scalare*. Dessa forma, *P. scalare* apresentou menor frequência de ondulação que as outras 2 espécies (Kruskal-Wallis, $H > 20,40$; $p < 0,00$). Além disso, *G. proximus* apresentou maior ameaça e menor frontal que *P. scalare* (Kruskal-Wallis, $H = 7,71$; $p = 0,02$ e $H = 7,76$; $p = 0,02$, respectivamente; Figura 3).

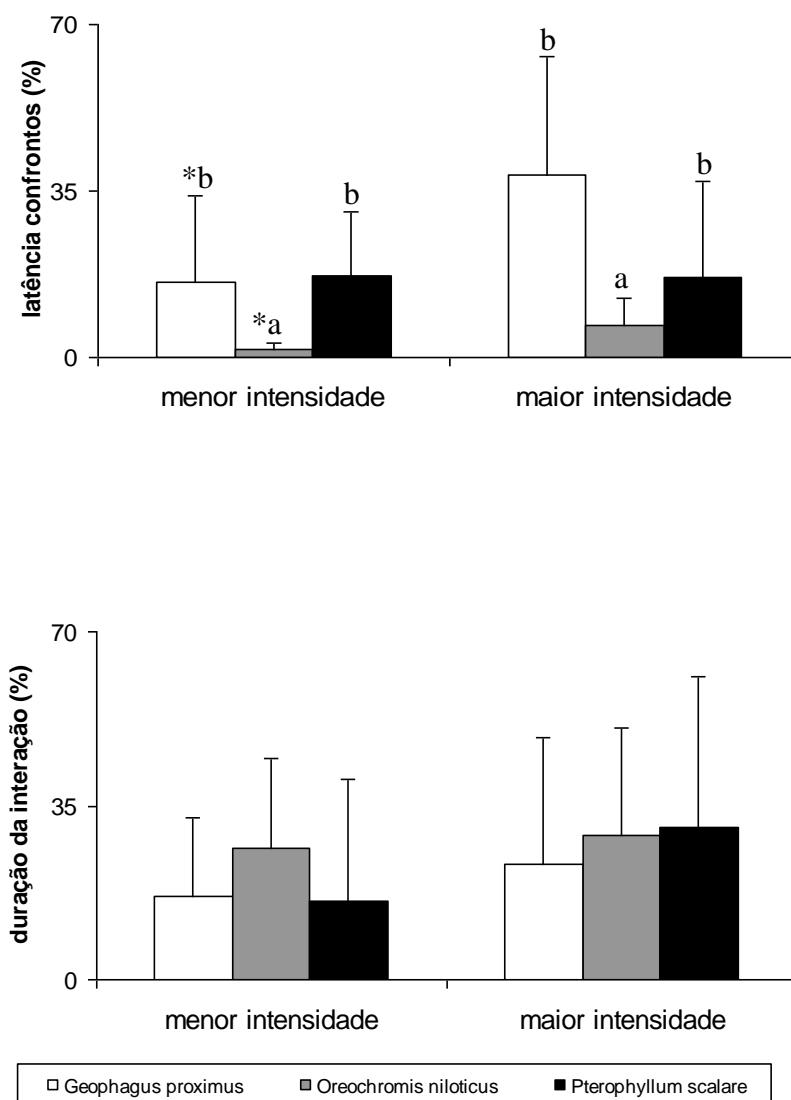
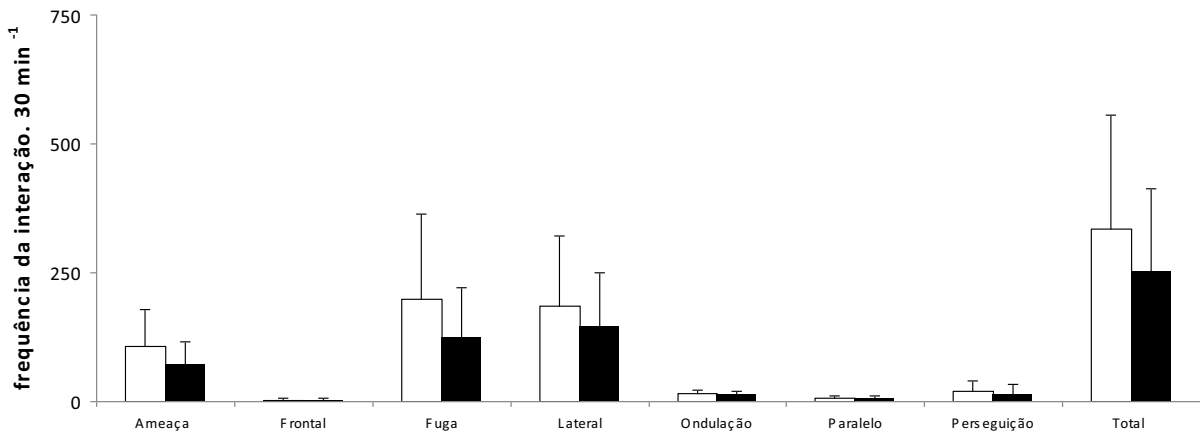
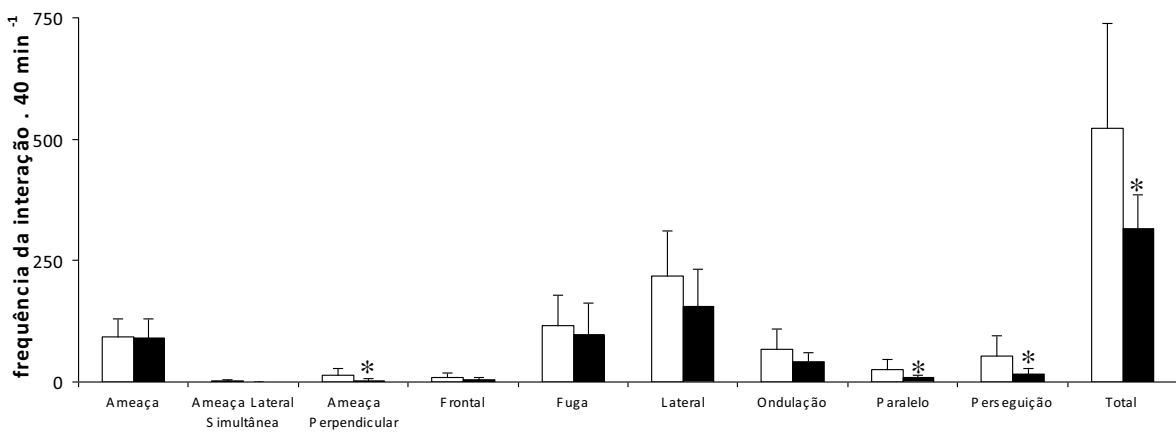


Figura 1. Média (\pm desvio padrão) da latência relativa para os confrontos e para a duração da interação na menor e na maior intensidade luminosa em *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*. Asterisco indica diferença significativa entre as intensidades luminosas para a mesma espécie (Mann-Whitney, $p < 0,05$). Letras diferentes indicam diferença estatística entre as espécies em cada luminosidade (LSD, $p < 0,02$).

Geophagus proximus



Oreochromis niloticus



Pterophyllum scalare

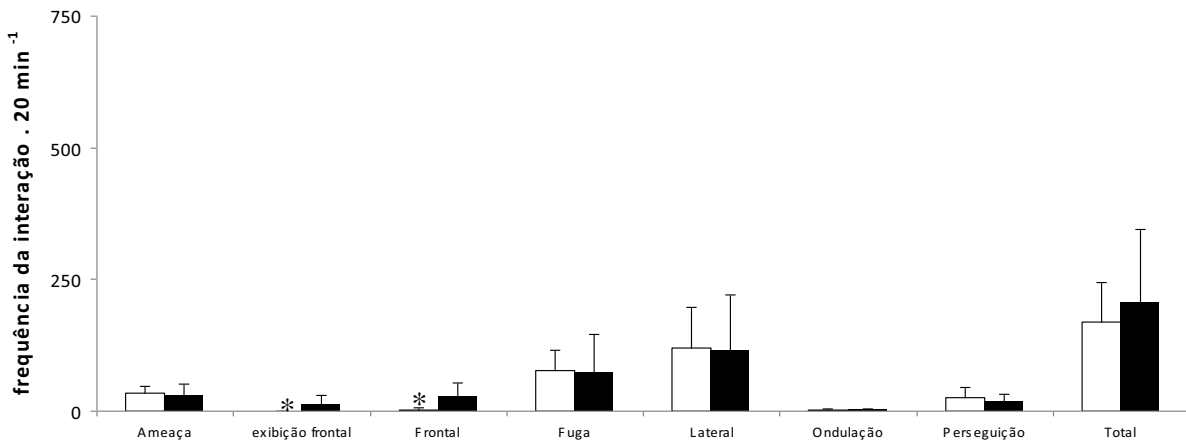


Figura 2. Média (\pm desvio padrão) da frequência da interação agonística na menor e na maior intensidade luminosa para *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare*. Asterisco indica diferença significativa (Mann-Whitney, $p < 0,03$).

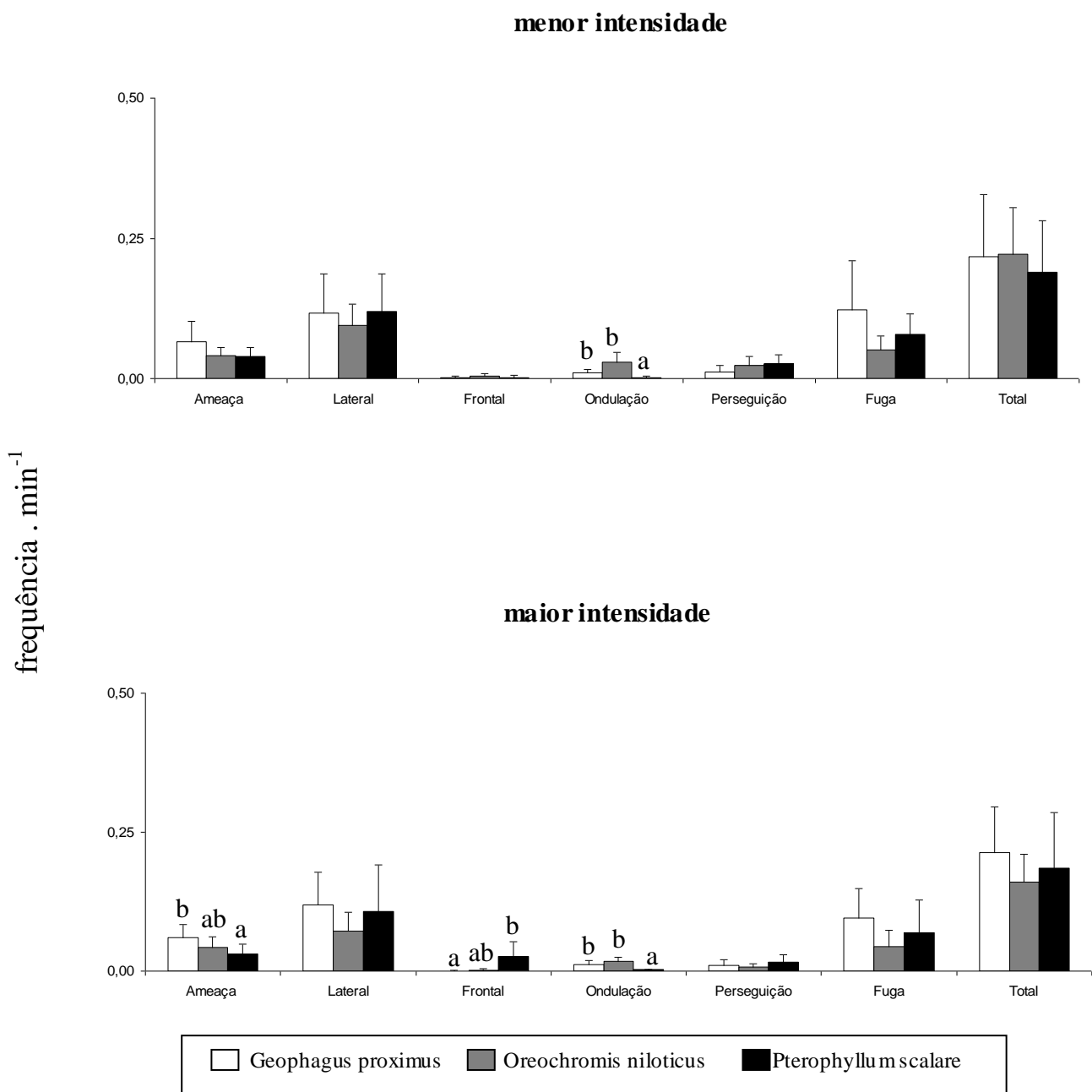


Figura 3. Frequência da interação agonística (média \pm desvio padrão) para *Geophagus proximus*, *Oreochromis niloticus* e *Pterophyllum scalare* na menor e na maior intensidade luminosa. Letras diferentes indicam diferenças significativas (Kruskal-Wallis, $p < 0,02$).

DISCUSSÃO

A luminosidade modula diferentemente a interação agressiva em diferentes espécies de peixes sociais. As diferenças parecem emergir de diferentes estratégias associadas ao nível basal de agressividade de cada espécie. Essas respostas espécie-específicas indicam a importância de estudos comparativos.

A menor latência para os confrontos observada no grupo de menor intensidade luminosa indica que essa condição estimula a motivação agressiva para iniciar a interação em *G. proximus* e na tilápia-do-Nilo. Por outro lado, a luminosidade não exerce efeito sobre a motivação agressiva no acará bandeira, pois não foi observada diferença para o início da interação entre os tratamentos de menor e maior intensidade luminosa.

Embora o nível de luminosidade afete a motivação agressiva para o início dos confrontos em duas espécies, não é observado efeito da intensidade luminosa sobre duração da interação, considerando o período entre o início dos confrontos até a definição da hierarquia social. Isso é sugerido, pois o nível de intensidade luminosa não influenciou o tempo para a definição da interação social nas 3 espécies.

Outros estudos mostraram que a luminosidade afeta o comportamento agressivo em peixes, no entanto, os resultados são contraditórios. De acordo com Sakakura & Tsukamoto (1997) e Castro & Caballero (2004), altos níveis de intensidade luminosa diminuem a frequência de interação agressiva. Por outro lado, a maior intensidade de luz pode proporcionar maior agressividade (Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Almazán-Rueda *et al.*, 2004). De fato, neste estudo a luminosidade afetou diferentemente as 3 espécies de peixes sociais.

A maior intensidade luminosa não influenciou a agressividade de *G. proximus*. Esse resultado contraria os relatos de que essa espécie apresenta alta responsividade a luminosidade (Palicka, 1992). No entanto, a ausência de efeito da intensidade luminosa sobre a interação agonística pode indicar que o maior nível de luminosidade utilizado não foi suficiente para afetar os mecanismos reguladores do comportamento agressivo nessa espécie.

Considerando a tilápia-do-Nilo e o acará bandeira, a maior luminosidade diminuiu e aumentou, respectivamente, a frequência dos encontros agonísticos. Segundo Sakakura & Tsukamoto (1997) e Castro & Caballero (2004), o aumento da agressividade é observado até um certo limite de aumento da intensidade luminosa, sendo que após esse limiar, a interação agonística diminui. Assim, para a tilápia-do-Nilo esse limite de luminosidade pode ter sido ultrapassado, o que, conseqüentemente, gerou uma redução na frequência de interações

agonísticas. Por outro lado, no acará bandeira, o limiar de intensidade que reduz as interações pode não ter sido atingido, uma vez que houve aumento da interação agressiva na maior luminosidade. Isso indica que essas espécies apresentam diferentes níveis de sensibilidade à luminosidade.

Uma explicação alternativa para a diminuição da agressividade em maior intensidade de luz na tilápia-do-Nilo pode ser sugerida, já que essa espécie também utiliza-se de sinais visuais na identificação da posição hierárquica, o que não é tão evidente para o acará bandeira e *G. proximus*. Após o estabelecimento hierárquico, observa-se no submisso o aparecimento de listras enegrecidas, já o dominante permanece mais claro (Falter, 1983). De acordo com Johnsson (1997), o reconhecimento hierárquico é importante, pois mantém a estabilidade da hierarquia social que, por sua vez, diminui a frequência de encontros agressivos. Dessa forma, a maior intensidade luminosa pode tornar os sinais hierárquicos mais evidentes e, conseqüentemente, levar a uma redução das interações agressivas.

As diferentes respostas à intensidade luminosa observadas entre as 3 espécies podem estar associadas às características do ambiente de origem das mesmas, pois espécies com diferentes preferências ecológicas podem responder de maneiras distintas a variações ambientais (Burlison *et al.*, 2001). Embora *Geophagus proximus* e *Pterophyllum scalare* sejam originários da mesma região (América do Sul), essas espécies ocupam habitats diferentes (<http://www.fishbase.org/search.php>), o que não permite desconsiderar a interferência do ambiente no efeito da luminosidade sobre a agressividade. Por outro lado, a pouca informação sobre a biologia das espécies (principalmente *G. proximus*) dificulta a associação das respostas agressivas frente à luminosidade com o ambiente.

Os diversos efeitos da maior intensidade luminosa sobre as interações agressivas nas 3 espécies também podem ser derivados de diferentes mecanismos. Por exemplo, a diminuição do comportamento agressivo pode ser decorrente do maior gasto energético proporcionado pela condição ambiental (ex: Sneddon & Yerbury, 2004) ou da estratégia de diminuir a conspicuidade do animal (Castro & Caballero, 2004). Por outro lado, o aumento da frequência de encontros agonísticos em maior luminosidade pode ser mediado pela melatonina, hormônio liberado em maior quantidade em baixa intensidade luminosa (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002) e que pode diminuir as interações agonísticas (Munro, 1986).

Diferenças na agressividade também podem ter proporcionado as respostas distintas da intensidade luminosa sobre os encontros agonísticos. De acordo com Benus *et al.* (1988), ratos com diferentes padrões agressivos são afetados de maneiras distintas por fatores externos, como a luminosidade. De fato, o nível de agressividade na tilápia-do-Nilo foi maior que em *G.*

proximus que, por sua vez, foi maior que no acará-bandeira. Assim, conclui-se que a luminosidade é uma condição ambiental que modula diferentemente o comportamento agressivo de peixes sociais, podendo essa resposta ser decorrente de diferentes mecanismos que, por sua vez, podem estar associados aos padrões de agressividade de cada espécie.

REFERÊNCIAS

- Adams, C.E.; Huntingford, F.A.; Turnbull, J.F. & Beattie, C. (1998). Alternative competitive strategies and the cost of food acquisition in juvenile Atlantic salmon. *Aquaculture*, 167: 17-26.
- Andries, S. & Nelissen, M.H.J. (1990). A study of the dominance hierarchy in four Mbuna-species: *Melanochromis johanni*, *M. auratus*, *Pseudotropheus ornatus* and *P. lombardoi* (Teleostei: Cichlidae). *Belgian Journal of Zoology*, 120: 165-193.
- Almazán-Rueda, P.; Schrama, J.W. & Verreth, J.A.J. (2004). Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 347-359.
- Almazán-Rueda, P.; Van-Helmond, A.T.M.; Verreth, J.A.J. & Schrama, J.W. (2005). Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039.
- Alvarenga, C.M.D. & Volpato, G.L. (1995). Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiology and Behavior*, 57: 75-80.
- Axelrold, H.R. (1996). The most complete colored lexicon of cichlids. TFH Publications, Neptune, 2ª edição, 864p.
- Baerends, G.P. & Baerends Van Roon, J. (1950). An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behaviour Supplement*, 1: 1-242.
- Balshine-Earn, S. & Lotem, A. (1998). Individual recognition in a cooperatively breeding cichlid: evidence from video playback experiments. *Behaviour*, 135: 369-386.
- Bayarri, M.J.; Madrid, J.A. & Sánchez-Vázquez, F.J. (2002). Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32: 34-40.
- Becker, J.B.; Breedlove, S.M. & Crews, D. (1993). Behavioral Endocrinology. Massachusetts Institute of Technology, 574p.
- Beeching, S.C. (1992). Visual assessment of relative body size in a cichlid fish, the oscar, *Astronotus ocellatus*. *Ethology*, 90: 177-186.
- Benus, R.F.; Koolhaas, J.M. & Van Oortmerssen, A. (1988). Aggression and adaptation to the light-dark cycle: role of intrinsic and extrinsic control. *Physiology and Behavior*, 43: 131-137.

- Blanchet, S.; Dodson, J.J. & Brosse, S. (2006). Influence of habitat structure and fish density on Atlantic salmon *Salmo salar* L. territorial behaviour. *Journal of Fish Biology*, 68: 951-957.
- Burleson, M.L.; Wilhelm, D.R. & Smatresh, N.J. (2001). The influence of fish size on the avoidance of hypoxia and oxygen selection by largemouth bass. *Journal of Fish Biology*, 59: 1336-1349.
- Cacho, M.S.R.F.; Yamamoto, M.E. & Chellappa, S. (1996). Encontros agonísticos entre machos de acará bandeira *Pterophyllum scalare* durante a fase reprodutiva. *Boletim do DOL/CB/UFRN*, 9: 19-23.
- Cacho, M.S.R.F.; Yamamoto, M.E. & Chellappa, S. (1999). Comportamento reprodutivo do acará-bandeira, *Pterophyllum scalare*, Cuvier & Valenciennes (Osteichthyes, Cichlidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 16: 653-664.
- Cacho, M.S.R.F. (2002). Sistema de acasalamento e sucesso reprodutivo em acará bandeira, *Pterophyllum scalare*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, RN. 127p.
- Carvalho, T.B. & Gonçalves-de-Freitas, E. (2008). Sex group composition, social interaction, and metabolism in the fish Nile tilapia. *Brazilian Journal of Biology*, 68: 807-812.
- Castro, J.J. & Caballero, C. (2004). Effect of the light intensity upon the agonistic behaviour of juvenile of white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behavior*, 30: 313-318.
- Ebadi, M.; Samejima, M. & Pfeiffer, R.F. (1993). Pineal gland in synchronizing and refining physiological events. *NIPS*, 8: 30-33.
- Eibl-Eibesfeldt, I. (1961). The fighting behavior of animals. *Scientific American*, 205: 112-121.
- Ekström, P. & Meissl, H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Review in Fish and Fisheries*, 7: 199-284.
- Falter, U. (1983). Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l'incubation buccale. *Bulletin de la Classe des Sciences*, 69: 566-593.
- Figler, M.H. & Einhorn, D.M. (1983). The territorial prior residence effect in convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum* Günther): temporal aspects of establishment and retention, and proximate mechanisms. *Behaviour*, 85: 157-183.
- Fischer, P. & Ohl, U. (2005). Effects of water-level fluctuations on the littoral benthic fish community in lakes: a mesocosm experiment. *Behavioral Ecology*, 16: 741-746.

