

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO TRIPTOFANO, DA FLUOXETINA E DA
PARACLOROFENILALANINA NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE MATRINXÃ**

Marcio Aquio Hoshiba

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Hoshiba, Márcio Aquio
H825i Influência do triptofano, da fluoxetina e da paraclorofenilalanina
no desenvolvimento inicial e na sobrevivência de larvas de matrinxã /
Marcio Aquio Hoshiba. – – Jaboticabal, 2011
xv, 110 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011
Orientador: Elisabeth Criscuolo Urbinati
Banca examinadora: José Augusto Senhorini, Antônio Fernando
Gervásio Leonardo, Leonardo Susumu Takahashi, Luciane Helene
Gargaglioni Batalhão
Bibliografia

1. Agressividade. 2. Serotonina. 3. Triptofano. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 639.3.03

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
– Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: INFLUÊNCIA DO TRIPTOFANO, DA FLUOXETINA E DA PARACLOROPENILANINA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE MATRINXÃ

AUTOR: MARCIO AQUIO HOSHIBA

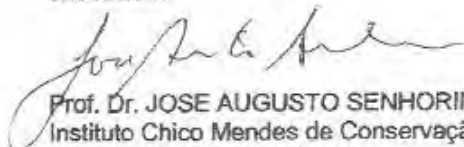
ORIENTADORA: Profa. Dra. ELISABETH CRISCUOLO URBINATI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:



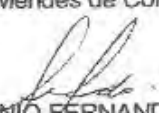
Profa. Dra. ELISABETH CRISCUOLO URBINATI

Departamento de Morfol e Fisiol Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



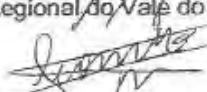
Prof. Dr. JOSE AUGUSTO SENHORINI

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade / Pirassununga/SP



Prof. Dr. ANTONIO FERNANDO GERVÁSIO LEONARDO

APTA Regional do Vale do Ribeira / Registro/SP



Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

UNESP / Campus Experimental de Dracena



Profa. Dra. LUCIANE HELENA GARGAGLIONI BATALHAO

Departamento de Morfol e Fisiol Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 26 de janeiro de 2011.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MARCIO AQUIO HOSHIBA – filho de Toshiyaki Hoshiba e Neusa Satiko Hoshiba, nasceu em 14 de outubro de 1982, na cidade de São Paulo, estado de São Paulo. É Zootecnista formado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, em 31 de julho de 2004. Ingressou no Programa de pós-graduação em Zootecnia, na mesma universidade, em 01 março de 2005, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati. Em 22 de fevereiro de 2007, submeteu-se ao exame final de defesa de dissertação de mestrado intitulada “Enriquecimento da alimentação das larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) com aminoácidos. Influência no crescimento inicial e sobrevivência”, obtendo o título de Mestre em Zootecnia. Em 01 de março de 2007 iniciou o doutorado no mesmo programa de pós-graduação, também sob orientação da Prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati. No dia 26 de janeiro de 2011, submeteu-se ao exame final de defesa de tese de doutorado intitulada “Influência do triptofano, da fluoxetina e da paraclorofenilalanina no desenvolvimento inicial e na sobrevivência de larvas de matrinxã”, para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

"A vida me ensinou...
 A dizer adeus às pessoas que amo, sem tirá-las do meu coração;
 Sorrir às pessoas que não gostam de mim,
 Para mostrá-las que sou diferente do que elas pensam;
 Fazer de conta que tudo está bem quando isso não é verdade, para que eu possa acreditar que
 tudo vai mudar;
 Calar-me para ouvir; aprender com meus erros.
 Final eu posso ser sempre melhor.
 A lutar contra as injustiças; sorrir quando o que mais desejo é gritar todas as minhas dores
 para o mundo.
 A ser forte quando os que amo estão com problemas;
 Ser carinhoso com todos que precisam do meu carinho;
 Ouvir a todos que só precisam desabafar;
 Amar aos que me machucam ou querem fazer de mim depósito de suas frustrações e
 desafetos;
 Perdoar incondicionalmente, pois já precisei desse perdão;
 Amar incondicionalmente, pois também preciso desse amor;
 A alegrar a quem precisa;
 A pedir perdão;
 A sonhar acordado;
 A acordar para a realidade (sempre que fosse necessário);
 A aproveitar cada instante de felicidade;
 A chorar de saudade sem vergonha de demonstrar;
 Me ensinou a ter olhos para "ver e ouvir estrelas",
 embora nem sempre consiga entendê-las;
 A ver o encanto do pôr-do-sol;
 A sentir a dor do adeus e do que se acaba, sempre lutando para preservar tudo o que é
 importante para a felicidade do meu ser;
 A abrir minhas janelas para o amor;
 A não temer o futuro;
 Me ensinou e está me ensinando a aproveitar o presente,
 como um presente que da vida recebi, e usá-lo como um diamante que eu mesmo tenha que
 lapidar, lhe dando forma da maneira que eu escolher."

(Charles Chaplin)

Ofereço

Aos meus pais, Neusa Satiko Hoshiba e Toshiyaki Hoshiba, e meus avôs e avós, Miyake e Hoshiba (in memoriam...) por terem proporcionado meu crescimento, amadurecimento e minha educação, e sempre me aconselharem com suas histórias de vida e experiência adquirida durante esses anos...

A vocês devo a vida, devo tudo que tenho e que sou, pois a presença e os ensinamentos que recebi, permitiram ser hoje quem eu sou, e conseguir mais essa conquista em minha vida. Sem o trabalho, e o sofrimento de vocês nada disso seria possível.

A cada dia reconheço mais o quanto a família representa a base de tudo na vida. E isso, com muito orgulho, posso dizer que a nossa base e o nosso amor são infinitos.

Amo vocês e muito obrigado.

Dedico

Às minhas queridas irmãs e cunhados, Eliana e Sergio, Raquel e Carlos e Cláudia e Fábio. Deus me iluminou e abençoou ainda mais por ter me dado vocês como irmãs. Agradeço pelo suporte, amor, compreensão durante todos esses anos. Sem a ajuda e o carinho de vocês, essa conquista não seria possível. Vocês podem comemorar, pois esse título é nosso. Obrigado por serem tão especiais e darem sempre o valor que nossa família merece. Vocês são demais!

A minha esposa Monyka que foi a grande responsável por essa conquista. Ela que sempre me incentivou, e me ajudou nas horas difíceis. Sempre que começava a fraquejar e a perder as esperanças, ouvia as palavras sábias de incentivo e recebia a ajuda necessária para seguir em frente.

Nos momentos de surto e devaneios causados pelo "doutorado" ela soube compreender, me entender e incentivar.

Sem ela, nada disso seria possível.

Minha eterna gratidão. Te amo!

Dedico

À minha segunda família, também dedico esta tese.

Agradeço ao meu sogro e sogra (Sergio e Maria), que sempre me deram sábios conselhos e sempre estão torcendo por mim, e minhas cunhadas e cunhados (Michelli e Bruno e Marcella e Marco) e a sobrinha Bianca, pela convivência, paciência e apoio durante todos esses anos. Em especial a Michelli e ao Bruno, que além do incentivo, foram nossa família no Amazonas, permitindo que a lacuna de estar longe de todos os outros familiares ficasse menor, fazendo com que esta dura caminhada ficasse mais leve e suportável com seus incentivos nas horas difíceis, e comemorações nas conquistas.

Quanto maior a família e o apoio, mais forte seremos...Obrigado!

Agradecimentos

À Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização da pós-graduação em Zootecnia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas (FAPEAM) pela concessão da bolsa de estudos

À professora Elisabeth Criscuolo Urbinati, minha mãe científica, aquela que mais que qualquer um, acreditou em mim, aceitando me orientar. Aquela com quem convivi durante 10 anos, e a principal responsável pelo meu crescimento e amadurecimento científico. Além do papel de orientadora, também exerceu o papel de mãe, dando todo apoio que precisei para continuar nessa luta. Ela que soube a hora de incentivar, elogiar, “puxar a orelha” e dizer não. Essa tese não seria possível sem a sua confiança e seu apoio. Agradeço você ter me orientado e apoiado, mesmo eu estando bem distante... no Amazonas... e sei de todo trabalho extra que isso lhe proporcionou... Meu eterno respeito, admiração e gratidão.

Aos meus amigos do departamento de Fisiologia, Roquinho, Jaqueline, Leonardo, Luciana Nakagi, Gustavo, Fábio, Marcos, Gimbo, Carla, Mônica. Que compartilharam os momentos de alegria, tristeza, trabalho, descanso, brigas, paz... junto formamos uma equipe na qual o trabalho sempre foi prazeroso. Obrigado pela convivência, ajuda e pelo apoio que vocês sempre me proporcionaram. Em especial, gostaria de agradecer a Carla, que compartilhou comigo os momentos de maior dificuldade da tese, e mais que isso, se tornou uma irmã, que tive o prazer de conhecer, trabalhar e a que tenho um carinho muito especial..Sucesso.

Ao Bacarin, Sumô e Spinha pelas grandes jornadas de aventura e trabalho no Cepta, histórias inesquecíveis que só conheceu quem estava lá... rsrs... Sem vocês os experimentos não teriam sido possíveis.

A grande amiga, a “colega” Damares por me “adotar” em sua vida, me fazer rir, chorar e me socorrer nos momentos difíceis... Aquela que sempre está presente, ajudando em tudo o

que precisarmos, nunca diz não, mesmo tendo que se sacrificar para nos ajudar... é a pessoa em que podemos nos apoiar e contar com sua ajuda sempre... uma lenda viva... Ao Wilson, Bel, Cridão, Clara, Shirley, Sr. Orandir, pela amizade e pelo carinho que vocês sempre tiveram por mim... Que essa amizade com todos vocês nunca se acabe...!