- Fitzgerald, G.J. & Keenleyside, M.H.A (1978). The effects of numerical density of adult fish on reproduction and parental behavior in the convict cichlid *Cichlasoma nigrofasciatum* (Gunther). *Canadian Journal of Zoology*, 56: 1367-1371.
- Fitzgerald, G.J.; Guderley, H. & Blouin, M. (1986). The effect of temperature upon the aggressive behavior of male sticklebacks (Gasterosteidae). *Le Naturaliste Canadien*, 113: 235-240.
- Gómez-Laplaza, L.M. & Morgan, E. (2000). Laboratory studies of the effects of short-term isolation on aggressive behaviour in fish. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 33: 63-102.
- Gonçalves-de-Freitas, E. & Nishida, S.M. (1998). Sneaking behaviour of the Nile tilapia. *Boletim Técnico do Cepta*, 12: 71-79.
- Haller, J. (1992). Group size modifies the patterns and muscle carbohydrate effects of aggression in *Betta splendens*. *Physiology and Behavior*, 52: 287-290.
- Helfman, G.S. (1993). Fish Behaviour by Day, Night and Twilight. *In: Pitcher, T.J. Behaviour of Teleost Fishes*. Chapman & Hall, London, 715p.
- Hofmann, H.A., Benson, M.E. & Fernald, R.D. (1999). Social status regulates growth rate: consequences for life-history strategies. *PNAS*, 96: 14171-14176.
- Hoglund, E.; Bakke, M.J.; Øverli, Ø; Winberg, S.; Nilsson, G. E. (2005). Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by l-tryptophan supplementation. *Aquaculture*, 249: 525– 531.
- Holder, J.L.; Barlow, G.W. & Francis, R.C. (1991). Differences in aggressiveness in the Midas cichlid fish (*Cichlasoma citrinellum*) in relation to sex, reproductive state and the individual. *Ethology*, 88: 297-306.
- Huntingford, F. (1991). *The Study of Animal Behaviour*. Chapman and Hall, London, 411p.
- Jaroensutasinee, M. & Jaroensutasinee, K. (2003). Type of intruder and reproductive phase influence male territorial defence in wild-caught Siamese fighting fish. *Behavioural Processes*, 64: 23-29.
- Johnsson, J.I. (1997). Individual recognition affects aggression and dominance relations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ethology*, 103: 267-282.
- Munro, A.D. (1986). Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *Journal of Pineal Research*, 3: 257-262.
- Munro, A.D. & Pitcher, T.J. (1985). Steroid hormones and agonistic behaviour in a cichlid teleost, *Aequidens pulcher*. *Hormones and Behavior*, 19: 353-371.

- Nelissen, M.H.J. & Andries, S. (1988). Does previous experience affect the ranking of cichlid fish in a dominance hierarchy? *Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique*, 118: 41-50.
- Nicieza, A.G. & Metcalfe, N.B. (1999). Costs of rapid growth: the risk of aggression is higher for fast-growing salmon. *Functional Ecology*, 13: 793-800.
- Olla, B.L.; Studholme, A.L.; Bejda, A.J.; Samet, C. & Martin, A.D. (1978). Effect of temperature on activity and social behavior of the adult Tautog *Tautoga onitis* under laboratory conditions. *Marine Biology*, 45: 369-378.
- Øverli, Ø.; Kotzian, S. & Winberg, S. (2002). Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 42: 53-61.
- Paiva, P.; Verani, J.R.; Mainardes-Pinto, C.S.R. & Tabata, Y.A. (1988). Studies on the growth and reproduction in the cichlid *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757) in an earthen pond. *Boletim do Instituto de Pesca*, 15: 109-114.
- Palicka, J. (1992). The care of *Geophagus surinamensis*. *Tropical Fish Hobbyist*, 40: 8-12.
- Pitcher T.J. (1993). Behaviour of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London, 715p.
- Quinn, T.P.; Adkison, M.D. & Ward, M.B. (1996). Behavioral tactics of male Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) under varying operational sex ratios. *Ethology*, 102: 304-322.
- Sakakura, Y. & Tsukamoto, K. (1997). Effects of water temperature and light intensity on aggressive behavior in the juvenile yellowtails. *Fisheries Science*, 63: 42-45.
- Scott, G.R. & Sloman, K.A. (2004). The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic Toxicology*, 68: 369-392.
- Siegel, S. & Castellan Jr., N. (2006). Estatística Não-Paramétrica para Ciências do Comportamento. Artmed, Porto Alegre, 448p.
- Sloman, K.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2001). Effects of an environmental perturbation on the social behaviour and physiological function of brown trout. *Animal Behaviour*, 61: 325-333.
- Sloman, K.A.; Wilson, L.; Freel, J.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2002). The effects of increased flow rates on linear dominance hierarchies and physiological function in brown trout, *Salmo trutta*. *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1221-1227.
- Sloman, K.A.; Baker, D.W.; Ho, C.G.; McDonald, D.G. & Wood, C.M. (2003). The effects of trace metal exposure on agonistic encounters in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*, 63: 187-196.

- Sneddon, L.U. & Yerbury, J. (2004). Differences in response to hypoxia in the three-spined stickleback from lotic and lentic localities: dominance and an anaerobic metabolite. *Journal of Fish Biology*, 64: 799-804.
- Sneddon, L.U.; Hawkesworth, S.; Braithwaite, V.A. & Yerbury, J. (2006). Impact of environmental disturbance on the stability and benefits of individual status within dominance hierarchies. *Ethology*, 112: 437-447.
- Summers, C.H. & Winberg, S. (2006). Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 4581-4589.
- Teresa, F.B. & Gonçalves-de-Freitas, E. (2003). Interação agonística em *Geophagus surinamensis* (Teleostei, Cichlidae). *Revista Brasileira de Etologia*, 5: 121-126.
- Teresa, F.B. (2005). Nível de água e interação social em machos de tilápia-do-Nilo. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, SP. 21p.
- Trainor, B.C. & Hofman, H.A. (2006). Somatostatin regulates aggressive behavior in an African cichlid fish. *Endocrinology*, 11: 5119-5125.
- Valdimarsson, S.K. & Metcalfe, N.B. (2001). Is the level of aggression and dispersion in territorial fish dependent on light intensity? *Animal Behaviour*, 61: 1143-1149.
- Villars, T.A. (1983). Hormones and Aggressive Behavior in Teleost Fishes. *In: Svare, B.B.; Hormones and Aggressive Behavior*. Plenum Press, New York and London, 611p.
- Volpato, G.L.; Frioli, P.M.A. & Carrieri, M.P. (1989). Heterogeneous growth in fishes: some new data in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and a general view about the causal mechanism. *Boletim de Fisiologia Animal*, 13: 7-22.
- Volpato, G.L. & Barreto, R.E. (2001). Environmental blue light prevents stress in Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.
- Winberg, S.; Overli, O. & Lepage, O. (2001). Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. *The Journal of Experimental Biology*, 204: 3867-3876.
- Yamamoto, M.E.; Chellappa, S.; Cacho, M.S.R.F. & Huntingford, F.A. (1999). Mate guarding in an Amazonian cichlid, *Pterophyllum scalare*. *Journal of Fish Biology*, 55: 888-891.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical Analyses*. Printice Hall, New Jersey.

EXPERIMENTO II

**Efeito da luminosidade sobre a agressividade e níveis
de estresse em fêmeas de *Tilapia rendalli***

RESUMO

Variações na luminosidade podem aumentar ou reduzir o comportamento agressivo de peixes. Sabe-se que machos e juvenis são afetados, mas pouco se conhece sobre esses efeitos em fêmeas. Assim, foi testada a influência da intensidade luminosa sobre o comportamento agonístico e indicadores de estresse (frequência ventilatória e atividade da catalase) em fêmeas de *Tilapia rendalli*. Foram comparadas duas intensidades luminosas: menor ($253,56 \pm 62,25$ lx) e maior ($1.435,92 \pm 481,40$ lx) em 2 condições. 1. **Condição Social:** os animais foram isolados por 96 h e pareados (paradigma residente-intruso) por 1 h. 2. **Condição de Isolamento:** os animais foram isolados por 97 h. A latência para os confrontos e o tempo para o estabelecimento da hierarquia de dominância foram semelhantes nas duas intensidades luminosas. A dupla e o dominante exibiram maior frequência de ataques na menor luminosidade. Por outro lado, não houve diferença entre a frequência de ataques exibida pelo submisso nas duas intensidades de luz. A taxa ventilatória indicou que a menor intensidade luminosa atua como um estressor, no entanto, o estresse decorrente da competição entre os animais supera o efeito da luminosidade. Já a catalase não apresentou diferença entre as duas intensidades para todos os animais. Assim, conclui-se que a luminosidade afeta as interações agressivas em fêmeas de *Tilapia rendalli*, porém, a influência é exercida somente sobre o peixe dominante. Além disso, embora a intensidade luminosa atue como um estressor, essa resposta não funciona como o mecanismo causador do efeito da luminosidade sobre a interação agonística.

INTRODUÇÃO

Alterações físicas decorrentes de degradação ou de manipulação dos fatores para proporcionar melhorias na criação dos animais modificam as condições do ambiente. Essas mudanças são definidas pelo tipo de evento, bem como pela estrutura e funcionamento do meio e, conseqüentemente, afetam os seres vivos (Barrella *et al.*, 2000).

O ambiente aquático, por exemplo, tem sofrido contínuas modificações decorrentes de ação antrópica (Barrella *et al.*, 2000). Essas alterações podem atuar como um estressor, afetando variáveis fisiológicas e comportamentais dos animais aquáticos, particularmente dos peixes (Sloman *et al.*, 2001; Sloman *et al.*, 2002; Almazán-Rueda *et al.*, 2005; Sneddon *et al.*, 2006). Uma das características ambientais que pode ser alterada é a luminosidade. Esse fator é essencial para a sobrevivência dos peixes, pois regula muitas atividades e padrões comportamentais desses animais (Helfman, 1993).

De acordo com alguns estudos, o aumento da luminosidade aumenta a frequência de encontros agonísticos em teleósteos (Nicieza & Metcalfe, 1999; Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Almazán-Rueda *et al.*, 2004). Esse efeito pode ser mediado pela redução dos níveis de melatonina, hormônio produzido pela glândula pineal, que regula diversos eventos fisiológicos, metabólicos e comportamentais, incluindo a agressividade (Ebadi *et al.*, 1993; Pitcher, 1993). A síntese de melatonina é regulada pela luminosidade, sendo liberada em maior quantidade em baixa intensidade luminosa ou durante a ausência de luz (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002). De fato, Munro (1986) demonstrou que a injeção de melatonina reduz a agressão no peixe *Aequidens pulcher*. Winberg *et al.* (2001) mostraram que o L-triptofano, precursor da melatonina (Ekström & Meissl, 1997), diminui a agressividade na truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Assim, é provável que quanto maior a luminosidade, menor a liberação de melatonina e, conseqüentemente, maior a frequência do comportamento agressivo.

Por outro lado, o aumento da luminosidade pode reduzir a agressividade em algumas espécies de peixes (Sakakura & Tsukamoto, 1997; Castro & Caballero, 2004). De acordo com Olla *et al.* (1978), em um ambiente que exige grande demanda energética com ajustes fisiológicos (como em uma condição de alta luminosidade) a redução da agressão seria uma resposta adaptativa, pois minimizaria os gastos de energia. De fato, Sneddon & Yerbury (2004) sugerem que a diminuição do comportamento agressivo em *Gasterosteus aculeatus* é uma estratégia para reduzir o gasto de energia ocasionado pela mudança metabólica resultante de uma alteração ambiental. Castro & Caballero (2004) consideram a diminuição da

agressividade em alta luminosidade um mecanismo para reduzir a conspicuidade do animal no ambiente.

Estudos preliminares com outros ciclídeos (experimento I) indicaram que a maior intensidade luminosa aumenta a frequência do comportamento agonístico no acará bandeira (*Pterophyllum scalare*), diminui na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e não afeta a agressividade em *Geophagus proximus*. Essas diferentes respostas espécie-específicas indicam a dificuldade de se fazer generalizações e a importância de estudos comparativos.

Independente do tipo de efeito da luminosidade sobre o comportamento agressivo, é possível que esse fator promova o aumento do estresse, afetando indiretamente parâmetros fisiológicos que envolvem gasto energético. De acordo com Boeuf & Le Bail (1999) e Stefánsson *et al.* (2002), a luz muito intensa e prolongada pode ser irritante e prejudicial para os peixes, tornando-se um potencial estressor. Almazán-Rueda *et al.* (2005) mostraram que diferentes fotoperíodos afetam variáveis indicadoras de estresse. No entanto, estudos relacionando a intensidade luminosa e o estresse ainda não foram realizados.

Diversos parâmetros podem ser utilizados como indicadores indiretos de estresse em peixes, como taxa de O₂ consumida, frequência ventilatória, concentração plasmática de cortisol, depleção de glicogênio e níveis de glicemia (Wedemeyer & Mcleay, 1981; Neat *et al.*, 1998). Além desses, diferentes tipos de estressores aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), também denominadas radicais livres (Yu, 1994; Solé *et al.*, 1995; Storey, 1996). Essas EROs são continuamente produzidas pelo organismo em condições fisiológicas normais, sendo a respiração aeróbia a principal fonte endógena desses radicais (Shigenaga *et al.*, 1994; Han *et al.*, 2001). Paralelamente, existe um sistema de defesa antioxidante constituído por mecanismos não enzimáticos (ex: ácido ascórbico, cobre, zinco, selênio e tocoferol) e enzimáticos (ex: superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase) que diminui a ação tóxica das EROs (Scott *et al.*, 1991; Sies, 1993; Yu, 1994). No entanto, em condição de estresse, devido a maior demanda energética e conseqüente aumento da taxa respiratória (Wendelaar-Bonga, 1997), pode-se observar elevada formação de radicais livres. Essa produção excessiva de radicais, por sua vez, pode causar danos moleculares às estruturas celulares (DNA, lipídeos e proteínas) com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais (Wiseman & Halliwell, 1996). Dessa forma, a saúde do animal está relacionada ao equilíbrio entre a produção de EROs e a ação dos agentes antioxidantes, sendo o desajuste entre esses dois componentes denominado estresse oxidativo (Burgeot *et al.*, 1996; Sies, 1993). Assim, em situação estressora, a concentração de radicais livres pode ser aumentada, levando a uma maior produção de enzimas antioxidantes, como por exemplo, a catalase.

É provável que a maior luminosidade interfira na frequência da agressividade e atue como um estressor. Assim, o objetivo deste trabalho foi testar se dois níveis diferentes de intensidade luminosa desencadeiam ajustes fisiológicos e comportamentais em peixes. Para isso, foram avaliados o efeito da intensidade luminosa sobre o comportamento agonístico e parâmetros associados ao estresse (taxa ventilatória e níveis de catalase) em fêmeas de *Tilapia rendalli*.

A *Tilapia rendalli* foi escolhida, pois é uma espécie de ciclídeo e, portanto, estabelece sua organização social por meio de interações agressivas (Baerends & Baerends-Van Roon, 1950), característica ideal para testar a hipótese proposta. A espécie estudada apresenta cuidado biparental no substrato, de forma que, macho e fêmea cuidam da prole e defendem o território reprodutivo (Turner, 1996). Poucos trabalhos sobre os fatores que afetam o comportamento agonístico e a hierarquia social são encontrados em fêmeas de ciclídeos (Weber & Weber, 1976; Gonçalves-de-Freitas & Ferreira, 2004), sendo a maioria realizada com machos (Baerends & Baerends-Van Roon, 1950; Frier & Iles, 1972; Mackaye, 1986). Dessa forma, estudos que avaliam os fatores moduladores da agressividade em fêmeas são interessantes, especialmente em espécies, como a *Tilapia rendalli*, cuja interação agressiva e hierarquia social possuem função bem definida. Além disso, sabe-se que machos e juvenis são afetados por variações na luminosidade (ex: experimento I, Sakakura & Tsukamoto, 1997; Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Almazán-Rueda *et al.*, 2004; Castro & Caballero, 2004), mas pouco se conhece sobre esses efeitos em fêmeas.

Este trabalho permite avaliar se a condição ambiental modula o comportamento agressivo e, também, se atua como um estressor em fêmeas de *Tilapia rendalli*. Os resultados poderão ser utilizados tanto em termos de conservação do ambiente aquático, como em condições de criação, onde o controle adequado da luminosidade é necessário (Baldisserotto, 2002).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas fêmeas adultas de *Tilapia rendalli*, provenientes do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura (CEPTA – IBAMA) de Pirassununga - SP, sendo criadas na Mini-Estação de Piscicultura do IBILCE, CAUNESP, São José do Rio Preto-SP. Os espécimes foram transferidos para o laboratório e aclimatados em caixa de cimento amianto de 500L (1 animal/5L) por, no mínimo, 15 dias antecedendo os experimentos. Durante esse período, a temperatura foi mantida em torno de 27 °C, a intensidade luminosa em $664 \pm 89,9$ lx e o fotoperíodo em 12 h (07:00 h às 19:00 h). Filtros biológicos garantiram a manutenção da qualidade da água e o alimento (ração para peixes tropicais com 28% de proteína) foi oferecido à vontade duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).

Delineamento Experimental

Foi avaliada a influência da luminosidade sobre a agressividade e variáveis indicadoras de estresse em fêmeas de *Tilapia rendalli*. Para isso, foram comparados o perfil agonístico e parâmetros associados ao estresse (taxa ventilatória e atividade da catalase) em duplas (Condição Social) submetidas a dois diferentes níveis de intensidade luminosa. Além disso, foi testado se a intensidade luminosa atua como um estressor em animais isolados (Condição de Isolamento).

Condição Social

Foram comparadas a interação agonística, a taxa ventilatória e a atividade da catalase em duplas de fêmeas adultas de *Tilapia rendalli*. Foram testados dois tratamentos, sendo que no primeiro os animais foram submetidos à intensidade luminosa de $253,56 \pm 62,25$ lx (n=9) e, no segundo, à intensidade de $1.435,92 \pm 481,40$ lx (n=10).

A média da intensidade luminosa em cada condição experimental foi obtida a partir de 4 alturas com 9 pontos cada, totalizando 36 pontos amostrados no aquário, por meio de luxímetro digital portátil (modelo LD 240). A maior intensidade de luz foi emitida por duas lâmpadas fluorescentes de 9 W fixadas a 5,5 cm da superfície da água do aquário. A menor intensidade foi obtida a partir da iluminação convencional do laboratório. A intensidade luminosa foi periodicamente mensurada para averiguação da constância de luz emitida pelas lâmpadas.

Os peixes foram medidos, pesados, isolados por 96 h e, em seguida, pareados por 1 h, sendo esse período suficiente para o estabelecimento da hierarquia de dominância (Garcia, 2003). Durante todo o período de isolamento e pareamento os animais estavam sob

luminosidade de acordo com o tratamento experimental. Foi utilizado o paradigma residente-intruso (Figler & Einhorn, 1983) e a identificação dos animais foi feita por pequenos cortes na nadadeira caudal.

Como o tamanho é um fator que interfere no perfil agonístico (Beeching, 1992), as duplas foram formadas por indivíduos de comprimento padrão semelhantes (menor intensidade: $9,329 \pm 28,491$ cm; maior intensidade: $9,386 \pm 0,606$ cm; teste t independente, $t = -0,302$, $p = 0,764$). A sexagem foi feita por inspeção da papila genital corada com azul de metileno que possibilita a visualização da abertura do oviduto, como descrito por Afonso & Lebouté (1993) para a tilápia-do-Nilo.

Interação Agonística

A interação agonística foi registrada em filmagens de 1 hora e iniciada imediatamente após inclusão do peixe intruso no aquário do residente. A quantificação das interações foi feita através da frequência das unidades comportamentais do etograma descrito abaixo, baseado em Garcia (2003).

Etograma da interação agonística em *Tilapia rendalli*

AMEAÇA: o peixe se aproxima lateralmente de outro e abre a boca sem encosta-la no corpo do oponente.

AMEAÇA LATERAL SIMULTÂNEA: caracteriza-se pelo nado em trajetória circular dos 2 animais em perseguição simultânea, geralmente com as nadadeiras eriçadas.

FRONTAL: dois peixes se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo, ou um morde a mandíbula do outro sem ondulação caudal.

LATERAL: um animal se aproxima do outro, geralmente com a nadadeira dorsal eriçada, e emite golpes com a boca aberta ou mordidas na região lateral do oponente, podendo ocorrer nas nadadeiras caudal, anal e dorsal, no ventre e no dorso.

PARALELO: dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam o corpo simultaneamente, geralmente sem ocorrência de contato físico direto entre eles.

FUGA: o peixe perseguido ou atacado se afasta rapidamente do local de confronto.

ONDULAÇÃO: um animal ondula vigorosamente o corpo no sentido antero-posterior.

PERSEGUIÇÃO: um animal nada em direção ao outro, acompanhando a sua trajetória.

Foi avaliada a latência para os confrontos em cada tratamento experimental. As frequências emitidas dos itens agonísticos foram quantificadas para o dominante, o submisso e a dupla. O tempo para a definição da hierarquia social foi determinado, de acordo com Falter (1983), a partir do momento em que um dos animais (submisso) deixa de atacar e começa a fugir do outro indivíduo (dominante).

Taxa Ventilatória

A taxa ventilatória tem sido utilizada como indicador de estresse em outras espécies de peixes (Brown *et al.*, 2005; Barreto & Volpato, 2006). Esse parâmetro foi avaliado para o dominante (menor intensidade: n=8; maior intensidade: n=10) e para o submisso (n=7 / cada intensidade luminosa) nos 5 minutos finais do período de pareamento, sendo estimado por meio do tempo necessário para 10 movimentos operculares ou bucais sucessivos (Alvarenga & Volpato, 1995).

Catalase

A técnica utilizada para medir a atividade da catalase é descrita por Beutler (1975) que quantifica a velocidade de decomposição da H₂O₂ pela enzima, através do decréscimo de absorvância à 240nm ($\epsilon = 0,071 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) à 30 °C. O meio de reação contém H₂O₂ 10mM, Tris 1M e EDTA 5mM em pH 8,0. Os valores de atividade da catalase são expressos em U por mg de proteína. Uma unidade de catalase corresponde a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de H₂O₂ por minuto à 30 °C em pH 8,0.

Aquários

Os animais foram mantidos em aquários de 30 x 30 x 40 cm revestidos por plástico azul opaco nas paredes laterais e posterior para evitar contato visual com peixes de aquários vizinhos no laboratório. A cor azul foi utilizada porque reduz o estresse na tilápia-do-Nilo (Volpato & Barreto, 2001). A qualidade da água dos aquários foi mantida por meio de filtro biológico e aeração constante. A temperatura da água foi controlada em $27,04 \pm 0,84^\circ \text{C}$ e o fotoperíodo em 12 h (7:00h - 19:00h). Os animais receberam ração comercial na proporção de 2% da biomassa oferecida duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).

Manipulação dos animais

A manipulação dos peixes para a biometria, a identificação do sexo e o isolamento foi precedida por anestesia (solução de benzocaína: 12,8 mg/L). A transferência do animal intruso para o aquário do residente foi realizada sem anestesia, mas a manipulação foi feita cuidadosamente, de modo a evitar estresse adicional. Ao final do experimento, os animais

foram mortos por dose letal de anestésico (25,6 mg/L) e, em seguida, dissecados para a confirmação do sexo por meio da visualização das gônadas (Weyl & Hecht, 1998). Além disso, as brânquias foram retiradas e congeladas a -86 °C para a medida da concentração de catalase (ver abaixo).

Condição de Isolamento

Para verificar se a luminosidade atua como um estressor na *Tilapia rendalli*, foram analisadas a frequência ventilatória e a atividade da catalase. Animais isolados foram submetidos aos dois níveis de intensidade luminosa (n=8): menor (253,56 ± 62,25 lx) e maior (1.435,92 ± 481,40 lx). As características de iluminação foram as mesmas descritas anteriormente para a condição social.

As fêmeas foram medidas (menor: 9,725 ± 0,859 cm; maior: 9,692 ± 0,640 cm), pesadas (menor: 32,045 ± 7,773 g maior: 31,102 ± 6,390 g) e isoladas por 97 h sob luminosidade de acordo com o tratamento experimental. Foi feita uma filmagem de 5 min no final do isolamento para a quantificação da frequência ventilatória e, ao final, as brânquias foram retiradas para a medida da concentração de catalase. Os procedimentos para análises desses parâmetros, bem como os de manutenção, aquários, sexagem, manipulação e morte dos animais foram idênticos aos descritos para a condição Social.

Análise dos Dados

Os valores discrepantes (*outliers*) foram retirados dos dados brutos e substituídos pelas medianas. Em seguida, os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variância pelo teste F max (Zar, 1999). De acordo com a curva de distribuição dos dados, foi utilizado teste paramétrico ou não paramétrico.

A latência para os confrontos, o tempo para o estabelecimento da hierarquia de dominância e a frequência ventilatória foram comparados entre os tratamentos e em cada condição por teste t independente. Já a frequência de itens agonísticos e a concentração de catalase foram comparadas por Mann-Whitney. Foi avaliada também a associação entre o comportamento agonístico e a taxa ventilatória na condição social por meio do teste de correlação de Spearman. Foi considerado $\alpha \leq 0,05$ para significância estatística e todas as análises utilizadas foram baseadas em Zar (1999) e Siegel & Castellan (2006).

Nota Ética

Este estudo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

RESULTADOS

Interação Agonística

A latência para os confrontos (teste t independente, $t = -0,04$; $p = 0,97$) e para a definição da hierarquia social (teste t independente, $t = 0,55$; $p = 0,59$) foram semelhantes nas duas condições de luminosidade (Figura 1). A maior intensidade luminosa diminuiu a frequência de confronto lateral nas duplas de *Tilapia rendalli* (Mann-Whitney, $U = 9$; $p = 0,00$). O dominante exibiu maior frequência de confrontos frontais, lateral e total de ataques na menor intensidade luminosa (Mann-Whitney, $U < 20$; $p < 0,04$). Por outro lado, não houve diferença entre a frequência de interações agonísticas exibida pelo submisso nos dois tratamentos (Mann-Whitney, $U > 22$; $p > 0,06$; Figura 2).

Taxa Ventilatória

O dominante não exibiu diferença na frequência ventilatória (batimento opercular $\cdot \text{min}^{-1}$) entre os tratamentos (teste t independente, $t = -0,40$; $p = 0,69$). Entretanto, a taxa ventilatória do submisso aumentou na maior intensidade luminosa (teste t independente, $t = -2,44$; $p = 0,03$). Considerando o isolamento, observou-se uma menor taxa ventilatória na maior intensidade luminosa (teste t independente, $t = -2,59$; $p = 0,02$; Figura 3). Além disso, não foi observada correlação entre o total de ataques e a taxa ventilatória para o dominante (Spearman, $R > 0,39$; $p > 0,26$) e o submisso (Spearman, $R > -0,53$; $p > 0,21$) na menor e na maior intensidade luminosa.

Catalase

A concentração da enzima catalase foi semelhante para o dominante (Mann-Whitney, $U = 24$; $p = 0,25$), o submisso (Mann-Whitney, $U = 36$; $p = 1$) e o isolado (Mann-Whitney, $U = 20$; $p = 0,89$) nas duas intensidades luminosas.

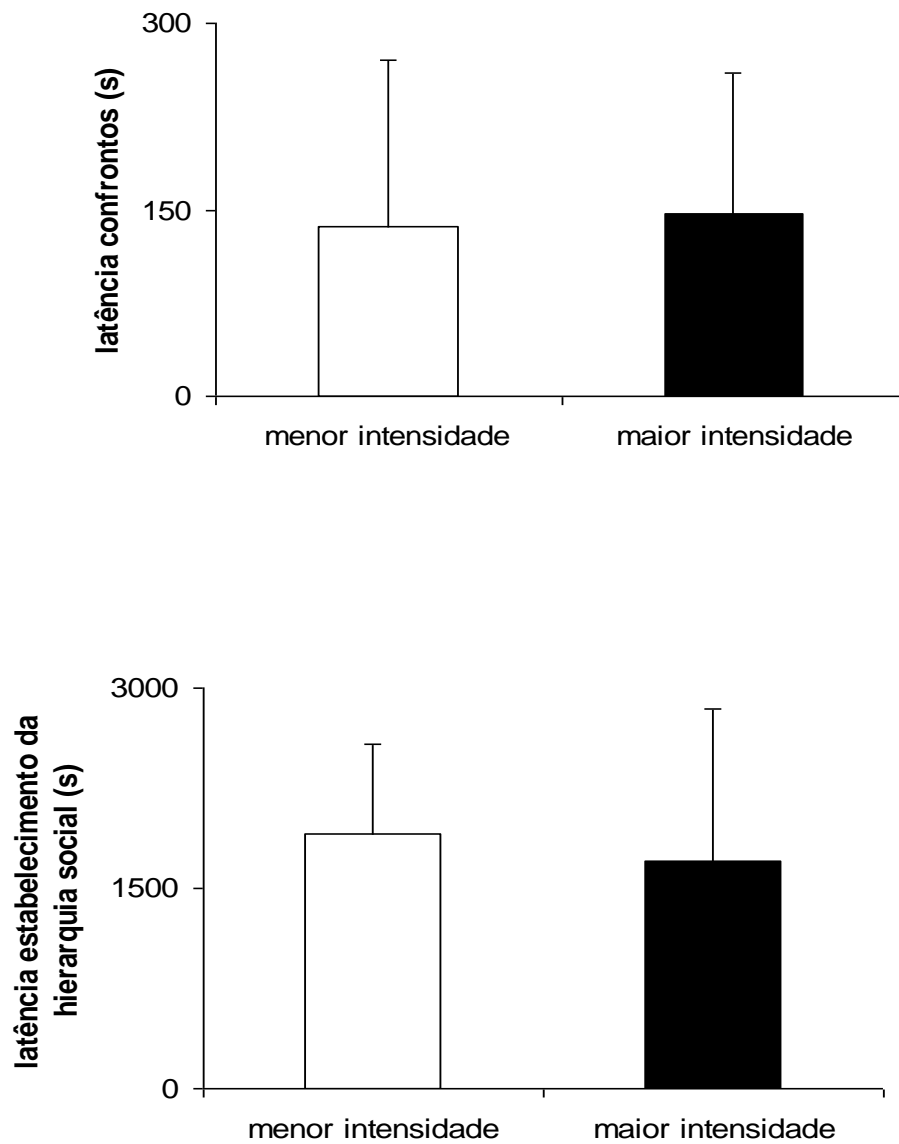


Figura 1. Latência (média \pm desvio padrão) para os confrontos (teste t independente, $t = 0,04$; $p = 0,97$) e para o estabelecimento da hierarquia social (teste t independente, $t = 0,55$; $p = 0,59$) na menor e na maior intensidade luminosa.

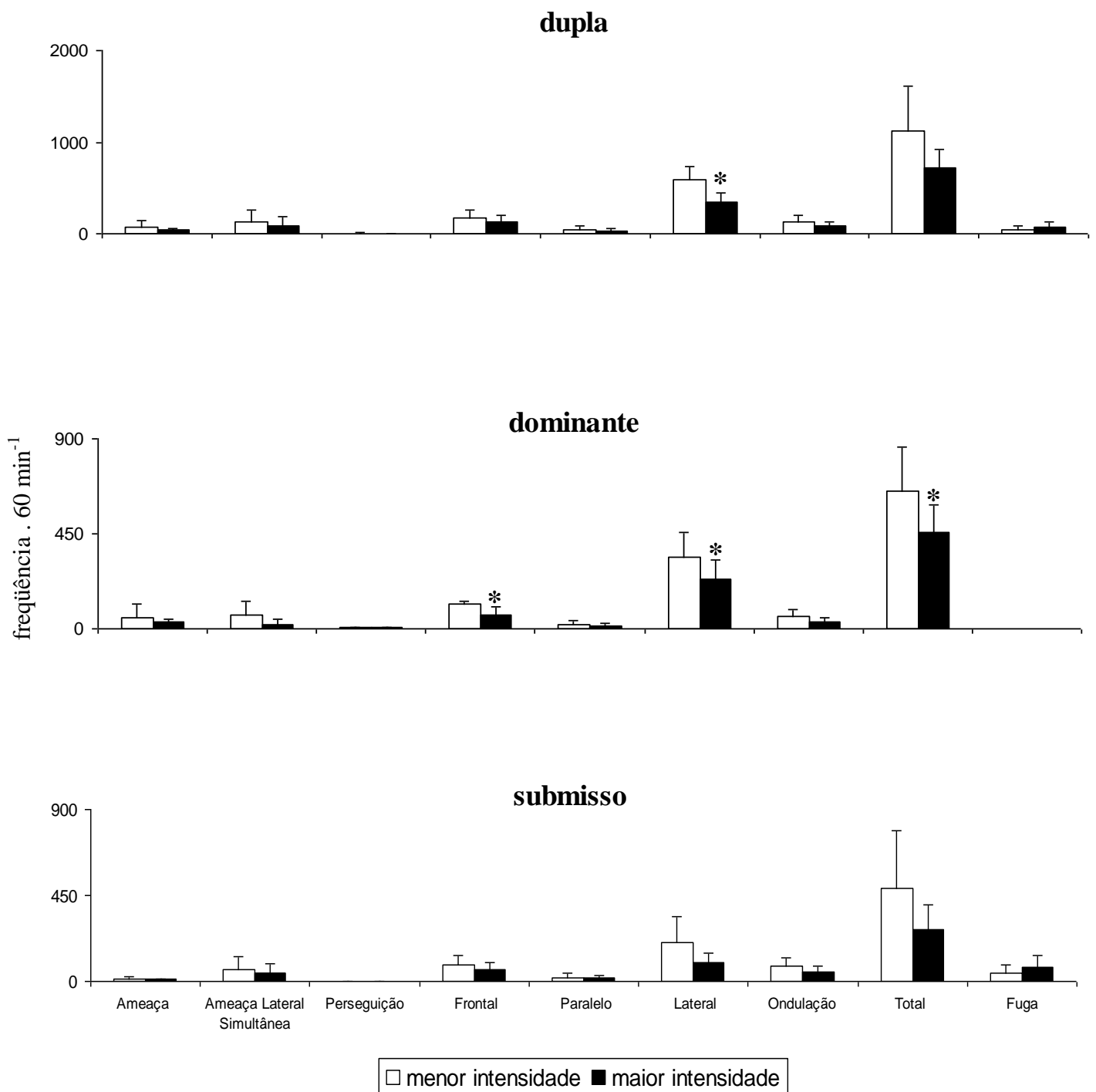


Figura 2. Frequência da interação agonística (média \pm desvio padrão) para a dupla, o dominante e o submisso na menor e na maior intensidade luminosa. Asterisco indica diferença estatística significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

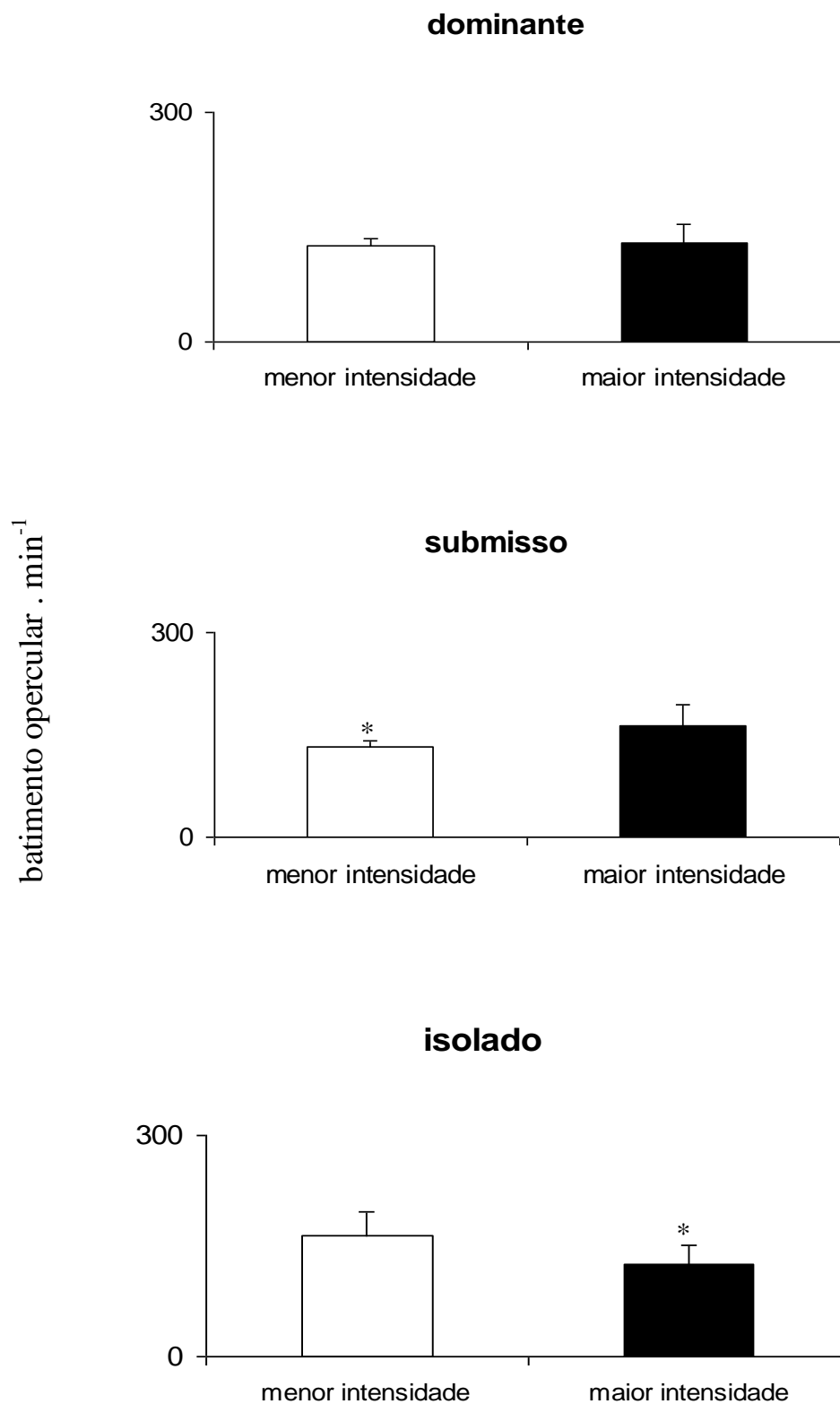


Figura 3. Taxa ventilatória (média \pm desvio padrão) do dominante, submisso e isolado na menor e na maior intensidade luminosa. Asterisco indica diferença estatística significativa (teste t independente, $p < 0,03$).

DISCUSSÃO

A menor intensidade luminosa aumenta a agressividade e atua como um estressor em fêmeas de *Tilapia rendalli*. No entanto, essa resposta estressora não funciona como o mecanismo causador do efeito da luminosidade sobre a interação agonística.

A latência para os confrontos foi semelhante entre os grupos submetidos a menor e a maior intensidade luminosa, indicando que a luminosidade não afeta a motivação agressiva para o início da interação na *Tilapia rendalli*. O nível de intensidade luminosa também não influenciou a latência para o estabelecimento da hierarquia social. Isso sugere que a duração da interação, considerando o período entre o início dos confrontos até a definição da posição social, não sofre efeito da luminosidade.

Embora a intensidade luminosa não interfira na motivação agressiva para o início dos confrontos e na duração da interação, observa-se efeito dessa condição ambiental sobre o comportamento agonístico. Isso pode ser sugerido, pois a maior intensidade luminosa diminuiu a frequência de confronto lateral nas duplas. De fato, a luminosidade influencia a interação agressiva em peixes, no entanto, os resultados são contraditórios (Sakakura & Tsukamoto, 1997; Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Castro & Caballero, 2004; Almazán-Rueda *et al.*, 2004).

Como encontrado no experimento I, a maior intensidade luminosa reduziu a agressividade em duplas de *Oreochromis niloticus*, aumentou em *Pterophyllum scalare* e não afetou a de *Geophagus proximus*. Assim, a *Tilapia rendalli* apresentou resposta semelhante à observada para *Oreochromis niloticus*.

Considerando a posição social, observou-se no dominante maior frequência de confrontos na menor intensidade luminosa. Por outro lado, não houve diferença na frequência dos itens agonísticos do submisso entre os dois tratamentos experimentais. Isso evidencia que o efeito da luminosidade sobre o comportamento agressivo é dependente da posição social, sendo, portanto, o peixe dominante o principal afetado pelo efeito encontrado na dupla.

De modo geral, a maior intensidade luminosa reduz a agressividade na *Tilapia rendalli* e essa resposta pode ser decorrente de diferentes mecanismos (ex. Olla *et al.*, 1978; Castro & Caballero, 2004). A alta luminosidade, por exemplo, pode atuar como uma situação potencialmente estressora, sendo a redução da agressividade nessa condição uma resposta adaptativa, pois minimizaria o gasto energético com as interações e, conseqüentemente, deslocaria energia para ajustes fisiológicos decorrentes do estresse. De fato, longos períodos de luz afetam variáveis indicadoras de estresse em *Clarias gariepinus* (Almazán-Rueda *et al.*,

2005). No entanto, estudos relacionando a intensidade luminosa e o estresse ainda não tinham sido realizados. Assim, foi testado se a maior intensidade atua como um estressor na *Tilapia rendalli*.

A taxa ventilatória e a atividade da catalase foram utilizadas como parâmetros indicadores de estresse. Segundo Barreto & Volpato (2004), ao uso da frequência ventilatória deve ser limitado, pois não reflete a intensidade do estressor. No entanto, considera-se que a taxa ventilatória foi adequadamente utilizada, pois é uma resposta indicadora de gasto energético (Wedemeyer & Mcleay, 1981), sendo usada como parâmetro de estresse em outro ciclídeo, a tilápia-do-Nilo (Barreto & Volpato, 2006). Já a catalase é uma enzima antioxidante que pode ser produzida em maior quantidade em uma situação estressora, devido a uma elevada formação de radicais livres nessa condição (Sies *et al.*, 1993; Yu, 1994).

De acordo com Boeuf & Le Bail (1999) e Stefánsson *et al.* (2002), a luz muito intensa e prolongada pode ser irritante e prejudicial para os peixes, tornando-se um potencial estressor. No entanto, os resultados contrariam os estudos anteriores, pois indicam que a menor luminosidade atua como estressor em fêmeas de *Tilapia rendalli*. Isso pode ser sugerido, pois a menor intensidade luminosa aumentou a taxa ventilatória dos animais isolados. Uma possível explicação, é que a menor intensidade ($253,56 \pm 62,25$ lx) pode estar fora da faixa de luminosidade ótima para essa espécie. Assim como um nível de luminosidade extremamente alto pode gerar uma situação estressora, sugere-se que um nível inferior ao intervalo ótimo tenha o mesmo efeito. Da mesma maneira, o menor estresse observado na maior luminosidade ($1.435,92 \pm 481,40$ lx), evidencia que o nível mais alto utilizado deve estar dentro da faixa ótima de luz para a *Tilapia rendalli*. Isso mostra a necessidade de trabalhos que avaliem o efeito de diferentes níveis de luminosidade em variáveis de estresse, utilizando-se também de outros parâmetros como taxa de O₂ consumida, concentração plasmática de cortisol, depleção de glicogênio e níveis de glicemia (Wedemeyer & Mcleay, 1981; Neat *et al.*, 1998).

Na interação social, verifica-se que o estresse decorrente da intensidade luminosa pode ser mascarado pelo gerado durante a situação de competição. Isso é evidenciado, pois dominante e submisso apresentaram respostas diferentes das observadas pelo isolado, sendo que a menor intensidade luminosa, respectivamente, não afetou e diminuiu a taxa ventilatória.

Embora a intensidade luminosa possa ser considerada um estressor para *Tilapia rendalli*, essa resposta não foi observada com a análise da atividade da catalase. Isso pode ter sido decorrente do não aumento na produção de radicais livres na situação estressora e, conseqüente, não ativação do sistema de defesa antioxidante. Por outro lado, a catalase pode

ser ativada a mais longo prazo, não sendo possível detectar sua maior liberação durante o experimento realizado.