Aos membros da banca, a Profa. Dra. Luciane que sempre me ajudou durante o desenvolver da tese, foi a grande incentivadora e aquela que nos permitiu conhecer um pouco mais sobre a serotonina... rsrs... Sempre estava a disposta a nos ensinar e explicar as técnicas e metodologias que até então não faziam parte da nossa rotina. Ela que nos deu suporte e auxiliou com a sua estrutura para que realizássemos algumas análises... Uma pessoa maravilhosa... minha eterna gratidão e respeito. Ao Dr. Senhorini, meu pai científico, aquele que no início soube me incentivar e me mostrou que o nosso conhecimento teórico deve estar associado ao conhecimento prático. O principal responsável pela execução de todos os experimentos, a ele minha admiração! Tento seguir seu exemplo de simplicidade, humildade e experiência, tendo-o como referência na minha vida acadêmica. O convívio com você no Cepta foi excepcional, obrigado pela forma como nos recebeu, sempre fazendo de tudo para nos sentirmos em casa, e pelo rodízio de peixe... rsrsrs....

Aos grandes amigos Leonardo Takahashi, e Leonardo Bacarin, que tive a sorte de ter trabalhado, considero meus irmãos mais "velhos" e levo o exemplo de vocês para a minha vida. Sempre me ajudaram, em todos os momentos da minha vida, compartilharam tanto as conquistas como as derrotas. Me deram apoio, me ensinaram, e estavam sempre prontos a ajudar no que fosse preciso.

Aos meus amigos de república Erico, Bruno (Faiço), Mel que são minha família em Jaboticabal, amigos que o tempo jamais vai afastar. Só vocês sabem o tanto que sofremos, aprendemos, vivemos, e rimos durante todos esses anos de convivência. Obrigado pelo apoio e por terem me aturado nas fases difíceis da vida. Vocês permitiram que a vida em Jaboticabal fosse muito melhor do que ela era. Crescemos e amadurecemos juntos, errando e

aprendendo. Muito obrigado, poder compartilhar a moradia com um primo e um amigo desde a graduação não é sorte de todos. Vocês são e sempre serão parte da minha família. (Agradeço também a família do Faiado (Eca, Carlão, Mariana e Gustavo) que sempre torceram pelo meu sucesso...

A todos os meus amigos e minhas amigas da graduação, em especial Janaína, Taissa (Potira), e Marcel, que mostraram que o tempo não separa as grandes amizades... Meu grande respeito e carinho à vocês...!

Aos amigos do Caunesp e do Depto de Morfologia e Fisiologia Animal.

Aos amigos do Depto de Melhoramento Genético Animal, pela amizade e companheirismo de vocês.

Aos amigos do CEPTA Pirassununga pelo apoio, amizade, consideração que vocês tiveram comigo durante a minha passagem por ai... Um agradecimento especial ao Sandoval, Gordo, João Caetano, Rita e ao Ivan (Pacotão), que são pessoas a que tenho uma grande admiração.

Aos amigos da UFAM/Parintins, que sempre me apoiaram e incentivaram desde o início, e que permitiram que essa tese fosse concluída. Aos alunos pela compreensão nos momentos difíceis em que a tese necessitava de toda atenção. Em especial, aos meus orientados Kaila, Alfredo, Ronner e Jozinaldo pelos momentos em que estive ausente na orientação de vocês... e pela paciência e dedicação...

A todos aqueles que os nomes não estão aqui, mas foram fundamentais para a realização deste trabalho... Meu muitíssimo obrigado!

E por fim, às minhas fiéis escudeiras Paula, Cubana (*in memoriam*) e Lilica por terem me acompanhado e me protegido durante muitos anos da minha vida, estando sempre ao meu lado para me fazer companhia, me transmitindo muito carinho e alegria.

À Deus, o criador e responsável por tudo e todos.....

SUMÁRIO

RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DO TRIPTOFANO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA LARVAL DE MATRINXÃ SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS	18
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DA FLUOXETINA E DO PARACLOROFENILALANINA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA LARVAL DE MATRINXÃS SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS	49
INTRODUÇÃO	51
MATERIAL E MÉTODOS	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
CAPÍTULO 4 – DISTRIBUIÇÃO DE NEURÔNIOS SEROTONINÉRGICOS IMUNORREATIVOS (5-HT_{ir}) EM LARVAS DE MATRINXÃ	86
INTRODUÇÃO	87
MATERIAL E MÉTODOS	89
RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107

TÍTULO - INFLUÊNCIA DO TRIPTOFANO, DA FLUOXETINA E DA PARACLOROFENILALANINA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE MATRINXÃ.

RESUMO - Como estratégia para diminuir o alto índice de canibalismo na larvicultura do matrinxã, o uso do aminoácido essencial triptofano (Trp) parece promissor. O aminoácido é o precursor do neurotransmissor mono-amínico serotonina (5-hidroxi-triptamina, 5-HT) e sua taxa de biossíntese no encéfalo são limitadas pela disponibilidade desse aminoácido, que parece ser uma das principais limitações para a síntese de 5-HT. A ingestão aumentada de triptofano eleva o nível do aminoácido no encéfalo, resultando em biossíntese aumentada de 5-HT no encéfalo de peixes. Esse por sua vez, é um neurotransmissor que media uma ampla variedade de comportamentos (agressão, medo e estresse em várias espécies, assim como na relação das interações sociais em muitos animais) por ação no sistema nervoso central e periférico. Assim, o presente estudo utilizou um aminoácido promotor da serotonina (triptofano), um inibidor seletivo da recaptação do neurotransmissor (fluoxetina) e um inibidor da síntese da serotonina (PCPA – paraclorofenilalanina), para verificar seu papel na mediação do comportamento agressivo e no desenvolvimento e sobrevivência larval de matrinxã no período de 1 a 12 dias após a eclosão. O triptofano foi fornecido juntamente com a ração, já a fluoxetina e a paraclorofenilalanina foram dissolvidos na água. Esse estudo foi realizado em duas condições de temperatura de cultivo, ou seja, com temperatura controlada em uma faixa de variação estreita (26-28°C) e com temperaturas variando de 19 a 31°C. Os resultados obtidos permitiram concluir que o uso do triptofano como suplemento na ração, pode ser uma alternativa viável na criação de matrinxã, pois aumentou o crescimento e a sobrevivência da prole, exceto na concentração mais alta (2,96g/100g ração). O uso de fluoxetina também aumentou a sobrevivência da prole, com redução do canibalismo, no entanto promoveu no maior tratamento (5000 ppb de fluoxetina/L), uma redução do crescimento. O estudo imunohistoquímico mostrou que o sistema serotoninérgico já está desenvolvido nas larvas de matrinxã e se assemelha ao de indivíduos jovens, confirmando a atividade

deste sistema nas larvas estudadas. A instabilidade e variação da temperatura prejudicaram as respostas biológicas testadas neste estudo, sugerindo ser um estressor a mais para a homeostase das reações fisiológicas do animal. O uso do fármaco PCPA apresentou resultados que não permitiram demonstrar um padrão claro de respostas.

Palavras-chave: Agressividade, Fluoxetina, Paraclorofenilalanina, Serotonina, Triptofano.

TITLE - INFLUENCE OF TRYPTOPHAN, FLUOXETINE AND PARACLOROFENILALANINE IN THE EARLY DEVELOPMENT AND SURVIVAL OF MATRINXÃ LARVAE.

ABSTRACT – The use of tryptophan as a strategy to reduce cannibalism in matrinxã hatchery seems promising. This amino acid is a precursor of the neurotransmitter serotonin (5-hidroxy-triptamine, 5-HT) whose biosynthesis rate in brain is limited by the amino acid availability. The increased intake of tryptophan by brain elevates the amino acid concentration in tissue resulting in higher serotonin production in fish. Serotonin is involved in the control of several types of behavior (aggression, fear, stress and social interaction in many animals) through effect in central and peripheral nervous systems. The present study evaluated the effect of a serotonin synthesis promoter (tryptophan), a selective inhibitor of serotonin reuptake (fluoxetine) and a selective inhibitor of serotonin synthesis (PCPA – paraclorofenilalanine) on the control of the aggressive behavior and on early development of matrinxã up to 12 days after hatching. Tryptophan was offered in the diet, and fluoxetine and PCPA in immersion solutions. The study was performed in two rearing temperatures, controlled temperature (26-28 °C) and natural temperature without control (19 a 31 °C). The results showed that tryptophan might be an alternative in matrinxã rearing since it promoted growth and enhanced survival of progeny, except in the highest concentration tested (2.96g/100g diet). Fluoxetine also enhanced larvae survival, with cannibalism reduction. The highest concentration (5000 ppb fluoxetine/L) reduced growth. The immunohistochemistry showed that the serotoninergic system is already developed in larvae and is similar to that of the juvenile fish of the same species. The temperature variation affected negatively the biological responses tested in this study, suggesting to be a stressor for fish. The PCPA did not show responses that could demonstrate a biological pattern.

Keywords: Agressiveness, Fluoxetine, Paraclorofenilalanine, Serotonin, Tryptophan

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Várias espécies de peixes nativos brasileiros têm despertado interesse para produção, por seu alto potencial zootécnico, destacando-se as do gênero *Brycon*, especialmente o *Brycon amazonicus*, conhecido como matrinxã. Essa espécie se destaca por apresentar um crescimento rápido, adaptar-se facilmente à ração artificial, pelo comportamento agressivo na pesca esportiva, além de apresentar carne de alta qualidade (WOYNAROVICH & HORVATH, 1983; CASTAGNOLLI, 1992). Entretanto, sua criação em sistemas controlados ainda apresenta problemas, como a alta incidência de canibalismo na fase inicial, que resulta em baixa sobrevivência na fase larval (CECCARELLI, 1997). Dentro desse contexto, pesquisas têm sido desenvolvidas buscando soluções para aperfeiçoar a fase da larvicultura, destacando-se o uso de hormônios tireoidianos e aminoácidos precursores destes hormônios na fase inicial de vida dos peixes (SOARES et al., 2003; URBINATI et al., 2003; HOSHIBA, 2007; URBINATI et al., 2008; LANDINES et al., 2010). No matrinxã, o sistema endócrino já se apresenta funcional no final do desenvolvimento embrionário (GANECO, 2007) e desempenha um importante papel no desenvolvimento e crescimento das larvas, assim como demonstrado em outras espécies (INUI et al., 1995; GAVLIK et al., 2002).