Dentre as hipóteses propostas para explicar o comportamento agressivo frente à variação de luminosidade, conclui-se que a associada ao gasto energético não pode ser aplicada, pois embora a menor intensidade luminosa atue como um estressor, é observada maior agressividade nessa condição. Além disso, não foi encontrada correlação entre a taxa ventilatória e o total de interações agressivas para o dominante e submisso, indicando que não existe associação entre o estresse e o perfil agonístico. No entanto, outras hipóteses podem explicar a diminuição da interação na maior luminosidade. Por exemplo, fêmeas dominantes de ciclídeos são geralmente aquelas que reproduzem e mantêm o cuidado da prole (Weber & Weber, 1976; Brandtmann *et al.*, 1999). Assim, a maior luminosidade deixaria o animal mais conspícuo e, também, indicaria o local da sua prole a possíveis predadores. Considerando a submissa, a estratégia seria a não alteração da agressividade, uma vez que animais submissos já apresentam gasto energético maior que dominantes (Fernandes & Volpato, 1993; Volpato & Fernandes, 1994).

Conclui-se que a intensidade luminosa afeta as interações agressivas e atua como um estressor em fêmeas adultas de *Tilapia rendalli*. No entanto, essa influência depende da posição social dos animais e não está associada com a resposta estressora decorrente da luminosidade.

REFERÊNCIAS

- Afonso, L.O.B. & Lebouté, E.M. (1993). Métodos para sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Anais do IV Encontro Rio-Grandense de Técnicos em Aquicultura*, 100-103.
- Almazán-Rueda, P.; Schrama, J.W. & Verreth, J.A.J. (2004). Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 347-359.
- Almazán-Rueda, P.; Van-Helmond, A.T.M.; Verreth, J.A.J. & Schrama, J.W. (2005). Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039.
- Alvarenga, C.M.D. & Volpato, G.L. (1995). Agonistic profile and metabolism in alevines of Nile tilapia. *Physiology and Behavior*, 57: 75-80.
- Baerends, G.P. & Baerends-Van Roon, J. (1950). An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behaviour Supplement*, 1: 1-242.
- Baldisserotto, B. (2002). Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura. Editora UFSM, Santa Maria, 211p.
- Barrella, W.; Petrere, M. Jr.; Smith, W.S. & Montag, L.F.A. (2000). As relações entre as matas ciliares, os rios e os peixes. In: Ed. Rodrigues, R.R. & Filho, H. de F.L.; Matas Ciliares: conservação e recuperação, EDUSP e FAPESP, São Paulo, 320p.
- Barreto, R.E.; Volpato, G.L. (2004). Caution for using ventilatory frequency as an indicator of stress in fish. *Behavioural Processes*, 66: 43-51.
- Barreto, R.E.; Volpato, G.L. (2006). Ventilatory frequency of Nile tilapia subjected to different stressors. *Journal of Experimental Animal Science*, 43: 189-196.
- Bayarri, M.J.; Madrid, J.A. & Sánchez-Vázquez, F.J. (2002). Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32: 34-40.
- Beeching, S.C. (1992). Visual assessment of relative body size in a cichlid fish, the oscar, *Astronotus ocellatus*. *Ethology*, 90: 177-186.
- Beutler, E. (1975). Red Cell Metabolism: A manual of biochemical methods. Grune & Stratton, New York, 342p.
- Boeuf, G. & Le Bail, P.Y. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129-152.

- Brandtmann, G.; Scandura, M. & Trillmich, F. (1999). Female-female conflict in the harem of a snail cichlid (*Lamprologus ocellatus*): behavioural interactions and fitness consequences. *Behaviour*, 136: 1123-1144.
- Brown, C., Gardner, C. & Braithwaite, V. (2005). Differential stress responses in fish from areas of high and low-predation pressure. *Journal of Comparative Physiology B*, 175: 305-312.
- Burgeot, T.; Bocquene, G.; Poorte, C.; Dimeet, J.; Santella, R.M.; Garcia de la Parra, L.M.; Pfohl-Leszkowicz, A.; Raoux, C. & Galgani, F. (1996). Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology-Progress Series*, 131: 125-141.
- Castro, J.J. & Caballero, C. (2004). Effect of the light intensity upon the agonistic behaviour of juvenile of white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behavior*, 30: 313-318.
- Ebadi, M.; Samejima, M. & Pfeiffer, R.F. (1993). Pineal gland in synchronizing and refining physiological events. *NIPS*, 8: 30-33.
- Ekström, P. & Meissl, H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 199-284.
- Falter, U. (1983). Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l'incubation buccale. *Bulletin de La Classe des Sciences*, 69: 566-593.
- Fernandes, M.O. & Volpato, G.L. (1993). Heterogeneous growth in the Nile tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. *Physiology and Behavior*, 54: 319-323.
- Figler, M.H. & Einhorn, D.M. (1983). The territorial prior residence effect in convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum* Günther): temporal aspects of establishment and retention, and proximate mechanisms. *Behaviour*, 85: 157-183.
- Frier, G. & Iles, T.D. (1972). *The Cichlid Fishes of the Great Lakes of Africa*. T.F.H. publications, Neptune City.
- Garcia, M.R. (2003). Interação agonística e estresse social em *Astronotus ocellatus* e *Tilapia rendalli* (Teleostei, Cichlidae). Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, SP. 36p.
- Gonçalves-de-Freitas, E. & Ferreira, A.C. (2004). Female social dominance does not establish mating priority in Nile tilapia. *Revista de Etologia*, 6: 33-37.

- Han, D.; Williams, E. & Cadenas, E. (2001). Mitochondrial respiratory chain-dependent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space. *Biochemical Journal*, 353: 411-416.
- Helfman, G.S. (1993). Fish Behaviour by Day, Night and Twilight. *In*: Pitcher, T.J. Behaviour of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London, 715p.
- Mackaye, K.R. (1986). Mate choice and size assortative pairing by the cichlid fishes of Lake Jiloa, Nicaragua. *Journal of Fish Biology*, 29 (Supp. A), 135-150.
- Munro, A.D. (1986). Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *Journal of Pineal Research*, 3: 257-262.
- Neat, F.C., Taylor, A.C. & Huntingford, F.A. (1998). Proximate costs of fighting in male cichlid fish: the role of injuries and energy metabolism. *Animal Behaviour*, 55: 875-882.
- Nicieza, A.G. & Metcalfe, N.B. (1999). Costs of rapid growth: the risk of aggression is higher for fast-growing salmon. *Functional Ecology*, 13: 793-800.
- Olla, B.L.; Studholme, A.L.; Bejda, A.J.; Samet, C., Martin, A.D. (1978). Effect of temperature on activity and social behavior of the adult Tautog *Tautoga onitis* under laboratory conditions. *Marine Biology*, 45: 369-378.
- Pitcher T.J. (1993). Behaviour of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London, 715p.
- Sakakura, Y. & Tsukamoto, K. (1997). Effects of water temperature and light intensity on aggressive behavior in the juvenile yellowtails. *Fisheries Science*, 63: 42-45.
- Scott, M.D.; Lubin, B.H.; Zuo, L. & Kuypers, F.A. (1991). Erythrocyte defense against hydrogen peroxide: preeminent importance of catalase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 118: 7-16.
- Shigenaga, M.K.; Hagen, T.M. & Ames, B.N. (1994). Oxidative damage and mitochondrial decay in ageing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 10771-10778.
- Siegel, S. & Castellan Jr. N. (2006). Estatística Não-Paramétrica para Ciências do Comportamento. Artmed, Porto Alegre, 448p.
- Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, 215: 213-219.
- Sloman, K.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2001). Effects of an environmental perturbation on the social behaviour and physiological function of brown trout. *Animal Behaviour*, 61: 325-333.

- Sloman, K.A.; Wilson, L.; Freel, J.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2002). The effects of increased flow rates on linear dominance hierarchies and physiological function in brown trout, *Salmo trutta*. *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1221-1227.
- Sneddon, L.U. & Yerbury, J. (2004). Differences in response to hypoxia in the three-spined stickleback from lotic and lentic localities: dominance and an anaerobic metabolite. *Journal of Fish Biology*, 64: 799-804.
- Sneddon, L.U.; Hawkesworth, S.; Braithwaite, V.A. & Yerbury, J. (2006). Impact of environmental disturbance on the stability and benefits of individual status within dominance hierarchies. *Ethology*, 112: 437-447.
- Solé, M.; Porte, C. & Albaigés, J. (1995). Seasonal variation in mixed function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14: 157-164.
- Stefánsson, M.O.; Fitzgerald, R.D. & Cross, T.F. (2002). Growth, feed utilization and growth heterogeneity in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Rafinesque) under different photoperiod regimes. *Aquaculture Research*, 33: 177-187.
- Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29: 1715-1733.
- Turner, G. (1996). Offshore cichlids of Lake Malawi. Cichlids Press, Lavenau, Germany, 240p.
- Valdimarsson, S.K. & Metcalfe, N.B. (2001). Is the level of aggression and dispersion in territorial fish dependent on light intensity? *Animal Behaviour*, 61: 1143-1149.
- Volpato, G.L. & Barreto, R.E. (2001). Environmental blue light prevents stress in Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.
- Volpato, G.L. & Fernandes, M.O. (1994). Social control of growth in fish. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27: 797-810.
- Weber, P.G. & Weber, S.P. (1976). The effect of female color, size, dominance and early experience upon mate selection in male convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* Guenther (Pisces, Cichlidae). *Behaviour*, 56: 116-135.
- Wedemeyer, G.A. & Mcleay, D.J. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Pickering, A.D., Stress in Fish. Academic, London, 247-275.
- Wendelaar-Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiology and Behavior*, 77: 591-625.

- Weyl, O.L.F. & Hecht, T. (1998). The biology of *Tilapia rendalli* and *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) in a subtropical lake in Mozambique. *South African Journal of Zoology*, 33: 178-195.
- Winberg, S.; Overli, O. & Lepage, O. (2001). Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. *Journal of Experimental Biology*, 204: 3867-3876.
- Wiseman, H. & Halliwell, B. (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal*, 313: 17-29.
- Yu, B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiology and Behavior*, 74: 139-162.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical Analyses*. Prentice Hall, New Jersey.

EXPERIMENTO III

Intensidade luminosa e hierarquia social na tilápia-do-

Nilo, *Oreochromis niloticus*

RESUMO

Vários fatores interferem na formação e na manutenção da hierarquia de dominância em peixes, no entanto, os efeitos das condições físicas ambientais, como a luminosidade, não são conhecidos. Assim, o objetivo deste estudo foi testar se a intensidade luminosa interfere na estabilidade social e em variáveis indicadoras de estresse (hematócrito e glicemia) na tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*. Para isso, foram comparados dois níveis de intensidade luminosa (n=12): menor ($280,75 \pm 50,60$ lx) e maior ($1.394,14 \pm 520,32$ lx). Três machos adultos foram agrupados por 10 dias, sendo a interação agressiva registrada no primeiro, terceiro, quinto, sétimo e nono dias. Antes e após o agrupamento os animais tiveram o sangue amostrado (punção na veia caudal) para mediadas do hematócrito e da glicemia. A maior intensidade luminosa aumentou a frequência de ameaça no grupo. Não foi observado efeito da luminosidade sobre a agressividade do dominante (alfa) e do submisso (gama). Já o subdominante (beta), apresentou maior frequência de ameaça, confronto lateral, fuga e total de ataques na condição de maior intensidade luminosa. A luminosidade não interferiu na estabilidade da hierarquia de dominância, pois os animais não mudaram de posição social ao longo do tempo. Além disso, o hematócrito e os níveis plasmáticos de glicose foram semelhantes entre as intensidades luminosas e as posições sociais. Em conclusão, a luminosidade interfere nas interações agressivas do grupo, sendo o beta o principal animal afetado. No entanto, a estabilidade da hierarquia social e as variáveis indicadoras de estresse não são influenciadas pela condição ambiental.

INTRODUÇÃO

Alterações ambientais de curta ou longa duração causam modificações comportamentais e fisiológicas com as quais os animais têm de conviver (Wingfield, 2003; Adamo & Parsons, 2006). Variações de luminosidade, por exemplo, podem desencadear respostas em peixes que permitam um ajuste à nova condição do ambiente (Olla *et al.*, 1978; Castro & Caballero, 2004).

De acordo com Helfman (1993), a luminosidade regula muitas atividades e padrões comportamentais em peixes, incluindo a agressividade. De fato, alguns estudos mostram diferentes efeitos dessa condição ambiental sobre o comportamento agressivo em peixes. Segundo Sakakura & Tsukamoto (1997) e Castro & Caballero (2004), altos níveis de intensidade luminosa diminuem a frequência de interação agressiva em *Diplodus sargus*. Por outro lado, a maior luminosidade pode proporcionar maior agressividade em outras espécies (Nicieza & Metcalfe, 1999; Valdimarsson & Metcalfe, 2001; Almazán-Rueda *et al.*, 2004). Além disso, estudos anteriores (experimento I) sugerem que as respostas agressivas frente a diferentes intensidades luminosas são espécie-específicas e podem ser decorrentes de diferentes estratégias associadas ao nível basal de agressividade de cada espécie dentro de uma mesma família.

Os vários efeitos da luminosidade sobre o comportamento agressivo podem interferir na hierarquia de dominância em peixes. Além disso, a baixa intensidade luminosa e a ausência de luz proporcionam maior liberação da melatonina (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002). Esse hormônio pode controlar o comportamento de submissão em truta arco-íris (Larson *et al.*, 2004), sendo que a sua menor liberação pode diminuir os sinais emitidos pelo submisso e reduzir a estabilidade da hierarquia de dominância.

A dominância é um tipo de organização social estabelecida por meio de interações agressivas e caracterizada pela definição, dentro do grupo, do dominante e submissos, sendo que o dominante possui prioridade de acesso a recursos limitados, como alimento, parceiros para acasalamento, abrigo e território (Huntingford & Turner, 1987; Ridley, 1995). A hierarquia também pode ser considerada estável ou instável, dependendo da manutenção da posição social dos animais ao longo do tempo (ex. Gómez-Laplaza & Morgan, 1993; Oliveira & Almada, 1996a). De acordo com Lehner (1996), a formação e estabilidade hierárquica são influenciadas por diversos fatores, podendo variar dependendo da espécie e das condições as quais os animais são submetidos.

Vários fatores modulam a hierarquia de dominância em peixes, particularmente aqueles que afetam diretamente a motivação agressiva. No entanto, estudos relacionando as condições ambientais (abióticas) e a hierarquia de dominância são incipientes. Apenas trabalhos considerando a disponibilidade de refúgios (Fischer & Ohl, 2005), as variações estruturais no ambiente (Hofmann *et al.*, 1999), a concentração de oxigênio (Sneddon & Yerbury, 2004), o nível e o fluxo de água (Sloman *et al.*, 2001; Sneddon *et al.*, 2006; Gonçalves-de-Freitas *et al.*, 2008) foram encontrados. O efeito da luminosidade sobre a estabilidade da hierarquia social, por exemplo, ainda não foi estudado.

Independente do tipo de efeito da luminosidade sobre o comportamento agressivo, é possível que esse fator interfira na dominância, podendo levar a instabilidade social. Assim, o objetivo desse estudo foi testar se a intensidade luminosa aumenta a agressividade na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e, em consequência, causa instabilidade social. A instabilidade hierárquica, por sua vez, pode aumentar o estresse social em peixes (Zayan, 1991; Wendelaar-Bonga, 1997). Além do efeito indireto da luminosidade sobre o estresse, a luz intensa e prolongada pode ser irritante e prejudicial para os peixes, tornando-se um potencial estressor (Boeuf & Le Bail, 1999; Stefánsson *et al.*, 2002). Por isso, também foi testado o efeito de indicadores de estresse (hematócrito e glicemia) em diferentes condições de luminosidade.

A tilápia-do-Nilo foi escolhida, pois, como os demais ciclídeos, possui organização social baseada na hierarquia de dominância e defesa territorial (Baerends & Baerends-Van Roon, 1950). Além disso, essa espécie é amplamente criada em piscicultura, onde o controle das condições de luminosidade pode ser importante (Baldisserotto, 2002).

MATERIAL E MÉTODOS

Foi testado o efeito da luminosidade sobre a hierarquia de dominância e variáveis indicadoras de estresse na tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*. Para isso, foram comparados o perfil agonístico, a estabilidade social, o hematócrito e o nível de glicose plasmática em grupos submetidos a diferentes níveis de intensidade luminosa.

Aclimação

As tilápias-do-Nilo foram provenientes da Fazenda Santa Maria, União Paulista- SP, sendo criadas na Mini-Estação de Piscicultura do CAUNESP / UNESP, São José do Rio Preto, SP. Os animais foram aclimatados no laboratório em caixa de cimento amianto de 500L (1 animal/5L) por, no mínimo, 15 dias antecedendo os experimentos. Durante esse período, a temperatura foi mantida em torno de 27 °C, a intensidade luminosa em $749,8 \pm 89,7$ lx e o fotoperíodo em 12 h (07:00 h às 19:00 h). Filtros biológicos garantiram a manutenção da qualidade da água e o alimento (ração com 32% de proteína; Guabi / Pirá- Campinas, Brasil) foi oferecido à vontade duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).

Delineamento Experimental

Foram comparados grupos de 3 machos adultos submetidos a dois níveis de intensidade luminosa (n=12): menor ($280,75 \pm 50,60$ lx) e maior ($1.394,14 \pm 520,32$ lx). A média da luminosidade em cada condição experimental foi obtida a partir de 36 pontos amostrados no aquário, por meio de luxímetro digital portátil (modelo LD 240). A maior intensidade de luz foi emitida por quatro lâmpadas fluorescentes de 9 W fixadas a 5,5 cm da superfície da água do aquário. A menor intensidade foi obtida a partir da iluminação convencional do laboratório.

Antes do agrupamento, os animais foram isolados por 96 h para evitar efeito da experiência prévia (obtida durante o período de aclimação) no comportamento e nas variáveis fisiológicas. Após esse período, foi feita uma coleta de sangue (ver procedimento abaixo) e, em seguida, os peixes foram novamente colocados em isolamento por 24 h. Posteriormente, 3 indivíduos de comprimento padrão e peso semelhantes (ANOVA de uma via, menor: $F < 0,03$; $p > 0,97$; maior: $F < 0,39$; $p > 0,68$) foram agrupados por 10 dias, sob luminosidade de acordo com a condição experimental. Os animais foram identificados por diferentes cortes na nadadeira caudal e a sexagem foi feita por inspeção da papila genital corada com azul de metileno (Afonso & Lebouté, 1993). No final do período de agrupamento, foi realizada uma outra coleta de sangue.

Aquários e manutenção dos animais

Foram utilizados aquários de 40 x 30 x 40 cm (isolamento) e de 60 X 60 X 40 cm (agrupamento) revestidos externamente por plástico azul opaco em 3 laterais para evitar contato visual com animais de aquários vizinhos no laboratório, ficando apenas a porção frontal livre para as filmagens. A cor azul foi utilizada porque reduz o estresse na tilápia-do-Nilo (Volpato & Barreto, 2001).

A qualidade da água foi mantida por meio de filtro biológico, aeração constante, pH = 7,2 e amônia = 0,25 ppm. A temperatura da água foi controlada em $26,38 \pm 0,67$ °C e a alimentação dos animais consistiu de ração para peixes tropicais na proporção de 2% da biomassa oferecida no início da manhã e final da tarde.

Interação Agonística

O comportamento agonístico foi registrado no primeiro, terceiro, quinto, sétimo e nono dias de agrupamento (10 min/cada), sempre entre 14:00 e 18:00 h. A primeira filmagem foi iniciada logo após a formação dos grupos.

As interações agressivas foram quantificadas pela frequência das unidades comportamentais do etograma descrito abaixo, baseado em Falter (1983) e Alvarenga & Volpato (1995). Os ataques emitidos e recebidos foram analisados para todos os animais do grupo em todas as filmagens.

Etograma da interação agonística

AMEAÇA: animal se aproxima do oponente com a boca aberta, preparando-se para uma mordida lateral, mas seu oponente foge antes de ser atacado.

FRONTAL: dois animais se aproximam frontalmente, justapõem as mandíbulas com a boca aberta e se “empurram”, ondulado vigorosamente a região caudal do corpo.

FUGA: caracteriza-se por natação rápida do animal perseguido ou atacado, distanciando-se do oponente.

LATERAL: um animal se aproxima de outro e ataca a região lateral do oponente com mordidas ou golpes com a boca aberta.

ONDULAÇÃO: animal ondula vigorosamente o corpo no sentido ântero-posterior.

PARALELO: dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam simultaneamente o corpo, sem que ocorra contato físico.

PERSEGUIÇÃO: um animal nada em direção ao outro, acompanhando sua trajetória.

Hierarquia social

A relação hierárquica entre os animais de cada grupo foi avaliada por um índice de dominância (ID) que corresponde à proporção do número de ataques emitidos em relação à somatória de ataques emitidos e recebidos por cada animal (Gómez-Laplaza & Morgan, 1993; Oliveira & Almada, 1996b; Bailey *et al.*, 2000). A estabilidade hierárquica em cada grupo foi avaliada pelo coeficiente de concordância de Kendall, como realizado por Gómez-Laplaza & Morgan (1993).

Manipulação e coleta de sangue

A manipulação dos animais (biometria, sexagem e isolamento) foi precedida por anestesia com benzocaína (3 mg/L). Após as 96 h de isolamento e no final do período de agrupamento os animais foram anestesiados por imersão em benzocaína (9 mg/L) para a realização das coletas de sangue. Cada coleta de sangue foi precedida por 24 horas de jejum, de acordo com Barreto (2002). O peixe foi considerado anestesiado quando ocorria perda postural, falta de reação motora a estímulo e manutenção da ventilação, critérios compatíveis com o estágio II de anestesia, como descrito por Iwama *et al.* (1989) para a truta arco-íris. O sangue foi coletado por punção caudal (0,6 ml por coleta), utilizando-se seringa de 1 ml com anticoagulante (Glistab / Labtest Cat. 29). Em seguida, parte do material (exceto o destinado ao hematócrito) foi centrifugada para coleta do plasma (3000 rpm / 10 min) que foi utilizado na determinação dos níveis plasmáticos de glicose (ver abaixo). Após a coleta de sangue, os animais foram mortos por dose letal de anestésico (27 mg/L) e, em seguida, dissecados para confirmação do sexo e do estágio de maturação gonadal, por meio da análise macroscópica das gônadas, como descrito por Paiva *et al.* (1988).