Em *Brycons*, estudos têm sido realizados, enfocando o tipo de alimento, o desempenho e a sobrevivência das larvas (BERNARDINO et al., 1993; LOPES et al., 1995; SENHORINI et al., 1998). Durante a fase inicial, recomenda-se a utilização de alimentos vivos e, de acordo com Kubitza et al. (2003), a alimentação com ração deverá ser iniciada somente quando as larvas atingirem 7 dias de idade, sendo essencial para o seu crescimento e desenvolvimento. Nos últimos anos, alguns aminoácidos vêm ganhando destaque na alimentação larval por sua relação com o controle do comportamento animal (WINBERG et al., 2001; LEPAGE et al., 2003; AHMED e KHAN, 2005). Dentre esses aminoácidos, destaca-se o triptofano como potencial mediador do comportamento animal e redutor do canibalismo e da agressividade na larvicultura (HOSHIBA, 2007). Esse aminoácido é precursor da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), um neurotransmissor que media uma ampla variedade de comportamentos

(agressão, medo e estresse em várias espécies, assim como na relação das interações sociais em muitos animais) por ação no sistema nervoso central e periférico (FERRIS et al., 1997; WINBERG et al., 1997; LARSON e SUMMERS, 2001; LEPAGE et al., 2005).

A síntese da serotonina é dependente da disponibilidade do aminoácido precursor, e dessa forma o aumento nos níveis de triptofano no encéfalo pode resultar em biossíntese aumentada do neurotransmissor amplificando seus efeitos. Entretanto, a supressão do comportamento agressivo induzida pelo elevado nível de triptofano dietético pode também estar relacionada a mecanismos que envolvem o sistema de transportadores e receptores de serotonina. Algumas substâncias têm sido investigadas por interferirem nas vias de produção e atuação da serotonina, como, por exemplo, a utilização de alguns tipos de fármacos.

Fármacos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (SSRIs) (fluoxetina, paroxetina, sertralina, entre outros) vêm sendo muito utilizados na manipulação da transmissão serotoninérgica interferindo no comportamento agressivo e em interações de dominância entre os vertebrados (LYNN et al., 2007). Existem estudos que abordam desde a sua função em lagartos (LARSON e SUMMERS, 2001), até a sua utilização em humanos (BERMAN et al., 2009). De acordo com Perreault et al. (2003) e Lynn et al. (2007), a administração da fluoxetina pode levar a redução do comportamento agressivo em peixes adultos aumentando a latência para a perseguição e diminuindo a frequência das mesmas.

Por outro lado, para se entender o funcionamento do sistema serotoninérgico deve-se verificar também o uso de bloqueadores de síntese, como o fármaco paraclorofenilalanina (PCPA) que interfere na síntese de serotonina, inibindo a produção desse neurotransmissor e levando ao aumento da agressividade. Existem poucos estudos que avaliam a relação entre a serotonina e agressão em peixes, sendo que a maioria deles descreve somente a atividade da serotonina em indivíduos subordinados ou sob uma situação estressante (WINBERG et al., 1991; WINBERG et al., 1992; WINBERG et al., 1993; WINBERG et al., 1996; WINBERG et al., 1997). Dessa forma, destaca-se a importância de estudos que permitam o melhor entendimento do mecanismo de ação da serotonina para posterior aplicação na

produção de peixes. O conhecimento da mediação do comportamento agressivo permitirá utilizá-lo para a redução da agressividade na fase inicial da larvicultura de *Brycons*, levando a uma maior produtividade da espécie.

Associado ao estudo dos mecanismos de agressividade, um aspecto importante a ser investigado é o papel da temperatura no cultivo larval. A fase larval é considerada a mais sensível no ciclo de vida dos peixes teleósteos em relação aos estressores ambientais (BERLINSKY et al., 2004). A temperatura está entre os fatores mais críticos no início do desenvolvimento ontogenético do peixe (KAMLER, 2002; HART et al., 1996). A temperatura afeta praticamente todos os aspectos do desenvolvimento larval (FIELDER et al., 2005), incluindo absorção e utilização do saco vitelino (HARDY E LITVAK, 2004), instalação da primeira alimentação, crescimento (GRACIA-LÓPEZ et al., 2004; BERLINSKY et al., 2004), comportamento e natação (JOHNSTON E MATHIAS, 1994) e sobrevivência (BIDWELL E HOWELL, 2001; BERLINSKY et al., 2004).

Um problema comum, relatado pelos piscicultores nesta etapa do desenvolvimento dos peixes, é a variação da temperatura, que aumenta a mortalidade larval. De acordo com Kubitzka et al. (2003), choques térmicos superiores a 2°C já resultam em alta mortalidade de larvas, sendo este fato bastante comum em propriedades onde o sistema de abastecimento de água não possui controle de temperatura, o que resulta em perdas significativas no processo produtivo.

Assim, o presente estudo utilizou um aminoácido promotor da serotonina (triptofano), um inibidor seletivo da recaptação do neurotransmissor (fluoxetina) e um inibidor da síntese da serotonina (PCPA – Paraclorofenilalanina), para verificar seu papel na mediação do comportamento agressivo e no desenvolvimento e sobrevivência larval de matrinxã. Adicionalmente, os experimentos foram realizados em duas condições de temperatura de cultivo, ou seja, com temperatura controlada em uma faixa de variação estreita (26-28°C) e com temperaturas variando de 19 a 31°C. Os resultados desse estudo permitirão uma maior compreensão da influência da serotonina e da temperatura de cultivo nas respostas fisiológicas da vida larval e sua importância na criação de matrinxã.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O matrinxã (*Brycon amazonicus*) é uma espécie de peixe, que tem se destacado na piscicultura brasileira, chegando a ser um dos peixes mais consumidos em algumas regiões do país (LIMA, 2005). Esse destaque se deve às suas características zootécnicas que são muito apreciadas pelos piscicultores, como o rápido crescimento, fácil aceitação e adaptação à ração artificial, excelente qualidade organoléptica, além do fato de seu comportamento agressivo o tornar muito procurado em pesque pagues. O matrinxã é um peixe de escamas, que pode chegar a 5 kg de peso vivo e 80 cm de comprimento em ambiente natural. Possui hábito alimentar onívoro, alimentando-se de frutos, sementes e insetos. Dependendo da fase de desenvolvimento, pode ser encontrado em diversos habitats: na fase inicial, em lagos e na floresta alagada, e na época da cheia do rio, saem dos lagos e igarapés formando grandes cardumes (GOULDING, 1979). Por ser uma espécie reofílica, que realiza migração, o matrinxã em condições de criação artificial não se reproduz, pois não apresenta o estímulo necessário para que a ovogênese e a desova se completem. A reprodução desta espécie em ambiente de criação, no entanto, torna-se possível quando estimulada artificialmente por aplicação de hormônios (BERNARDINO et al., 1993; GOMES & URBINATI, 2010). Na região norte do país, principalmente na Amazônia, a criação do matrinxã vem crescendo rapidamente devido à grande apreciação local por sua carne. Atualmente, as principais espécies de peixes criadas no Amazonas são o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o matrinxã e o pirarucu (*Arapaima gigas*) (LIMA, 2005).

É importante ressaltar que esse gênero apresentava uma taxonomia que foi alterada. Em revisão, Lima (2003) relatou que a espécie conhecida como matrinxã, que ocorre na Amazônia brasileira, e é amplamente criada no Brasil, era citada como *Brycon cephalus*, quando é na verdade o *Brycon amazonicus* (SPIX & AGASSIZ, 1829). Segundo o autor, a distribuição de *B. cephalus* restringe-se ao alto rio Amazonas no Peru e Bolívia. Isto justifica a nomenclatura anterior em muitos estudos recentes com a espécie (GOMES et al., 2000; CARNEIRO & URBINATI, 2001, 2002; IDE et al., 2003; ROCHA et al., 2004; URBINATI et al., 2004).

O comportamento agressivo observado na fase adulta desta espécie que atrai muitos pescadores torna-se um problema na fase larval, pois, com a grande expansão da piscicultura, há uma crescente procura por larvas e juvenis. No entanto, a criação de peixes em sistemas controlados ainda enfrenta dificuldades que resultam em baixa sobrevivência na fase larval (CECCARELLI, 1997), aspecto fundamental para a criação.

A larvicultura de algumas espécies ainda é considerada uma das fases de maior dificuldade pelos piscicultores, pois devido ao pouco conhecimento ou aplicação inadequada das técnicas, e ao próprio comportamento agressivo dessa espécie, verifica-se baixa sobrevivência que prejudica a produção e sua viabilidade econômica. O sucesso da larvicultura envolve também uma grande variedade de fatores. Entre os fatores importantes no início do desenvolvimento larval estão àqueles relacionados à nutrição e manejo alimentar (SALLES, 1998; JOMORI, 2001; JOMORI et al., 2003; GUEVARA, 2003; LUZ, 2004), pois, é nesse momento que o produtor oferece à larva o seu alimento e conseqüentemente energia e nutrientes para que ela tenha condições para enfrentar as demandas fisiológicas e conseguir se desenvolver de forma adequada e saudável.

Outro fator importante a ser destacado é a temperatura da água que está entre os fatores mais críticos no início do desenvolvimento ontogenético do peixe (HART et al., 1996; KAMLER, 2002). A temperatura afeta praticamente todos os aspectos do desenvolvimento larval (FIELDER et al., 2005), incluindo absorção e utilização do saco vitelino (HARDY E LITVAK, 2004), início da primeira alimentação, crescimento (GRACIA-LÓPEZ et al., 2004; BERLINSKY et al., 2004), comportamento e natação (JOHNSTON E MATHIAS, 1994) e sobrevivência (BIDWELL E HOWELL, 2001; BERLINSKY et al., 2004). A determinação das condições ambientais ótimas na larvicultura pode contribuir para melhorar o crescimento larval, as taxas de sobrevivência e o custo da produção. O entendimento da zona de conforto da larva é essencial para se estabelecer um manejo adequado e maximizar a produção dos peixes.