Hematócrito

O hematócrito foi determinado imediatamente após a coleta de sangue através do uso de centrífuga para micro-hematócrito, onde os tubos capilares foram centrifugados a 13000 rpm por 6 min. Foi comparada a altura da coluna de células vermelhas em relação à coluna da amostra total (Sloman *et al.*, 2000).

Glicose

A concentração de glicose plasmática foi determinada com o uso de Kit comercial (Glicose PAP Liquiform, Labtest).

Análise dos Dados

Os valores discrepantes foram retirados dos dados brutos e substituídos pela mediana. Em seguida, os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variância pelo teste F max (Zar, 1999).

Foi feita a comparação do perfil agonístico entre as condições experimentais, por meio de teste t independente, considerando a soma da frequência das interações observadas em todas as filmagens. A comparação da interação agressiva entre os períodos de observação para cada condição e entre as condições submetidas a menor e a maior intensidade luminosa foi feita por Análise de Variância de duas vias para amostras repetidas, completada pelo teste de Tukey para comparações múltiplas. Os parâmetros fisiológicos analisados (hematócrito e glicemia) foram comparados entre os indivíduos e as condições por Análise de Variância de duas vias. Foi considerado $p \leq 0,05$ para significância estatística, sendo todas as análises baseadas em Zar (1999) e Siegel & Castellan (2006).

Conduta Ética

Este estudo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da UNESP, Botucatu, SP (protocolo n^o 52/06).

RESULTADOS

Interação Agonística

A maior intensidade luminosa aumentou a frequência de ameaça emitida pelos 3 animais (teste t independente, $t = -2,40$; $p = 0,02$). Considerando a posição social, não foi observada diferença, entre as condições experimentais, dos itens agonísticos emitidos pelo dominante (alfa) aos outros dois membros do grupo (teste t independente, $p > 0,06$). Já o subdominante (beta), apresentou maior frequência de ameaça, confronto lateral, fuga e total de ataques na condição de maior intensidade luminosa (teste t independente, $p < 0,04$). No submisso (gama), a maior luminosidade não aumentou o comportamento agressivo (teste t independente, $p > 0,09$; Figura 1).

Não houve interação entre o período de observação (filmagem) e a intensidade luminosa em todas as unidades comportamentais analisadas para o grupo, alfa, beta e gama (ANOVA de duas vias para medidas repetidas, $F < 1,92$; $p > 0,11$). Considerando o total de ataques do grupo e a fuga do beta e do gama, observou-se efeito, separadamente, da filmagem e da luminosidade. De modo geral, a maior intensidade luminosa aumentou a frequência das interações agressivas (ANOVA de duas vias para medidas repetidas, $F > 4,62$; $p < 0,04$). Nas demais unidades comportamentais foi encontrado apenas efeito do período de observação (ANOVA de duas vias para medidas repetidas, $F > 6,66$; $p < 0,02$). Houve uma redução dos ataques totais do terceiro para o quinto período de observação no grupo (Tukey, $p = 0,02$). Já para o dominante, foi constatado um aumento no segundo e terceiro períodos de observação seguido de posterior redução (quarto e quinto período) dos ataques totais (Tukey, $p < 0,03$). Como a maioria dos itens agonísticos foi exibida em baixa frequência pelo beta e o gama, foi avaliada apenas a fuga que, por sua vez, apresentou um perfil semelhante ao encontrado para os ataques do dominante (Tukey, beta: $p < 0,03$ e gama: $p < 0,01$; Figura 2).

Hierarquia social

Foi observada concordância entre a posição social dos animais e os períodos e observação em todas as réplicas submetidas a menor e a maior intensidade luminosa (coeficiente de concordância de Kendall, menor: $W < 0,25$, $p > 0,28$; maior: $W < 0,22$, $p > 0,34$).

Hematócrito e glicemia

A intensidade luminosa e a posição social não influenciaram o hematócrito (ANOVA de duas vias, $F < 2,50$; $p > 0,11$; Figura 3) e os níveis de glicose plasmática (ANOVA de duas vias, $F < 2,12$; $p > 0,14$; Figura 4) antes e após o agrupamento.

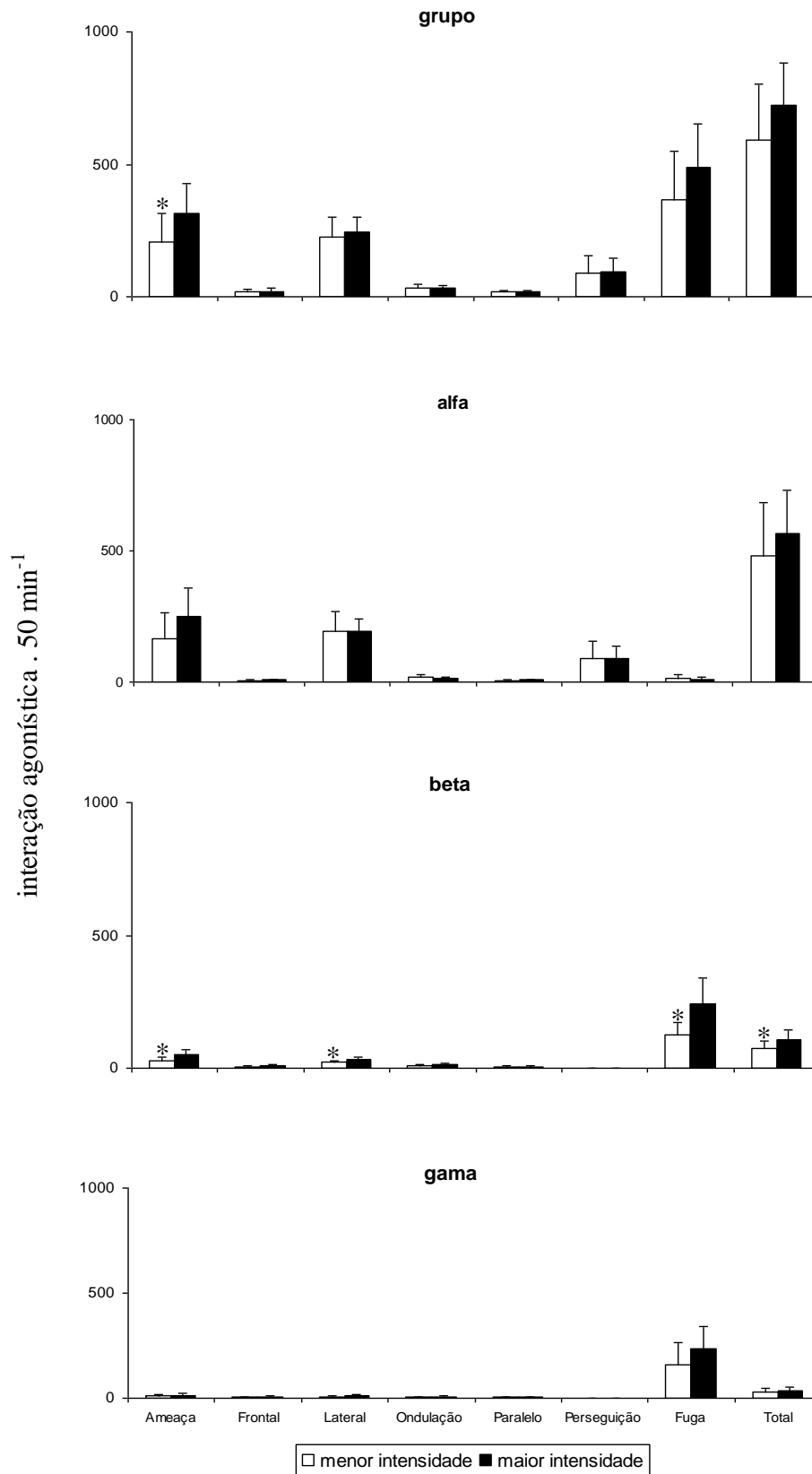


Figura 1. Frequência da interação agonística (média \pm desvio padrão) do grupo, alfa, beta e gama nas duas intensidades luminosas. Asterisco indica diferença estatística significativa (teste t independente, $p < 0,04$).

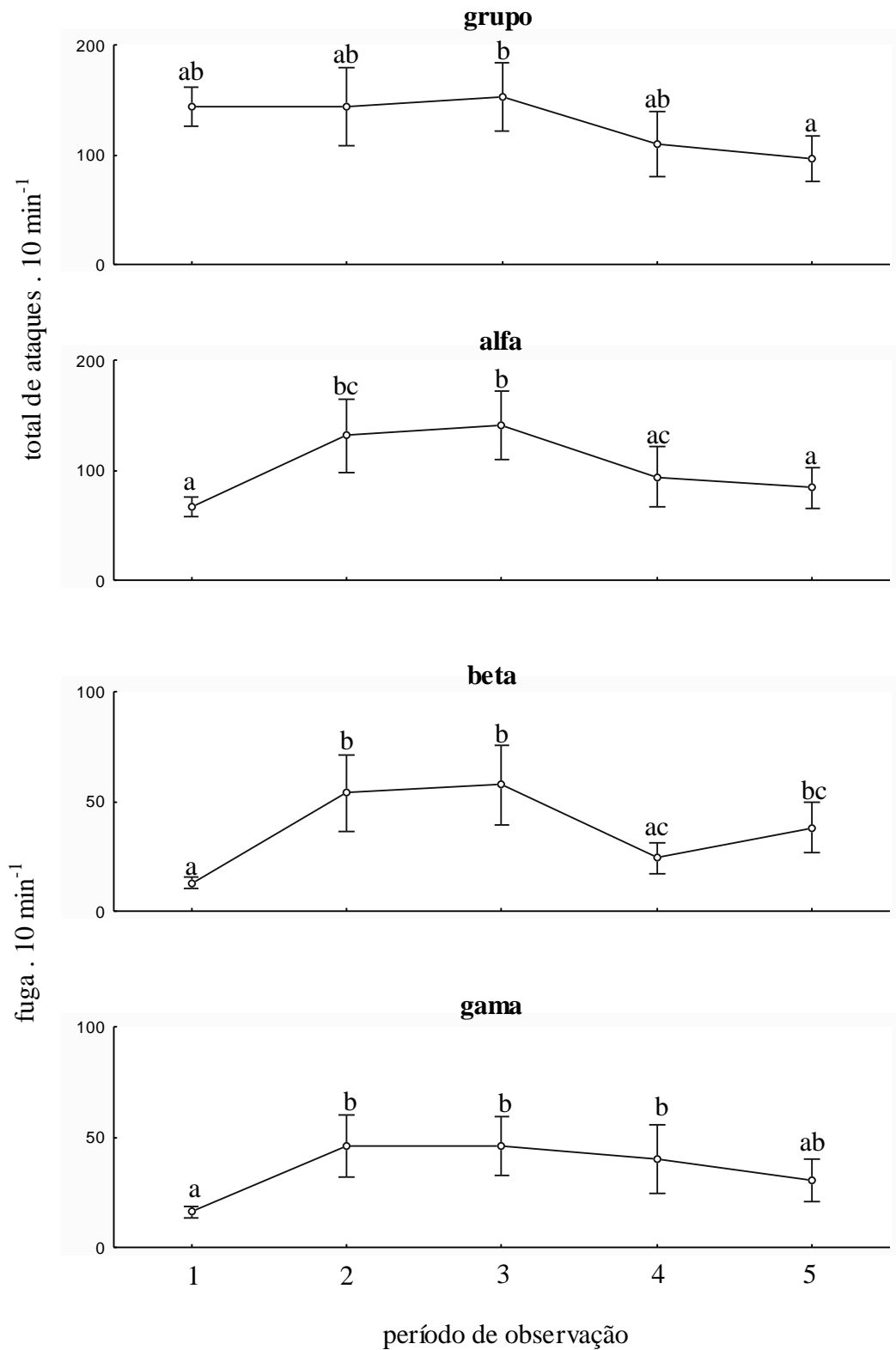


Figura 2. Freqüência da interação agonística (média \pm desvio padrão) do grupo, alfa, beta e gama em cada período de observação (filmagem). Letras diferentes indicam significância estatística (ANOVA de duas vias para medidas repetidas, $p < 0,04$).

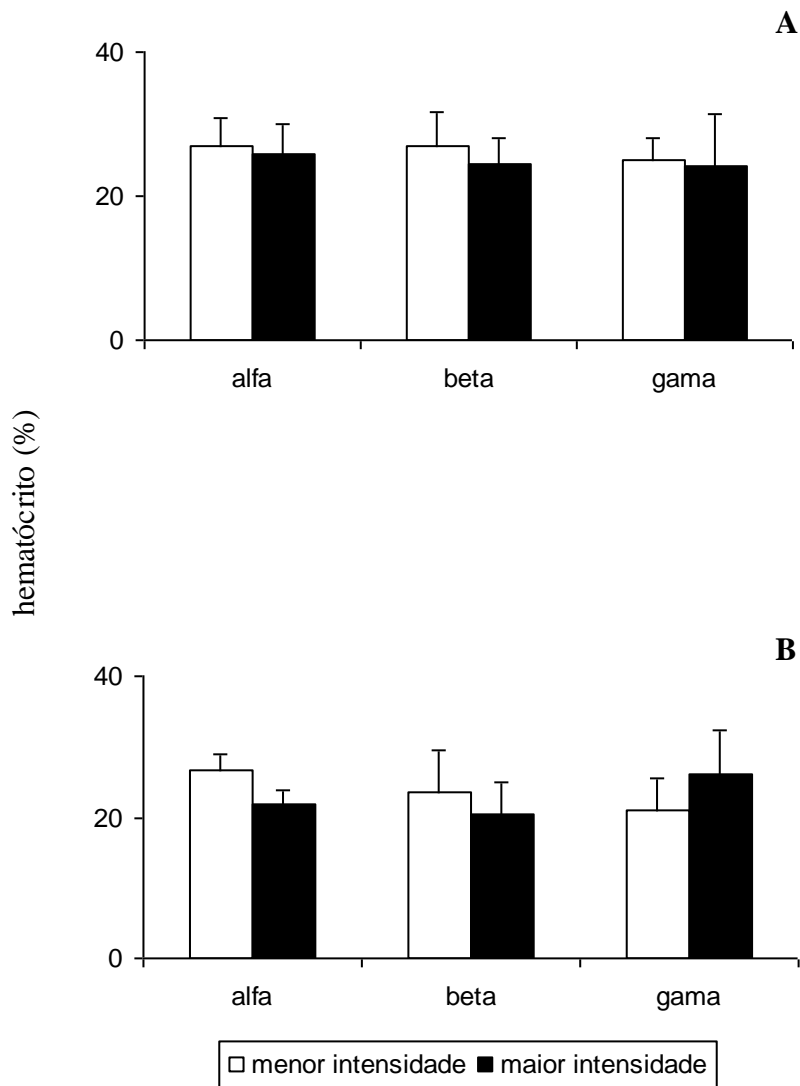


Figura 3. Média (\pm desvio padrão) do hematócrito do alfa, beta e gama nas duas intensidades luminosas. **A.** antes do agrupamento (menor: $n=5$; maior: $n=7$); **B.** após o agrupamento ($n=5$ / cada luminosidade). Sem diferença estatística significativa (ANOVA de duas vias, $F < 2,50$; $p > 0,11$).

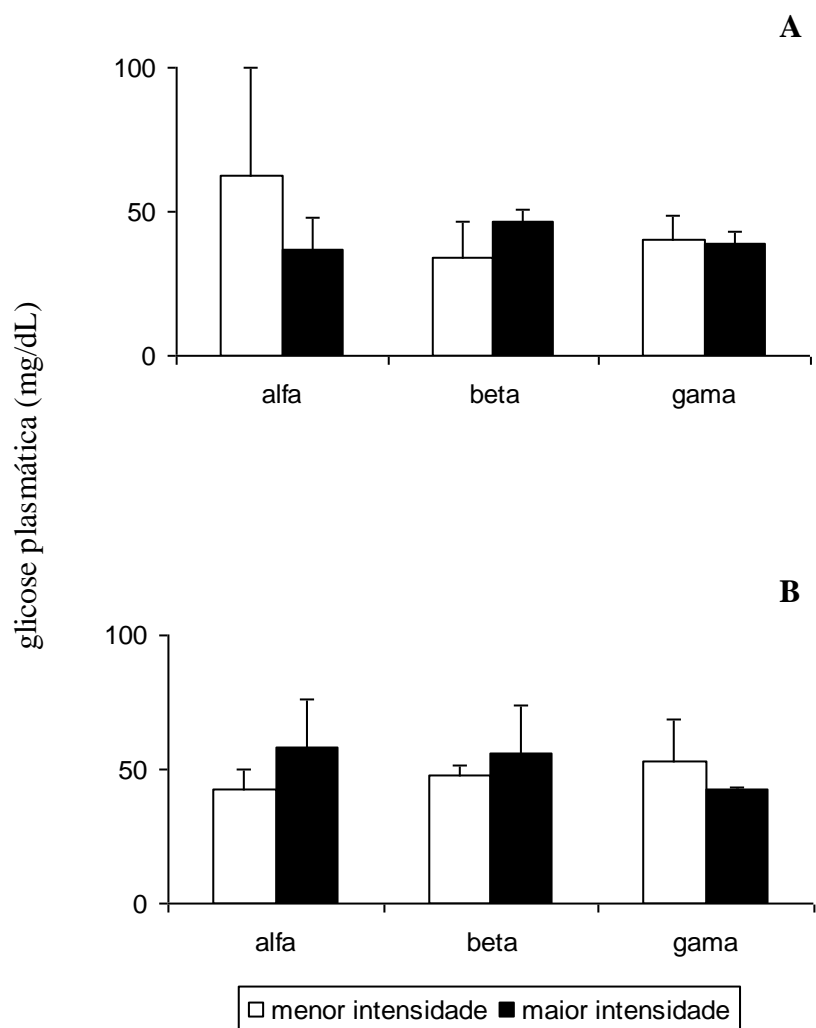


Figura 4. Média (\pm desvio padrão) dos níveis de glicose plasmática do alfa, beta e gama nas duas intensidades luminosas. **A.** antes do agrupamento (menor: $n=6$; maior: $n=7$); **B.** após o agrupamento ($n=6$ / cada luminosidade). Sem diferença estatística significativa (ANOVA de duas vias, $F < 2,12$; $p > 0,14$).

DISCUSSÃO

Interação Agonística

Foi observado efeito positivo dos níveis de luminosidade sobre o comportamento agonístico na tilápia-do-Nilo. Esse resultado é o inverso do encontrado em juvenis da mesma espécie, onde a agressividade foi menor na maior intensidade de luz (experimento I). Além das diferenças na fase de desenvolvimento dos indivíduos, os dois estudos foram realizados em contextos sociais distintos. No experimento I, duplas foram submetidas ao paradigma residente-intruso por um curto período. Já neste estudo, 3 animais foram agrupados por 10 dias, permitindo a formação de uma hierarquia social bem definida e submetidos cronicamente à diferentes intensidades luminosas. Dessa forma, além das diferenças espécie-específicas sugeridas anteriormente (experimento I), o perfil agonístico frente a variações de luminosidade pode ser influenciado por características intra-específicas, tais como a maturidade sexual, o tempo de interação entre os animais, o tamanho e a estabilidade hierárquica do grupo.

De acordo com estudos anteriores (experimento II), a posição social (dominante) modula a influência da luminosidade no comportamento agressivo em duplas de *Tilapia rendalli*. O efeito da posição social também é evidente na tilápia-do-Nilo, no entanto, essa resposta foi observada no animal subdominante (beta). Uma possível explicação é que o animal de nível intermediário recebe mais ataques do dominante e emite maior número confrontos ao submisso para manter sua posição social, ficando mais suscetível a variações no ambiente. Assim, o efeito da intensidade luminosa sobre a agressividade na tilápia-do-Nilo tem como principal responsável o subdominante e sugere a necessidade de avaliar a interferência de condições ambientais em diferentes níveis hierárquicos.

O período de observação interfere na frequência de comportamento agressivo emitida pelo grupo e por cada indivíduo (alfa, beta e gama). Observou-se no grupo uma redução na frequência de ataques totais a partir da metade do período de agrupamento (terceira filmagem). Já para o alfa, foi constatado um aumento inicial seguido de posterior redução dos ataques totais. O beta e o gama apresentaram perfil de fuga semelhante ao encontrado para os ataques do dominante. De modo geral, esperava-se uma maior agressividade na primeira filmagem, pois corresponde ao período onde ainda não foi observado estabelecimento da hierarquia de dominância. De fato, a interação agressiva é mais intensa em condições onde a estrutura social ainda não estava definida (Huntingford & Turner, 1987). No entanto, a primeira filmagem foi realizada imediatamente após a formação do grupo em um ambiente novo. Além disso, a duração de filmagem foi curta (10 min), o que pode não ter evidenciado altos níveis de

agressividade nesse período. De acordo com Johnsson (1997), o estabelecimento e a manutenção da hierarquia são importantes, pois reduzem o nível de agressão no grupo. De fato, foi observada uma redução nas interações ao longo do tempo, o que pode ser decorrente da estabilidade social.

Hierarquia social

A concordância entre a posição social dos animais e os períodos de observação evidenciada nos grupos submetidos a menor e a maior intensidade luminosa, indica que a luminosidade não interfere na estabilidade da hierarquia de dominância. Embora a estabilidade hierárquica varie dependendo das condições as quais os animais são submetidos (Lehner, 1996), os efeitos das condições ambientais são pouco evidentes. Vários estudos mostram que alterações ambientais geram instabilidade social (Hofmann *et al.*, 1999; Sloman *et al.*, 2001; Sloman *et al.*, 2002; Sneddon & Yerbury, 2004; Fischer & Ohl, 2005; Sneddon *et al.*, 2006), no entanto, Teresa (2005) sugere que a hierarquia de dominância é mantida estável nessas condições.