Um fato que ocorre na fase inicial do ciclo de vida do matrinxã e que contribui para que este momento seja o mais crítico em relação à larvicultura da espécie é a alta

agressividade entre os indivíduos. A partir de 36 horas após a eclosão, a larva mostra um comportamento extremamente agressivo e predatório que resulta em altas taxas de canibalismo. Esse comportamento pode se agravar em condições de escassez de alimento, luminosidade inadequada, crescimento heterogêneo e altas densidades de estocagem (HECHT e PIENAAR, 1991; FOLKVORD e OTTERA, 1993; GOMES et al., 2000; GREAVES e TUENE, 2001; BRANNAS et al., 2002). A elevada agressividade das larvas prejudica o processo produtivo e alguns estudos mostram que a sobrevivência da espécie varia em torno de 10 a 15% (BERNARDINO et al., 1993). A baixa sobrevivência encarece e compromete a criação da espécie, ocasionando em baixa produtividade e rentabilidade.

Como estratégia para diminuir o alto índice de canibalismo na larvicultura do matrinxã, o uso do aminoácido essencial triptofano (Trp) parece promissor (HOSHIBA, 2007). O aminoácido é o precursor do neurotransmissor mono-amínico serotonina (5-hidroxi-triptamina, 5-HT) e sua taxa de biossíntese no encéfalo são limitadas pela disponibilidade desse aminoácido (BOADLE-BIBER, 1993), que parece ser uma das principais limitações para a síntese de 5-HT. A ingestão aumentada de triptofano eleva o nível do aminoácido no encéfalo, resultando em biossíntese aumentada de 5-HT no encéfalo de peixes (JOHNSTON et al., 1990; ALDEGUNDE et al., 1998; ALDEGUNDE et al., 2000; WINBERG et al., 2001; LEPAGE et al., 2002).

A participação da serotonina e sua influência na regulação das interações sociais podem ter implicações no controle do comportamento e atuar no sistema endócrino, como o eixo hipotálamo-pituitária-interrenal (HPI). Em vertebrados, a atividade serotoninérgica elevada diminui agressão e pode reverter relações de dominância em sistemas experimentais (SANCHEZ e HYTTEL, 1994; DECKEL, 1996; FERRIS et al., 1997; VILLALBA et al., 1997; LARSON e SUMMERS, 2001). Nos peixes, poucos trabalhos dão enfoque à relação da serotonina com a agressividade. Estudos com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) mostraram que a suplementação de dietas com triptofano (Trp) promoveu inibição do comportamento agressivo dos peixes, bem como reduziu a reatividade do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal como indicado por níveis pós-estresse reduzidos do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e cortisol (WINBERG

et al., 2001; LEPAGE et al., 2002; LEPAGE et al., 2003). Em outro estudo com a mesma espécie, a suplementação da ração com triptofano promoveu diminuição do número de ataques entre os peixes, reforçando a participação do triptofano na redução da agressividade dos peixes (LEPAGE et al., 2005). De modo semelhante, a suplementação da dieta com triptofano afetou o sistema central de sinalização serotoninérgica (5-HT) e reduziu o comportamento agressivo de juvenis de bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* (HÖGLUND et al., 2005). Resultados preliminares com larvas de matrinxã indicaram efeito do triptofano na redução do canibalismo da espécie durante a fase inicial de vida (HOSHIBA, 2007). Para um melhor entendimento desse sistema de mediação do comportamento agressivo ocasionado pelos níveis de serotonina no encéfalo, manipulações experimentais dos níveis serotoninérgicos começam a ser realizadas (LYNN et al., 2007). Estudos indicam uma relação com o envolvimento de mecanismo de transportadores e receptores da 5-HT com os efeitos antidepressivos de substâncias inibidoras de recaptção da 5-HT, tais como fluoxetina (MONGEAU et al., 1997; NUTT et al., 1999), sertralina e citalopram (SANCHEZ e HYTTEL, 1994), e/ou um inibidor da síntese de serotonina (paraclorofenilalanina) (ADAMS et al., 1996). A fluoxetina, um dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina, foi utilizada para aumentar experimentalmente a transmissão serotoninérgica em um peixe territorial e testar o papel desse neurotransmissor na mediação do comportamento agressivo e interações de dominância (PERREAUULT et al., 2003). Em *Melospiza melodia*, foi realizado um estudo de comportamento num laboratório de simulação de intrusos territoriais onde os animais que receberam fluoxetina apresentaram uma diminuição significativa do comportamento agressivo e territorial dos machos (SPERRY et al., 2003). Perreault et al. (2003) verificaram uma diminuição da freqüência e duração das perseguições promovidas pelo tratamento crônico e agudo com fluoxetina em *Thalassoma bifasciatum*. Já em *Betta splendens*, a fluoxetina reduziu a agressividade, sem afetar, entretanto, a latência para o primeiro ataque e o tempo de abertura do opérculo (LYNN et al., 2007). Gaworecki e Klaine (2008) realizaram um estudo, por meio da exposição de híbridos de “striped bass” (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*) à fluoxetina por um período de seis dias e verificaram

uma diminuição na capacidade de captura das presas, devido ao seu efeito na atividade serotoninérgica. Esses resultados se aplicados numa larvicultura comercial, na qual se deseja reduzir a agressividade e o canibalismo, se tornam muito promissores. No entanto, a utilização da fluoxetina deve ser realizada com cautela, pois a fluoxetina, dependendo da dosagem, pode vir a reduzir o ganho de peso devido a uma menor frequência alimentar. Mennigen et al. (2009) testaram a administração de fluoxetina em goldfish (*Carassius auratus*) e observaram redução significativa na ingestão de alimentos, bem como um decréscimo significativo do ganho de peso.