Apesar de não ter sido observado efeito da intensidade luminosa sobre a estabilidade social, esse fator ambiental pode interferir na formação da hierarquia. De acordo com Lehner (1996), a hierarquia social pode ser classificada em 2 tipos: linear (transitiva) e não-linear (intransitiva). A hierarquia linear é unidirecional, isto é, o animal de mais alta posição social (alfa) domina todos os outros membros do grupo; o que ocupa o segundo *rank* hierárquico (beta) domina todos os indivíduos exceto o alfa e, o animal na última posição (gama), é dominado por todos. Já em hierarquias não lineares, existe uma ou mais relações intransitivas (circulares), sendo que a posição social dos indivíduos não pode ser bem estabelecida, pois cada animal domina um outro membro do grupo (Chase, 1980; Lehner, 1996). Esse critério não foi avaliado, pois conceitualmente pode ser aplicado apenas em grupos formados por mais de seis indivíduos (Appleby, 1983). Assim, sugere-se a avaliação do efeito de fatores ambientais sobre a hierarquia em grupos maiores, onde é observada uma estrutura social mais complexa, sendo possível inferir parâmetros associados com a formação e a manutenção da dominância.

Hematócrito e glicemia

Parâmetros relacionados com gasto energético, tais como, taxa ventilatória, depleção de glicogênio, hematócrito e glicemia, podem ser utilizados como indicadores indiretos de estresse em peixes (Wedemeyer & Mcleay, 1981; Neat *et al.*, 1998; Cnaani *et al.*, 2004). Neste estudo, foram mensurados o hematócrito e o nível plasmático de glicose para inferir se a

luminosidade e/ou a posição social desencadeiam uma resposta estressora em grupos de tilápia-do-Nilo. Os valores médios obtidos foram semelhantes aos já descritos na literatura para a mesma espécie (Fernandes & Volpato, 1993; Biswas *et al.*, 2004; Welker *et al.*, 2007), mostrando que as metodologias utilizadas foram adequadas.

A luminosidade pode atuar como um estressor em peixes (Almazán-Rueda *et al.*, 2005; Valenzuela *et al.*, 2007; e experimento II). No entanto, Biswas *et al.* (2004) sugerem que diferentes fotoperíodos não causam resposta de estresse agudo ou crônico na tilápia-do-Nilo. Neste estudo, não foi encontrado efeito da intensidade luminosa sobre as variáveis indicadoras de estresse (hematócrito e glicemia). Isso indica que a influência da intensidade de luz sobre a agressividade não pode ser explicada através da hipótese sugerida por Olla *et al.* (1978) e Sneddon & Yerbury (2004), onde a diminuição da interação é considerada uma estratégia para reduzir o gasto de energia ocasionado pela mudança metabólica resultante de uma alteração ambiental. Dessa forma, outro mecanismo pode modular a maior resposta agressiva em maior luminosidade. Esse efeito, por exemplo, pode ser mediado pela melatonina, hormônio liberado em maior quantidade em baixa intensidade luminosa (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002) e que pode diminuir as interações agonísticas (Munro, 1986).

Em grupos onde a hierarquia de dominância é estabelecida, o estressor social apresenta impacto diferencial sobre os membros do grupo (Fox *et al.*, 1997; Sloman *et al.*, 2000; Gilmour *et al.*, 2005). No entanto, não foram observadas diferenças entre as posições sociais nos grupos de tilápia-do-Nilo. Esse resultado pode ter sido observado, pois a estrutura hierárquica foi mantida estável ao longo do tempo, o que diminuiu a frequência da interação agressiva e, provavelmente, o estresse social nas posições inferiores (beta e gama). De fato, a manutenção da hierarquia reduz o nível de agressão no grupo (Johnsson, 1997), previne ferimentos e minimiza a perda de energia (Andries & Nelissen, 1990), diminuindo, conseqüentemente, o estresse social decorrente da interação.

Em conclusão, observa-se que a maior intensidade luminosa aumenta a agressividade em grupos de machos adultos de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*. Esse efeito é dependente da posição social, mas não interfere na estabilidade da estrutura hierárquica e em respostas decorrentes de estresse.

REFERÊNCIAS

- Adamo, S.A. & Parsons, N.M. (2006). The emergency life-history stage and immunity in the cricket, *Gryllus texensis*. *Animal Behaviour*, 72: 235–244
- Afonso, L.O.B. & Leboutte, E.M. (1993). Métodos para sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Anais do IV Encontro Rio-Grandense de Técnicos em Aquicultura*, 100-103.
- Almazán-Rueda, P.; Schrama, J.W. & Verreth, J.A.J. (2004). Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 347-359.
- Almazán-Rueda, P.; Van-Helmond, A.T.M.; Verreth, J.A.J. & Schrama, J.W. (2005). Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039.
- Alvarenga, C.M.D. & Volpato, G.L. (1995). Agonistic profile and metabolism in alevines of Nile tilapia. *Physiology and Behavior*, 57: 75-80.
- Andries, S. & Nelissen, M.H.J. (1990). A study of the dominance hierarchy in four Mbuna-species: *Melanochromis johanni*, *M. auratus*, *Pseudotropheus ornatus* and *P. lombardoi* (Teleostei: Cichlidae). *Belgian Journal of Zoology*, 120: 165-193.
- Appleby, M.C. (1983). The probability of linearity in hierarchies. *Animal Behaviour*, 31: 600-608.
- Baerends, G.P. & Baerends-Van Roon, J. (1950). An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behaviour Supplement*, 1: 1-242.
- Bailey, J.; Alanärä, A. & Brännäs, E. (2000). Methods for assessing social status in Arctic charr. *Journal of Fish Biology*, 57: 258-261.
- Baldisserotto, B. (2002). Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura. Editora UFSM, Santa Maria, 211p.
- Barreto (2002). Estressor social facilita estresse na tilápia-do-Nilo? Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 38p.
- Bayarri, M.J.; Madrid, J.A. & Sánchez-Vázquez, F.J. (2002). Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32: 34-40.
- Biswas, A.K.; Maita, M.; Yoshizaki, G. & Takeuchi, T. (2004). Physiological responses in Nile tilapia exposed to different photoperiod regimes. *Journal of Fish Biology*, 65: 811-821.

- Boeuf, G. & Le Bail, P.Y. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129-152.
- Castro, J.J. & Caballero, C. (2004). Effect of the light intensity upon the agonistic behaviour of juvenile of white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behavior*, 30: 313-318.
- Chase, I.D. (1980). Social process and hierarchy formation in small groups: a comparative perspective. *American Sociological Review*, 45: 905-924.
- Cnaani, A.; Tinman S.; Avidar, Y.; Ron, M.; & Hulata, G. (2004). Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 35: 1434-1440.
- Ekström, P. & Meissl, H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Review in Fish and Fisheries*, 7: 199-284.
- Falter, U. (1983). Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l'incubation buccale. *Bulletin de la Classe des Sciences*, 69: 566-593.
- Fernandes, M.O. & Volpato, G.L. (1993). Heterogeneous growth in the Nile tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. *Physiology and Behavior*, 54: 319-323.
- Fischer, P. & Ohl, U. (2005). Effects of water-level fluctuations on the littoral benthic fish community in lakes: a mesocosm experiment. *Behavioral Ecology*, 741-746.
- Fox, H.E.; White, S.A.; Kao, M.H.F. & Fernald, R.D. (1997). Stress and dominance in a social fish. *Journal of Neuroscience*, 17: 6453-6469.
- Gilmour, K.M.; DiBattista, J.D. & Thomas, J.B. (2005). Physiological causes and consequences of social status in salmonid fish. *Integrative and Comparative Biology*, 45: 263-273.
- Gómez-Laplaza, L.M. & Morgan, E. (1993). Social isolation, aggression, and dominance in attacks in juvenile angelfish, *Pterophyllum scalare*. *Aggressive Behavior*, 19: 213-222.
- Gonçalves-de-Freitas, E.; Teresa, F.B.; Gomes, F.S. & Giaquinto, P.C. (2008). Effect of water renewal on dominance hierarchy of juvenile Nile tilapia. *Applied Animal Behaviour Science*, 112: 187-195.
- Helfman, G.S. (1993). Fish Behaviour by Day, Night and Twilight. In: Pitcher, T.J. Behaviour of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London, 715p.
- Hofmann, H.A.; Benson, M.E. & Fernald, R.D. (1999). Social status regulates growth rate: consequences for life-history strategies. *PNAS*, 96: 14171-14176.
- Huntingford, F. & Turner, A. (1987). Animal Conflict. Chapman and Hall, New York, 448p.

- Iwama, G.K.; McGeer, J.C. & Pawluk, M.P. (1989). The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology*, 67: 2065-2073.
- Johnsson, J.I. (1997). Individual recognition affects aggression and dominance relations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ethology*, 103: 267-282.
- Larson, E.T.; Winberg, S.; Mayer, I.; Lepage, O.; Summers, C.H. & Overli, O. (2004). Social stress affects circulating melatonin levels in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 136: 322-327.
- Lehner, P.N. (1996). *Handbook of Ethological Methods*. Cambridge University Press, United Kingdom, 672p.
- Munro, A.D. (1986). Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *Journal of Pineal Research*, 3: 257-262.
- Neat, F.C.; Taylor, A.C. & Huntingford, F.A. (1998). Proximate costs of fighting in male cichlid fish: the role of injuries and energy metabolism. *Animal Behaviour*, 55: 875-882.
- Nicieza, A.G. & Metcalfe, N.B. (1999). Costs of rapid growth: the risk of aggression is higher for fast-growing salmon. *Functional Ecology*, 13: 793-800.
- Oliveira, R.F. & Almada, V.C. (1996a). Dominance hierarchies and social structure in captive groups of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* (Teleostei Cichlidae). *Ethology Ecology and Evolution*, 8: 39-55.
- Oliveira, R.F. & Almada, V.C. (1996b). On the (in)stability of dominance hierarchies in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Aggressive Behaviour*, 22: 37-45.
- Olla, B.L.; Studholme, A.L.; Bejda, A.J.; Samet, C., Martin, A.D. (1978). Effect of temperature on activity and social behavior of the adult Tautog *Tautoga onitis* under laboratory conditions. *Marine Biology*, 45: 369-378.
- Paiva, P.; Verani, J.R.; Mainardes-Pinto, C.S.R. & Tabata, Y.A. (1988). Studies on the growth and reproduction in the cichlid *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757) in an earthen pond. *Boletim do Instituto de Pesca*, 15: 109-114.
- Ridley, M. (1995). *Animal Behavior*. Blackwell Scientific Publications, Boston, 288p.
- Sakakura, Y. & Tsukamoto, K. (1997). Effects of water temperature and light intensity on aggressive behavior in the juvenile yellowtails. *Fisheries Science*, 63: 42-45.
- Siegel, S. & Castellan Jr., N. (2006). *Estatística Não-Paramétrica para Ciências do Comportamento*. Artmed, Porto Alegre, 448p.

- Sloman, K.A.; Gilmour, K.M.; Taylor, A.C. & Metcalfe, N.B. (2000). Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout, *Salmo trutta*, held under simulated natural condition. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 11-20.
- Sloman, K.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2001). Effects of an environmental perturbation on the social behaviour and physiological function of brown trout. *Animal Behaviour*, 61: 325-333.
- Sloman, K.A.; Wilson, L.; Freel, J.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. & Gilmour, K.M. (2002). The effects of increased flow rates on linear dominance hierarchies and physiological function in brown trout, *Salmo trutta*. *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1221-1227.
- Sneddon, L.U. & Yerbury, J. (2004). Differences in response to hypoxia in the three-spined stickleback from lotic and lentic localities: dominance and an anaerobic metabolite. *Journal of Fish Biology*, 64: 799-804.
- Sneddon, L.U.; Hawkesworth, S.; Braithwaite, V.A. & Yerbury, J. (2006). Impact of environmental disturbance on the stability and benefits of individual status within dominance hierarchies. *Ethology*, 112: 437-447.
- Stefánsson, M.O.; Fitzgerald, R.D. & Cross, T.F. (2002). Growth, feed utilization and growth heterogeneity in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Rafinesque) under different photoperiod regimes. *Aquaculture Research*, 33: 177-187.
- Teresa, F.B. (2005). Nível de água e interação social em machos de tilápia-do-Nilo. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, SP. 21p.
- Valdimarsson, S.K. & Metcalfe, N.B. (2001). Is the level of aggression and dispersion in territorial fish dependent on light intensity? *Animal Behaviour*, 61: 1143-1149.
- Valenzuela, A.E.; Silva, V.M. & Klempau, A.E. (2007). Effects of different artificial photoperiods and temperatures on haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 34: 159-167.
- Volpato, G.L. & Barreto, R.E. (2001). Environmental blue light prevents stress in Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.
- Wedemeyer, G.A. & Mcleay, D.J. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Pickering, A.D. (Eds.); *Stress and Fish*. Academic Press, London, 367p.
- Welker, T.L.; Lim, C.; Yildirim-Aksoy, M. & Klesius, P.H. (2007). Growth, immune function, and disease and stress resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of bovine lactoferrin. *Aquaculture*, 262: 156-162.

- Wendelaar-Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.
- Wingfield, J.C. (2003). Control of behavioural strategies for capricious environments. *Animal Behaviour*, 66: 807-816.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical Analyses*. Prentice Hall, New Jersey.
- Zayan, R. (1991). The specificity of social stress. *Behavioural Processes*, 25: 81-93.

EXPERIMENTO IV

**Efeito do fotoperíodo no comportamento social e nos
níveis circulantes de esteróides sexuais em *Tilapia rendalli***

* experimento parcialmente desenvolvido no Instituto Superior de Psicologia Aplicada, ISPA-Lisboa / Portugal, sob orientação do Prof. Dr. Rui Filipe Nunes Pais de Oliveira.
auxílio financeiro: CAPES-PDEE (processo: 3617/07-6)

RESUMO

O fotoperíodo modula o comportamento agressivo e os níveis de esteróides sexuais em vertebrados. No entanto, pouco é conhecido sobre a influência dessa condição ambiental na resposta ao desafio social em peixes. Assim, foi testado o efeito do fotoperíodo nas interações agonísticas e nos níveis plasmáticos de testosterona e 11-cetotestosterona (11-KT) em machos adultos de *Tilapia rendalli*. Foram comparados dois tratamentos: dia longo (16L:08D) e dia curto (08L:16D). Os animais permaneceram agrupados por 20 dias de acordo com o tratamento. Após esse período, os peixes de cada fotoperíodo foram separados em duas condições. **Condição I:** isolados por 4 dias, para obter os níveis plasmáticos basais de andrógenos (dia longo: n=14; dia curto: n=9); **Condição II:** isolados por 3 dias e no 4º dia submetidos a intrusão territorial por 1 h, para testar os níveis de andrógenos em resposta ao desafio social (dia longo: n=12; dia curto: n=10). O maior período de luz não afetou o início dos confrontos, mas aumentou a duração da interação. Já o comportamento agressivo do dominante, submisso e dupla foi estimulado pelo dia longo. Não foram observadas diferenças nos níveis plasmáticos de testosterona e 11-KT entre os fotoperíodos. No entanto, o contexto social afetou os hormônios, sendo observado maior nível de testosterona e 11-KT no macho dominante em relação ao submisso. Os níveis plasmáticos de andrógenos não foram correlacionados com as unidades comportamentais, sugerindo que os efeitos recíprocos entre a agressividade e os esteróides sexuais não são evidentes. Dessa forma, o fotoperíodo interfere na interação social, mas essa resposta parece não ser mediada pelos andrógenos. Além disso, embora a posição social interfira nos níveis hormonais, o fotoperíodo não modula os andrógenos em machos de *T. rendalli*.

INTRODUÇÃO

Grande número de animais utiliza o fotoperíodo como estímulo sinal que permite a antecipação e a preparação para mudanças sazonais no seu ciclo de vida (Bradshaw & Holzapfel, 2007). O comprimento do dia modula os processos fisiológicos e comportamentais dos indivíduos, sendo considerado um dos principais fatores ambientais responsáveis pelo controle dos ritmos biológicos (Volpato & Trajano, 2006; Zhdanova & Reeb, 2006). De fato, o período claro/escuro controla a atividade alimentar (Petit *et al.*, 2003; Biswas *et al.*, 2006), o crescimento (Appelbaum & Mcbeer, 1998; Imsland *et al.*, 2006), a sobrevivência (Reynalte-Tataje *et al.*, 2002), a taxa metabólica (Biswas *et al.*, 2002; Biswas & Takeuchi, 2002) a reprodução (Pankhurst & Porter, 2003; Biswas *et al.*, 2005; Rad *et al.*, 2006) e a agressividade (Britz & Pienaar, 1992; Almazán-Rueda *et al.*, 2005) em peixes.

O efeito do fotoperíodo sobre o comportamento agonístico pode ser mediado por diferentes mecanismos. Por exemplo, a menor agressividade observada em dias mais curtos (ex. Almazán-Rueda *et al.*, 2004; Almazán-Rueda *et al.*, 2005) pode ser decorrente do aumento dos níveis de melatonina nessa condição. Isso pode ser sugerido, pois a melatonina é liberada em maior quantidade durante a ausência de luz (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002) e, juntamente com seus precursores (ex: L-triptofano), reduz a agressividade em peixes (Munro, 1986; Winberg *et al.*, 2001; Hoglund *et al.*, 2005). Por outro lado, longos períodos de luz podem ser prejudiciais para os peixes (Boeuf & Le Bail, 1999; Stefánsson *et al.*, 2002) e desencadear uma situação potencialmente estressora (Almazan-Rueda *et al.*, 2005), diminuindo o comportamento agressivo. Esse efeito pode ser uma resposta adaptativa, pois em um ambiente que exige grande demanda energética (como em uma condição de luminosidade extrema) a redução da interação agressiva minimiza o gasto energético, deslocando energia para ajustes fisiológicos decorrentes do estresse (ex. Olla *et al.*, 1978; Sneddon & Yerbury, 2004). A menor agressividade em alta luminosidade também pode ser uma estratégia para reduzir a conspicuidade do animal no ambiente (Castro & Caballero, 2004).

Além dos mecanismos mencionados, a relação entre o fotoperíodo e a interação agonística pode ser modulada pelos níveis de andrógenos. De modo geral, dias longos aumentam a liberação de esteróides sexuais, sinalizando o período do ciclo reprodutivo (Shimizu, 2003; Biswas *et al.*, 2005). O efeito do comprimento do dia sobre os hormônios também pode ser indireto. O maior período de luz inibe a produção de melatonina (Fálcon & Collin, 1989; Ekström & Meissl, 1997) que estimula a liberação de andrógenos em peixes (Borg & Ekström, 1981; Nayak & Singh, 1987; Amano *et al.*, 2004; Sebert *et al.*, 2008). Esses

hormônios, por sua vez, podem aumentar a frequência do comportamento agonístico em ciclídeos (Fernald, 1976; Francis *et al.*, 1992; Munro & Pitcher, 1985; Ros *et al.*, 2004). Segundo Oliveira & Gonçalves (*in press*), essa resposta pode ser mediada pela ação dos esteróides sexuais no sistema motivacional central da agressividade (ex. neuropeptídeos, catecolaminas e/ou serotonina). A relação hormônios sexuais e comportamento agonístico pode ser sugerida devido a importância de interações agressivas durante o contexto reprodutivo como, por exemplo, na seleção intra-sexual (Becker *et al.*, 1993). No entanto, a variação hormonal pode não ser a causa, mas o efeito da diferença comportamental (Huntigford & Turner, 1987).

O contexto social pode modular os níveis de andrógenos em vertebrados, evidenciando recíproca associação entre os esteróides sexuais e o comportamento (Wingfield *et al.*, 1990; Oliveira *et al.*, 2002; Ros *et al.*, 2003; Hirschenhauser *et al.*, 2004; Desjardins *et al.*, 2005). Vários trabalhos sugerem que a produção de andrógenos é estimulada pelo aumento da competição entre coespecíficos e regulada pela estabilidade do ambiente social em teleósteos (para revisão ver Hirschenhauser & Oliveira, 2006). Assim, o aumento dos níveis de andrógenos em maior fotoperíodo pode ser mediado pelo aumento da interação agressiva nessa condição ambiental. Por outro lado, o fotoperíodo também pode modular diretamente a secreção dos esteróides, os quais dão suporte aos desafios sociais, uma vez que causam aumento da agressividade, preparando o animal para situações de competição.

Independente do processo envolvido, espera-se que no maior fotoperíodo seja observada maior interação agressiva e níveis de andrógenos (testosterona e 11-cetotestosterona). Assim, o objetivo foi testar o efeito do fotoperíodo nas interações agonísticas e nos níveis plasmáticos de esteróides sexuais em machos adultos de *Tilapia rendalli*. Uma espécie de ciclídeo foi escolhida, pois apresenta organização social estabelecida por meio de interações agressivas (Baerends & Baerends-Van Roon, 1950), característica ideal para testar a hipótese proposta. Além disso, pouco é conhecido sobre a influência do fotoperíodo na resposta ao desafio social em ciclídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi avaliado o efeito do fotoperíodo nas interações agonísticas e nos esteróides sexuais em machos adultos de *Tilapia rendalli*. Para isso, duplas foram submetidas a dois fotoperíodos, sendo o perfil agonístico e os níveis plasmáticos de testosterona e 11-cetotestosterona analisados em cada condição.

A coleta de dados foi desenvolvida no Laboratório de Comportamento Animal do Departamento de Zoologia e Botânica do IBILCE / UNESP, São José do Rio Preto, SP. Já as análises comportamentais e hormonais foram realizadas no Instituto Superior de Psicologia Aplicada, Lisboa- Portugal, sob orientação do Prof. Dr. Rui Filipe Nunes Pais de Oliveira.

Aclimação

Os animais foram provenientes do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura (CEPTA – IBAMA) de Pirassununga - SP, sendo criados na Mini-Estação de Piscicultura do IBILCE, CAUNESP, São José do Rio Preto-SP. Os espécimes foram transferidos para o laboratório onde foram aclimatados em caixa de polietileno de 500L (1 animal/5L) por, no mínimo, 15 dias antecedendo o experimento. Durante esse período, a temperatura foi mantida em torno de 27° C, a intensidade luminosa em $749,8 \pm 89,7$ lx e o fotoperíodo em 12 h (07:00 h às 19:00 h). Filtros biológicos garantiram a qualidade da água e o alimento (ração para peixes tropicais com 32% de proteína) foi oferecido à vontade duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).

Delineamento Experimental

Foi observado o perfil agressivo em duplas de machos adultos de *Tilapia rendalli* submetidos a dois tratamentos: dia longo (16L:08D) e dia curto (08L:16D). Foram comparados a frequência de interação agonística e os níveis plasmáticos de andrógenos (testosterona e 11-cetotestosterona) entre os fotoperíodos.

Os animais foram medidos (dia longo: $11,17 \pm 1,13$ cm; dia curto: $13,33 \pm 1,78$ cm), pesados (dia longo: $46,57 \pm 13,65$ g; dia curto: $80,26 \pm 27,82$ g), sexados por inspeção da papila genital (Afonso & Lebouté, 1993) e separados em caixas d'água de polietileno de 250 L (1 animal / 6,25L) por 20 dias de acordo com o fotoperíodo. Embora tenha sido observada variação de tamanho entre os tratamentos (teste t independente, $t > 2,91$; $p < 0,01$), a biometria dos animais não afetou o comportamento e as variáveis hormonais (correlação de Pearson, $R <$

0,29, $p > 0,05$). Essa diferença foi decorrente de questões logísticas principalmente associadas a disponibilidade de peixes no laboratório.

Após o período de 20 dias, os animais de cada tratamento foram separados em duas condições. **Condição I:** machos isolados por 4 dias, para obter os níveis plasmáticos basais de andrógenos (dia longo: $n=14$; dia curto: $n=9$); **Condição II:** machos isolados por 3 dias e no 4^o dia submetidos a intrusão territorial (Figler & Einhorn, 1983) de um outro macho por 1 h, para testar os níveis de andrógenos em resposta ao desafio social (dia longo: $n=12$; dia curto: $n=10$). Foram utilizadas duplas formadas por animais (residente e intruso) de mesmo tamanho (teste t independente, $t < 0,32$; $p > 0,75$), marcados por diferentes cortes na nadadeira caudal. A duração das duas condições foi de 4 dias, sendo realizada uma coleta de sangue imediatamente antes do isolamento e outra no final do 4^o dia. As amostras de plasma foram submetidas à análise de testosterona e 11-cetotestosterona (11-KT).

Condições gerais do experimento

Todos os animais (residentes e intrusos) foram isolados em aquários de 40 x 30 x 40 cm revestidos por plástico azul opaco em três lados para evitar contato visual com animais de aquários vizinhos no laboratório. A cor azul foi utilizada porque reduz o estresse na tilápia-do-Nilo (Volpato & Barreto, 2001). A qualidade da água dos aquários foi mantida por meio de filtro biológico e aeração constante. A temperatura da água foi controlada em $26,75 \pm 0,68^\circ \text{C}$ e os animais receberam ração comercial na proporção de 2% da biomassa oferecida uma hora após o início do período de luz e duas horas antes do seu término. O fotoperíodo foi mantido de acordo com o tratamento (dias longo ou dia curto) por meio de temporizador digital.

Interação agonística

O comportamento agonístico foi registrado em uma filmagem correspondente ao tempo de pareamento (1h) e iniciada imediatamente após inclusão do macho intruso no aquário do residente. Foi comparada a latência para os confrontos entre os dias longo e curto. Além disso, foi avaliado o tempo para o estabelecimento da hierarquia de dominância, sendo determinado, segundo Falter (1983), a partir do momento em que um dos animais (submisso) deixa de atacar e começa a fugir do outro indivíduo (dominante). A interação foi quantificada pela frequência de itens agressivos, baseada no etograma abaixo descrito por Garcia (2003). Os ataques emitidos e recebidos foram analisados para o dominante, o submisso e a dupla. Todos os parâmetros comportamentais foram quantificados no programa The Observer XT 7.0/ Noldus.

Etograma da interação agonística

AMEAÇA: o peixe se aproxima lateralmente de outro e abre a boca sem encostá-la no corpo do oponente.

AMEAÇA SIMULTÂNEA: caracteriza-se pelo nado em trajetória circular dos 2 animais em perseguição simultânea, geralmente com as nadadeiras eriçadas.

FRONTAL: dois peixes se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo, ou um morde a mandíbula do outro sem ondulação caudal.

FUGA: o peixe perseguido ou atacado se afasta rapidamente do local de confronto.

LATERAL: um animal se aproxima do outro, geralmente com a nadadeira dorsal eriçada, e emite golpes com a boca aberta ou mordidas na região lateral do oponente, podendo ocorrer nas nadadeiras caudal, anal e dorsal, no ventre e no dorso.

ONDULAÇÃO: um animal ondula vigorosamente o corpo no sentido antero-posterior.

PARALELO: dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam o corpo simultaneamente, geralmente sem ocorrência de contato físico direto entre eles.

Manipulação, coleta de sangue e análise dos hormônios

A manipulação dos animais (biometria, sexagem e isolamento) foi precedida por anestesia com benzocaína (3 mg/L). Antes do isolamento e no final do 4^o dia (condição I e II), os animais foram anestesiados por imersão em benzocaína (9 mg/L) para a realização das coletas de sangue. Cada coleta de sangue foi precedida por 24 horas de jejum, de acordo com Barreto (2002). O tempo de anestesia e coleta de sangue foi medido para detectar possível influência dessas manipulações nas variáveis fisiológicas. O peixe foi considerado anestesiado quando ocorria perda postural, falta de reação motora a estímulo e manutenção da ventilação, critérios compatíveis com o estágio II de anestesia, como descrito por Iwama *et al.* (1989) para a truta arco-íris. O sangue foi coletado por punção caudal (0,7 ml por coleta), utilizando-se seringa de 1ml heparinizada. Em seguida, o material foi centrifugado para coleta do plasma (3000 rpm / 10 min), o qual foi congelado a -86° C para posterior análise dos esteróides. As medidas de testosterona e 11-KT foram feitas através de radioimunoensaio, como descrito, respectivamente, por Scott *et al.* (1984) e Kime & Manning (1982). A precisão dos intra e inter-ensaios (coeficiente de variação) foi de 2,17 e 2,36 para testosterona e de 1,43 e 2,19 para 11-KT. Após a última coleta de sangue, os animais foram mortos por dose letal de anestésico, novamente medidos e pesados e, em seguida, dissecados para confirmação do sexo e do

estágio de maturação gonadal, por meio da análise macroscópica das gônadas (Weyl & Hecht, 1998).

Análise dos Dados

Foram realizados procedimentos para a determinação dos valores discrepantes, análise da normalidade (teste de Shapiro Wilk) e da homogeneidade (teste F max) dos dados. Os valores de testosterona e 11-KT foram transformados (por logaritmo) para permitir o uso de teste paramétrico. As latências analisadas (confrontos e definição da hierarquia social) e a frequência de itens agonísticos emitidos pelo dominante, submisso e dupla entre os tratamentos (dia longo e curto) foram comparadas por teste t independente. A comparação da porcentagem de aumento da primeira para a segunda coleta nos níveis plasmáticos de testosterona e 11-KT [(nível final - nível inicial) / nível inicial . 100] entre o contexto social e os fotoperíodos foi feita por Análise de variância de duas vias, completada por LSD para comparações múltiplas. Foi considerado $p \leq 0,05$ para significância estatística. Todas as análises foram baseadas em Zar (1999) e Siegel & Castellan (2006).

RESULTADOS

Não houve diferença na latência para os confrontos entre os fotoperíodos (teste t independente, $t = -0,81$; $p = 0,43$). Já a duração da interação (diferença entre a latência para o estabelecimento da hierarquia social e para confrontos) foi maior no dia longo (teste t independente, $t = 2,87$; $p = 0,01$; Figura 1).

A frequência e a duração da interação agressiva emitida pelo dominante, o submisso e a dupla foram maiores no maior período de luz. Foram observadas diferenças nas seguintes unidades comportamentais: dominante- ameaça simultânea, frontal, ondulação, fuga e total de ataques (teste t independente, $t > 2,53$; $p < 0,02$); submisso- ameaça, ameaça simultânea, lateral, frontal, ondulação e total de ataques (teste t independente, $t > 2,23$; $p < 0,04$) e dupla- ameaça, ameaça simultânea, frontal, ondulação e total de ataques (teste t independente, $t > 2,43$; $p < 0,02$; Figura 2 e 3).

Não houve interação entre o contexto social e o fotoperíodo para a testosterona (ANOVA de duas vias, $F = 2,66$; $p = 0,08$) e para a 11-KT (ANOVA de duas vias, $F = 2,58$; $p = 0,07$), sendo observado apenas efeito do contexto social nos dois esteróides sexuais (ANOVA de duas vias, $F > 3,53$; $p < 0,03$). A porcentagem de aumento da testosterona (LSD, $p < 0,03$) e de 11-KT (LSD, $p < 0,04$) foi menor no submisso em relação aos outros dois animais (Figura 4).

Não foi observada correlação entre as unidades comportamentais e os níveis de testosterona ($R < 0,03$; $p > 0,05$) e de 11-KT ($R < 0,08$; $p > 0,05$). Os tempos de anestesia e manipulação também não foram correlacionados com os níveis hormonais (correlação de Pearson, $R < 0,39$, $p > 0,05$).

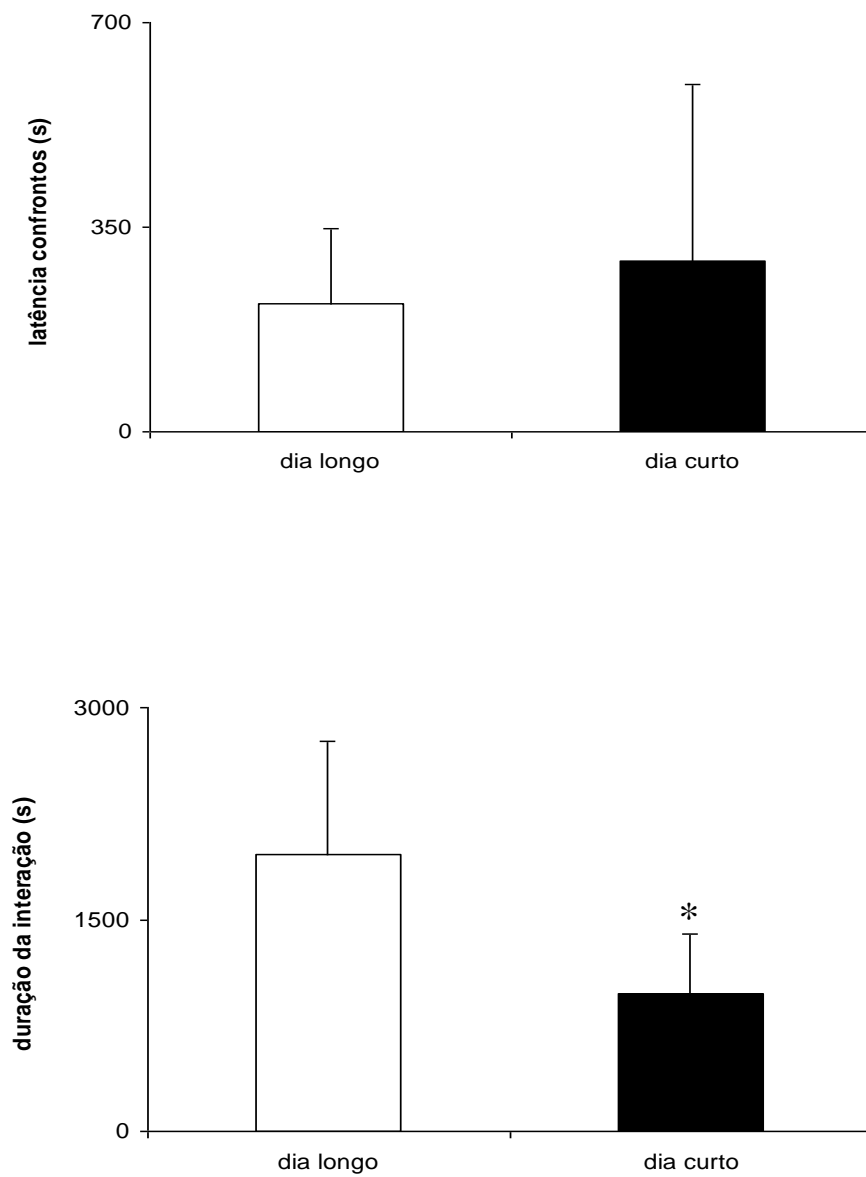


Figura 1. Latência (média \pm desvio padrão) para os confrontos (teste t independente, $t = -0,809$; $p = 0,427$) e para a duração da interação (teste t independente, $t = 2,87$; $p = 0,01$) nos dias longo e curto. Asterisco indica diferença estatística significativa.

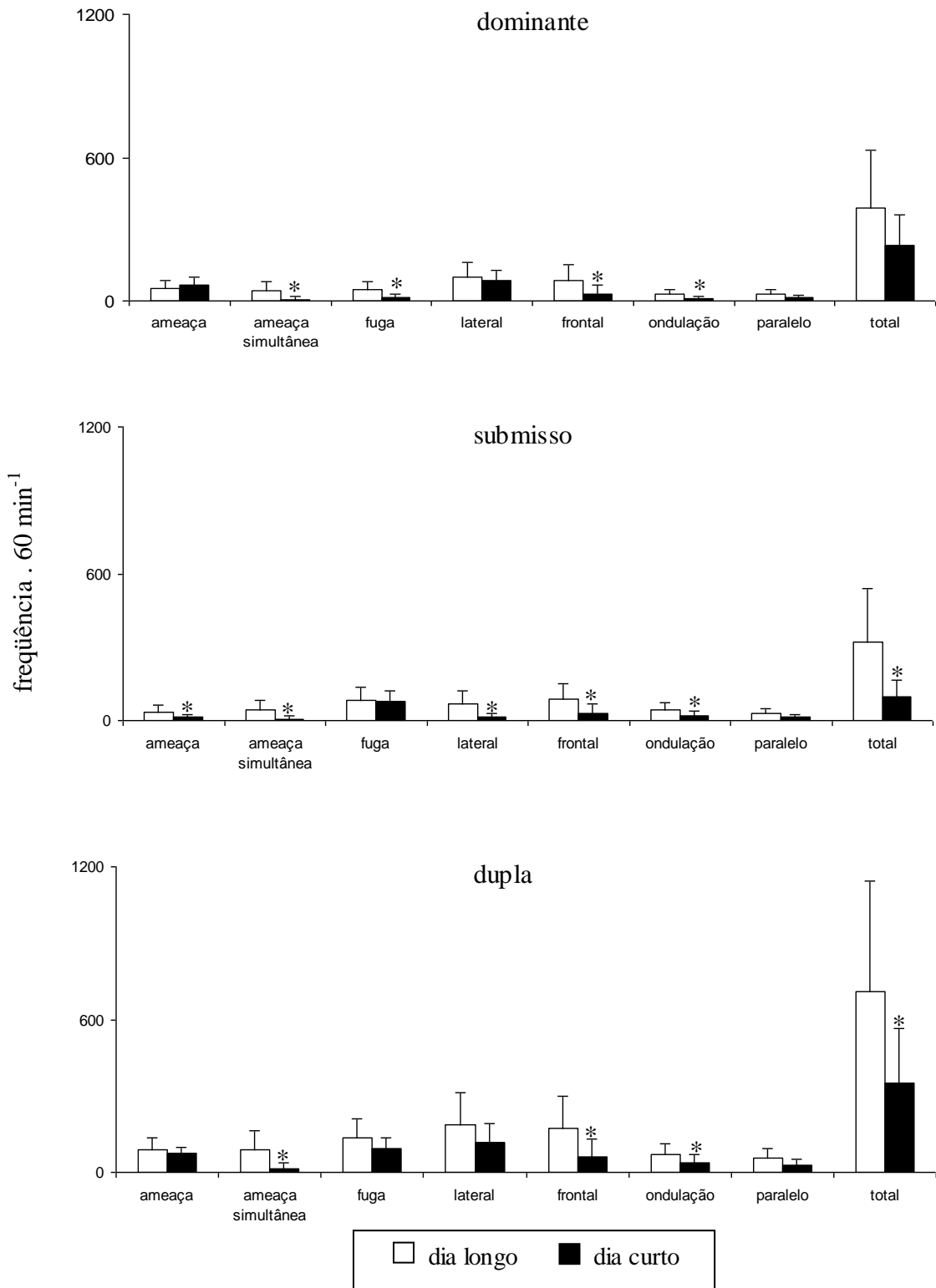


Figura 2. Frequência dos itens agonísticos (média \pm desvio padrão) para o dominante, o submisso e a dupla nos dias longo (16L:08D) e curto (08L:16D). Asterisco indica diferença estatística significativa (teste t independente, $p < 0,04$).

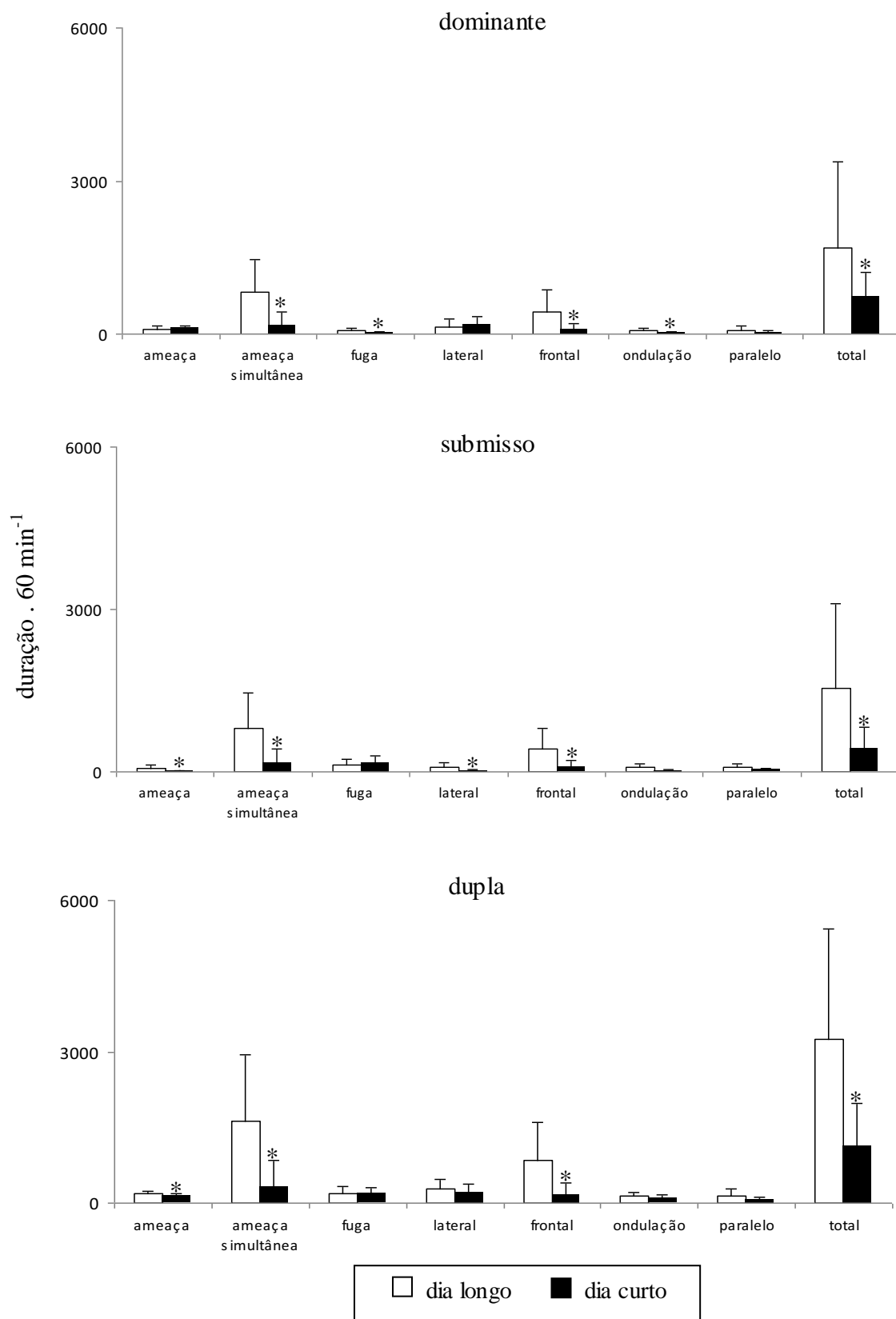


Figura 3. Duração dos itens agonísticos (média \pm desvio padrão) para o dominante, o submisso e a dupla nos dias longo (16L:08D) e curto (08L:16D). Asterisco indica diferença estatística significativa (teste t independente, $p < 0,04$).

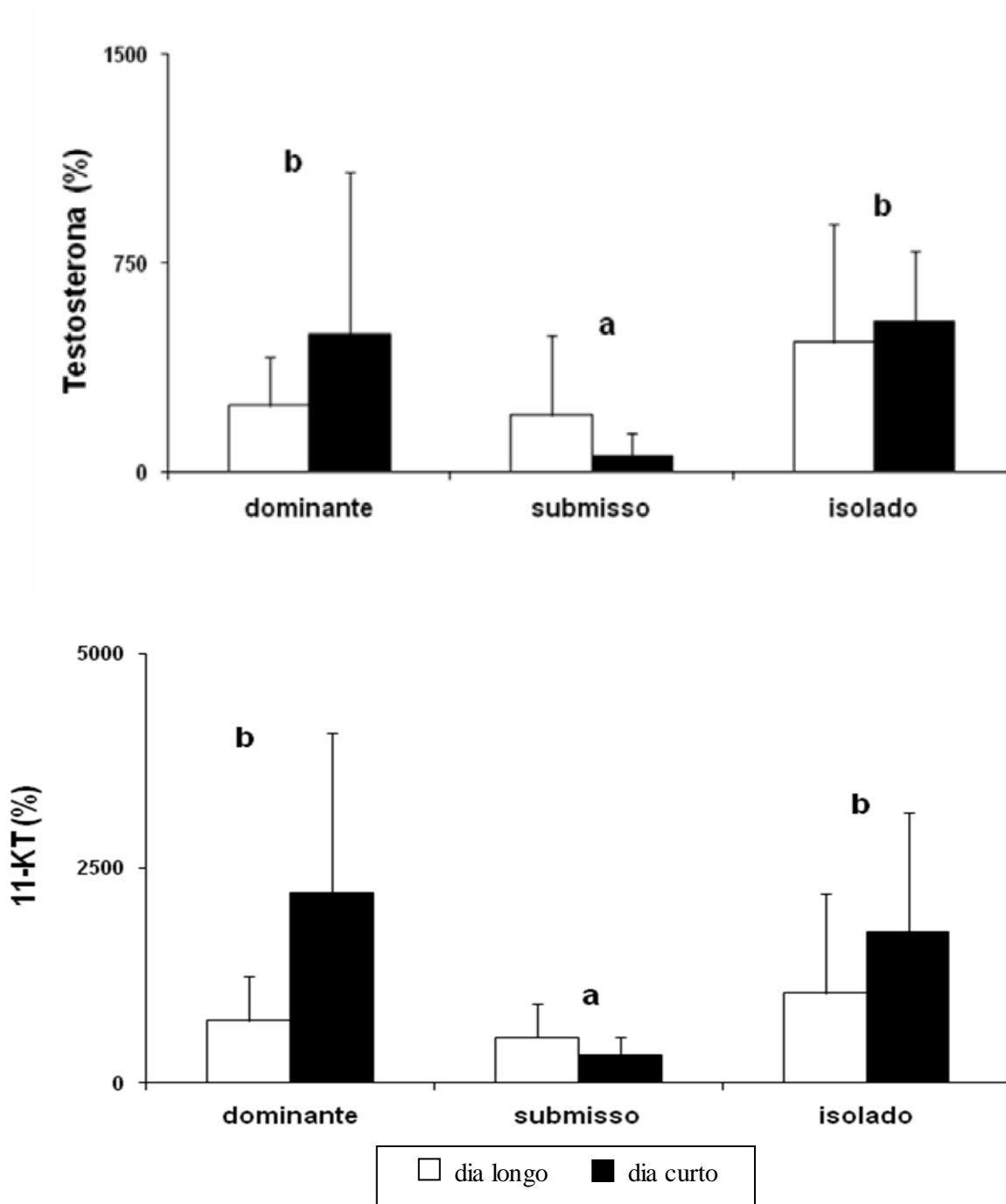


Figura 4. Porcentagem de aumento (média \pm desvio padrão) dos níveis plasmáticos de testosterona e 11-cetotestosterona (11-KT) nos dois fotoperíodos para o dominante (dia longo: n=13; dia curto: n=10), o submisso (dia longo: n=13; dia curto: n=10) e o isolado (dia longo: n=13; dia curto: n=8). Letras indicam diferença estatística significativa entre as posições sociais independente do fotoperíodo (ANOVA de duas vias, $p < 0,04$).

DISCUSSÃO

O maior período de luz aumenta o comportamento agressivo em machos de *Tilapia rendalli* e essa resposta não depende da posição social. Por outro lado, os níveis plasmáticos de esteróides sexuais são mediados pelo contexto social, mas não pelo fotoperíodo.

A latência para os confrontos não foi influenciada pelo fotoperíodo, indicando que essa condição ambiental não interfere na motivação agressiva da *T. rendalli*. Entretanto, a duração da interação, considerando o período entre o início dos confrontos até a definição da hierarquia social, aumentou no maior período de luz. Dessa forma, o comprimento do dia não afeta o início dos confrontos, mas influencia a motivação dos animais para permanecer interagindo com o coespecífico.

O comportamento agressivo do dominante, submisso e dupla foi estimulado pelo maior período de luz. Esses resultados foram similares aos encontrados para uma espécie de hábito noturno, *Clarias gariepinus* (Britz & Pienaar, 1992; Almazán-Rueda *et al.*, 2004; Almazán-Rueda *et al.*, 2005). A semelhante resposta observada para o dominante e o submisso indica que a posição social não influencia a relação entre luminosidade e agressividade em *T. rendalli*. Esse efeito é diferente do observado para fêmeas adultas da mesma espécie submetidas a diferentes níveis de intensidade luminosa (experimento II). Nesse caso, a maior luminosidade diminuiu a interação agonística e a posição social modulou esse efeito. Assim, as diferentes respostas obtidas para a *T. rendalli* podem ser atribuídas a variações inter-sexuais, mas também podem indicar que a característica da luminosidade (quantidade ou periodicidade) pode desencadear respostas diferentes sobre a agressividade.

Os valores médios de testosterona e 11-KT obtidos foram semelhantes aos descritos para outras espécies de peixes (Ros *et al.*, 2003; Shimizu, 2003). Além disso, o tempo de manipulação dos animais (anestesia e coleta de sangue) não afetou os níveis hormonais, indicando que o procedimento foi adequado.

De acordo com Pankhurst & Porter (2003) e Bradshaw & Holzapfel (2007), o fotoperíodo atua como um sincronizador do ciclo reprodutivo em vertebrados. Dessa forma, esperava-se maior nível de andrógenos no dia longo que, conseqüentemente, poderia ter modulado o aumento da interação agonística observado no maior fotoperíodo. De fato, hormônios reprodutivos podem aumentar a frequência do comportamento agonístico em teleósteos (Fernald, 1976; Billy & Liley, 1985; Ros *et al.*, 2004). No entanto, não foram observadas diferenças nos níveis plasmáticos de testosterona e 11-KT entre os fotoperíodos para a *T. rendalli*. Essa resposta pode ser explicada, pois em peixes tropicais (como a espécie

estudada) a temperatura, e não o fotoperíodo, é considerada o principal fator responsável pela regulação da reprodução (Pankhurst & Porter, 2003; Bradshaw & Holzapfel, 2007).

Embora os hormônios não tenham sido influenciados pelo fotoperíodo, o contexto social afeta os níveis de esteróides sexuais nos machos de *T. rendalli*. De fato, os andrógenos podem ser modulados pela interação entre coespecíficos (para revisão ver Hirschenhauser & Oliveira, 2006). Neste estudo, foi observado maior nível de testosterona e 11-KT no macho dominante em relação ao submisso. Isso está de acordo com dados da literatura, onde ciclídeos dominantes apresentam maiores níveis de andrógenos circulantes que os submissos (Oliveira *et al.*, 1996; Oliveira & Canário, 2000; Parikh *et al.*, 2006). As semelhanças encontradas entre o dominante e o isolado (controle) indicam que a interação social modula os andrógenos do submisso, diminuindo a liberação dos hormônios nesses animais.

A ausência de associação entre o comprimento do dia e os hormônios sugere que o efeito do fotoperíodo sobre a agressividade não foi mediado pelos andrógenos. Dessa forma, o maior comportamento agonístico observado no dia longo pode ser ocasionado pela variação na liberação de melatonina. Isso pode ser sugerido, pois o maior período de luz reduz a síntese de melatonina (Ekström & Meissl, 1997; Bayarri *et al.*, 2002) que, por sua vez, aumenta a agressividade em peixes (Munro, 1986). Além disso, menores níveis de melatonina estimulam a produção de gonadotrofinas (Sebert *et al.*, 2008) que podem aumentar a frequência de encontros agressivos em teleósteos (Blum & Fiedler, 1965; Kramer *et al.*, 1969). Além desses, o hormônio do crescimento aumenta a agressividade (Jönsson *et al.*, 1998; Hallerman *et al.*, 2007) e sua liberação também pode ser acentuada em maior período de luz (Petit *et al.*, 2003; Handeland *et al.*, 2003).

Em conclusão, observa-se que o fotoperíodo interfere na interação social, mas não modula os níveis de andrógenos em machos de *T. rendalli*. Além disso, embora a posição social interfira nos níveis hormonais, os efeitos recíprocos entre a agressividade e os esteróides sexuais não são evidentes.

REFERÊNCIAS

- Afonso, L.O.B. & Lebouté, E.M. (1993). Métodos para sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Anais do IV Encontro Rio-Grandense de Técnicos em Aquicultura*, 100-103.
- Almazán-Rueda, P.; Schrama, J.W. & Verreth, J.A.J. (2004). Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 347-359.
- Almazán-Rueda, P.; Van-Helmond, A.T.M.; Verreth, J.A.J. & Schrama, J.W. (2005). Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039.
- Amano, M.; Iigo, M.; Ikuta, K.; Kitamura, S.; Okazawa, K.; Yamada, H. & Yamamori, K. (2004). Disturbance of plasma melatonin profile by high dose melatonin administration inhibits testicular maturation of precocious male masu salmon. *Zoological Science*, 21: 79-85.
- Appelbaum, S. & Mcbeer, J.C. (1998). Effect of diet and light regime on growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus*) larvae and early juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 4: 157-164.
- Baerends, G.P. & Baerends Van Roon, J. (1950). An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behaviour Supplement*, 1: 1-242.
- Barreto (2002). Estressor social facilita estresse na tilápia-do-Nilo? Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 38p.
- Bayarri, M.J.; Madrid, J.A. & Sánchez-Vázquez, F.J. (2002). Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32: 34-40.
- Becker, J.B.; Breedlove, S.M. & Crews, D. (1993). Behavioral Endocrinology. Massachusetts Institute of Technology, 574p.
- Billy, A.J. & Liley, N.R. (1985). The effects of early and late androgen treatments on the behavior of *Sarotherodon mossambicus* (Pisces: Cichlidae). *Hormones and Behavior*, 19: 311-330.
- Biswas, A.K.; Endo, M. & Takeuchi, T. (2002). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*: Part I. *Fisheries Science*, 68: 465-477.

- Biswas, A.K. & Takeuchi, T. (2002). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of fed and unfed adult *Oreochromis niloticus*: Part II. *Fisheries Science*, 68: 543-553.
- Biswas, A.K.; Morita, T.; Yoshizaki, G.; Maita, M. & Takeuchi, T. (2005). Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* by photoperiod manipulation. *Aquaculture*, 243: 229-239.
- Biswas, A.K.; Seoka, M.; Tanaka, Y.; Takii, K. & Kumai, H. (2006). Effect of photoperiod manipulation on the growth performance and stress response of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 258: 350-356.
- Blum, V. & Fiedler, K. (1965). Hormonal control of reproductive behavior in some cichlid fish. *General and Comparative Endocrinology*, 5: 186-196.
- Boeuf, G. & Le Bail, P.Y. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129-152.
- Borg, B. & Ekström, P. (1981). Gonadal effects of melatonin in the 3-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L during different seasons and photoperiods. *Reproduction Nutrition Development*, 21: 919-927.
- Bradshaw, W.E. & Holzapfel, C.M. (2007). Evolution of animal photoperiodism. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 38:1-25.
- Britz, P.J. & Pienaar, A.G. (1992). Laboratory experiments on the effect of light and cover on the behaviour and growth of African catfish, *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae). *Journal of Zoology*, 227: 43-62.
- Castro, J.J. & Caballero, C. (2004). Effect of the light intensity upon the agonistic behaviour of juvenile of white-seabream (*Diplodus sargus cadenati* de La Paz, Bauchot and Daget, 1974). *Aggressive Behavior*, 30: 313-318.
- Desjardins, J.K.; Hazelden, M.R.; Van der Kraak, G.J. & Balshine, S. (2005). Male and female cooperatively breeding fish provide support for the “challenge hypothesis”. *Behavioral Ecology*, 17: 149-154.
- Ekström, P. & Meissl, H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Review in Fish and Fisheries*, 7: 199-284.
- Falcon, J. & Collin, J.P. (1989). Photoreceptors in the pineal of lower vertebrates: functional aspects. *Experientia*, 45: 909-913.
- Falter, U. (1983). Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l’incubation buccale. *Bulletin de la Classe des Sciences*, 69: 566-593.

- Fernald, R.D. (1976). The effect of testosterone on the behavior and coloration of adult male cichlid fish, *Haplochromis burtoni*. *Hormone Research*, 7: 172-178.
- Figler, M.H. & Einhorn, D.M. (1983). The territorial prior residence effect in convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum* Günther): temporal aspects of establishment and retention, and proximate mechanisms. *Behaviour*, 85: 157-183.
- Francis, R.C.; Jacobson, B.; Wingfield, J.C. & Fernald, R.D. (1992). Castration lowers aggression but not social dominance in male *Haplochromis burtoni* (Cichlidae). *Ethology*, 90: 247-255.
- Garcia, M.R. (2003). Interação agonística e estresse social em *Astronotus ocellatus* e *Tilapia rendalli* (Teleostei, Cichlidae). Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, SP. 36p.
- Hallerman, E.M.; McLean, E. & Fleming, I.A. (2007). Effects of growth hormone transgenes on the behavior and welfare of aquacultured fishes: A review identifying research needs. *Applied Animal Behaviour Science*, 104: 265-294.
- Handeland, S.O.; Porter, M.; Bjornsson, B.T. & Stefansson, S.O. (2003). Osmoregulation and growth in a wild and a selected strain of Atlantic salmon smolts on two photoperiod regimes. *Aquaculture*, 222: 29-43.
- Hirschenhauser, K.; Taborsky, M.; Oliveira, T.; Canario, A.V.M. & Oliveira, R.F. (2004). A test of the “challenge hypothesis” in cichlid fish: simulated partner and territory intruder experiments. *Animal Behaviour*, 68: 741-750.
- Hirschenhauser, K. & Oliveira, R.F. (2006). Social modulation of androgens in male vertebrates meta-analyses of the challenge hypothesis. *Animal Behaviour*, 71: 265-277.
- Hoglund, E.; Bakke, M.J.; Øverli, Ø; Winberg, S.; Nilsson, G.E. (2005). Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. *Aquaculture*, 249: 525-531.
- Huntingford, F. & Turner, A. (1987). *Animal Conflict*. Chapman and Hall, New York, 448p.
- Imsland, A.K.; Foss, A.; Stefansson, S.O.; Mayer, I.; Norberg, B.; Roth, B. & Jenssen, M.D. (2006). Growth, feed conversion efficiency and growth heterogeneity in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at three different photoperiods. *Aquaculture Research*, 37: 1099-1106.
- Iwama, G.K.; McGeer, J.C. & Pawluk, M.P. (1989). The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology*, 67: 2065-2073.

- Jönsson, E.; Johnsson, J.I. & Björnsson, B.T. (1998). Growth hormone increases aggressive behavior in juvenile rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 33: 9-15.
- Kime, D.E. & Manning, N.J. (1982). Seasonal patterns of free and conjugated androgens in the brown trout *Salmo trutta*. *General and Comparative Endocrinology*, 48: 222-231.
- Kramer, B.; Molenda, W. & Fiedler, K. (1969). Behavioural effect of the antiandrogen cyproterone acetate (Schering) in *Tilapia mossambica* and *Lepomis gibbosus*. *General and Comparative Endocrinology*, 13:515.
- Munro, A.D. & Pitcher, T.J. (1985). Steroids hormones and agonistic behavior in a cichlid teleost, *Aequidens pulcher*. *Hormones and Behavior*, 19: 353-371.
- Munro, A.D. (1986). Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *Journal of Pineal Research*, 3: 257-262.
- Nayak, P.K. & Singh, T.P. (1987). Effect of melatonin and 5-methoxytryptamine on sex steroids and thyroid hormones during the prespawning phase of the annual reproductive cycle in the freshwater teleost, *Clarias batrachus*. *Journal of Pineal Research*, 4: 377-386.
- Oliveira, R.F.; Almada, V.C. & Canario, A.V.M. (1996). Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Hormones and Behavior*, 30:2-12.
- Oliveira, R.F. & Canário, A.V.M. (2000). Hormones and social behavior of cichlid fishes: a case study in the Mozambique tilapia. *Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences*, 9: 187-207.
- Oliveira, R.F.; Hirschenhauser, K.; Carneiro, L.A. & Canario, A.V.M. (2002). Social modulation of androgen levels in male teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 132: 203-215.
- Oliveira, R.F. & Gonçalves, D. M. Hormones and social behaviour of teleost fish. In: Magnhagen, C.; Braithwaite, V.A.; E. Forsgren, E. & Kapoor, B.G. (Eds.); Fish Behaviour. Science Publishers Inc., Enfield, N.H, *in press*.
- Olla, B.L.; Studholme, A.L.; Bejda, A.J.; Samet, C., Martin, A.D. (1978). Effect of temperature on activity and social behavior of the adult Tautog *Tautoga onitis* under laboratory conditions. *Marine Biology*, 45: 369-378.
- Pankhurst, N.W. & Porter, M.J.R. (2003). Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28: 385-389.

- Parikh, V.N.; Clement, T.S. & Fernald, R.D. (2006). Androgen level and male social status in the African cichlid, *Astotilapia burtoni*. *Behavioural Brain Research*, 166: 291-295.
- Petit, G.; Beauchaud, M.; Attia, J. & Buisson, B. (2003). Food intake growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/dark cycle (12L:12D) or exposed to continuous light. *Aquaculture*, 228: 397-401.
- Rad, F.; Bozaoglu, S.; Gözükar, S.E.; Karahan, A. & Kurt, G. (2006). Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 255: 292-300.
- Reynalte-Tataje, D.; Luz, R.K.; Meurer, S.; Zaniboni-Filho, E. & Nuñez, A.P.O (2002). Influência do fotoperíodo no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Osteichthyes, Characidae). *Acta Scientiarum*, 24: 439-443.
- Ros, A.F.H.; Canario, A.V.M.; Couto, E.; Zeilstra, I. & Oliveira, R.F. (2003). Endocrine correlates of intra-specific variation in the mating system of the St. Peter's fish (*Sarotherodon galilaeus*). *Hormones and Behavior*, 44: 365-373.
- Ros, A.F.H.; Brintjes, F.; Santos, R.S.; Canário, A.V.M. & Oliveira, R.F. (2004). The role of androgens in the trade-off between territorial and parental behavior in the Azorean rock-pool blenny, *Parablennius parvicornis*. *Hormones and Behavior*, 46: 491-497.
- Scott, A.P.; Mackenzie, D.S. & Stacey, N.E. (1984). Endocrine changes during natural spawning in the white sucker, *Catostomus commersoni*. *General and Comparative Endocrinology*, 56: 349-359.
- Sebert, M.E.; Legros, C.; Weltzien, F.A.; Malpoux, B.; Chemineau, P. & Dufour, S. (2008). Melatonin activates brain dopaminergic systems in the eel with an inhibitory impact on reproductive function. *Journal of Neuroendocrinology*, 20: 917-929.
- Shimizu, A. (2003). Effect of photoperiod and temperature on gonadal activity and plasma steroid levels in a reared strain of the mummichog (*Fundulus heteroclitus*) during different phases of its annual reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 131: 310-324.
- Siegel, S. & Castellan Jr., N. (2006). Estatística Não-Paramétrica para Ciências do Comportamento. Artmed, Porto Alegre, 448p.
- Sneddon, L.U. & Yerbury, J. (2004). Differences in response to hypoxia in the three-spined stickleback from lotic and lentic localities: dominance and an anaerobic metabolite. *Journal of Fish Biology*, 64: 799-804.

- Stefánsson, M.O.; Fitzgerald, R.D. & Cross, T.F. (2002). Growth, feed utilization and growth heterogeneity in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Rafinesque) under different photoperiod regimes. *Aquaculture Research*, 33: 177-187.
- Volpato, G.L. & Barreto, R.E. (2001). Environmental blue light prevents stress in Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.
- Volpato, G.L. & Trajano, E. (2006). Biological Rhythms. In: Val, L.A.; Val, V.M.F.A. & Randall, D.J. (Org.); *Fish Physiology*. Elsevier & Academic Press, San Diego, p. 101-153.
- Weyl, O.L.F. & Hecht, T. (1998). The biology of *Tilapia rendalli* and *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) in a subtropical lake in Mozambique. *South African Journal of Zoology*, 33: 178-195.
- Winberg, S.; Overli, O. & Lepage, O. (2001). Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. *The Journal of Experimental Biology*, 204: 3867-3876.
- Wingfield, J.C.; Hegner, R.E.; Dufty, A.M.; & Ball, G.F. (1990). The “challenge hypothesis”: theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist*, 136: 829-846.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical Analyses*. Printice Hall, New Jersey.
- Zhdanova, I.V. & Reeb, S.G. (2006). Circadian Rhythms in Fish. In: Sloman, K.A.; Wilson, R.W. & Balshine, S. (Org.); *Behaviour and Physiology of Fish*. Academic Press, San Diego, p. 197-228.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foram testadas as hipóteses de que a luminosidade afeta as interações sociais, a estabilidade hierárquica, algumas variáveis indicadoras de estresse e os níveis de esteróides reprodutivos em ciclídeos. Para isso, foram realizados 4 experimentos que permitem as seguintes conclusões:

Experimento I: a maior intensidade luminosa interfere diferentemente na interação agonística, reduzindo em *O. niloticus*; aumentando em *P. scalare* e não afetando a de *G. proximus*. O mecanismo que modula as diferentes respostas pode estar associado aos padrões de agressividade de cada espécie.

Experimento II: a menor intensidade luminosa aumenta o comportamento agonístico e atua como um estressor em fêmeas de *T. rendalli*. No entanto, essa resposta estressora pode não funcionar como o mecanismo causador do efeito da luminosidade sobre a interação agonística.

Experimento III: a maior intensidade luminosa aumenta a agressividade, mas não afeta a estabilidade da hierarquia social e as variáveis indicadoras de estresse em machos de tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*).

Experimento IV: o maior fotoperíodo aumenta o comportamento social, mas não interfere nos níveis de andrógenos em machos de *T. rendalli*.

De modo geral, a luminosidade modula a agressividade em ciclídeos. Esse efeito é espécie-específico (experimento I) e pode ser dependente do contexto social (comparação experimento I e III para *O. niloticus*), das características da luminosidade (se intensidade luminosa ou fotoperíodo) e/ou do sexo do animal (comparação experimento II e IV). O efeito estressor da luminosidade também é dependente da espécie (comparação experimento II e III). Por outro lado, a estabilidade da hierarquia (experimento III) e os níveis de andrógenos (experimento IV) não são influenciados pela condição ambiental.

Apesar dos resultados indicarem o efeito da condição ambiental sobre a agressividade, os mecanismos moduladores dessa resposta não foram evidenciados. A situação estressora (experimento II e III) e os níveis de andrógenos (experimento IV), provavelmente, não são os reguladores das variações na interação agonística observadas em diferentes luminosidades. Assim, é possível que outros fatores modulem a relação entre a luminosidade e a agressividade, como por exemplo, a melatonina.

Em conclusão, sugere-se que a luminosidade desencadeia estratégias fisiológicas e comportamentais em peixes, sendo o tipo de estratégia e, provavelmente, seu mecanismo

modulador dependentes de fatores inter e intra-específicos. Isso mostra a importância de avaliar o efeito das condições ambientais em diferentes espécies de peixes, possibilitando uma melhor aplicação desse fator em sistemas de aquicultura ou fornecendo informações que evidenciem a necessidade da conservação do ambiente.