Por outro lado, alguns estudos foram realizados com o paraclorofenilalanina (PCPA), um inibidor da síntese de serotonina, no sentido de confirmar o seu efeito na mediação da ação serotoninérgica, com aumento da agressividade nos animais. Geller e Blum (1970) testaram o efeito do PCPA em embates de ratos e observaram que animais que receberam o fármaco aumentaram a quantidade de conflitos entre eles e ao receberem uma dosagem de 5-HT tiveram esse efeito suprimido. Os autores sugeriram que os efeitos ocasionados pelo PCPA foram devido aos baixos níveis de serotonina (5-HT). Adams et al. (1996) verificaram um aumento da agressividade em ciclídeos (*Cichlasoma meeki*) tratados com PCPA. Em outro estudo com peixes (*Micropogonias undulatus*), após injeção com PCPA, os níveis de serotonina no encéfalo foram significativamente suprimidos, sendo recuperados após um tempo (KHAN E THOMAS, 2001). Duffy-Whritenour e Zelikoff (2008), utilizando a fluoxetina e o paraclorofenilalanina, verificaram ainda uma ligação entre 5-HT e o sistema imunológico e demonstraram a utilidade do teleósteo *Lepomis macrochirus* como modelo para analisar a relação entre o sistema nervoso e a resposta imune a fim de garantir a saúde geral e bem estar dos peixes.

Assim, de acordo com a literatura, são necessários mais estudos sobre o efeito e a ação do aminoácido triptofano, a síntese de serotonina e os fármacos responsáveis pela sua mediação, como por exemplo, o efeito de um inibidor de sua síntese (PCPA) e um inibidor seletivo da recaptação do neurotransmissor (fluoxetina) nos mecanismos fisiológicos implicados no comportamento agressivo dos peixes, sendo possível, a partir dos resultados utilizar esse conhecimento na busca de respostas que minimizem os

entraves na larvicultura de espécies de peixes que possuem um comportamento agressivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. F.; LILEY, N. R.; GORZALKA, B. B. PCPA increases aggression in male firemouth cichlids. **Pharmacol.**, v.53, p.328–330, 1996.

AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquac. Res.**, v.36, p.685-697, 2005.

ALDEGUNDE, M.; GARCIA, J.; SOENGAS, J. L.; ROZAS, G. Uptake of tryptophan into brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Zool.**, v.282, p.285–289, 1998.

ALDEGUNDE, M.; SOENGAS, J. L.; ROZAS, G. Acute effects on tryptophan hydroxylation rate in brain regions (hypothalamus and medulla) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Zool.**, v.286, p.131–135, 2000.

BERLINSKY, D. L.; TAYLOR, J. C.; HOWELL, R. A.; BRADLEY, T. M.; SMITH, T. I. J. The effects of temperature and salinity on early life stages of black sea bass *Centropristis striata*. **J. World Aquac. Soc.**, v.35, p.335–344, 2004.

BERMAN, M. E.; MCCLOSKEY M. S.; FANNING, J. R.; SCHUMACHER J. A.; COCCARO, E. F. Serotonin augmentation reduces response to attack in aggressive individuals. **Physiol. Sci.**, v.20, n.6, p.714-720, 2009.

BERNARDINO, G.; SENHORINI, J. A.; FONTES, N. A.; BOCK, C. L.; MENDONÇA, J. O. J. Propagação artificial do matrinchã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), (Teleostei, Characidae). **B. Tec. CEPTA**, v.6, p.1-9, 1993.

BIDWELL, D. A.; HOWELL, W. H. The effect of temperature on first feeding, growth, and survival of larval witch flounder *Glyptocephalus cynoglossus*. **J. World Aquac. Soc.**, v.32, p.373–384, 2001.

BOADLE-BIBER, M. C. Regulation of serotonin synthesis. **Prog. Biophys. Mol. Biol.**, v.60, p.1–15, 1993.

BRÄNNÄS, E.; LINNÉR, J.; ERIKSSON, O. Aggression and growth as an effect of size composition in groups of arctic charr. **J. Fish Biol.**, v.60, p.1331-1334, 2002.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characoidei) during transport. **Aquac. Research**, v.32, p.1-8, 2001.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Ionic imbalance in matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae), submitted to different hauling densities. **Aquac. Intern.**, v.10, p.221-229, 2002.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP. 1992.189p.

CECCARELLI, P. S. **Canibalismo em larvas de matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869)**. 1997. 92f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

DECKEL, A. W. Behavioral changes in *Anolis carolinensis* following injection with fluoxetine. **Behav. Brain Res.**, v.78, p.175– 82, 1996.

DUFFY-WHRITENOUR, J. E.; ZELIKOFF, J. T. Relationship between serotonin and the immune system in a teleost model. **Brain Behav. Immun.**, v.22 p.257–264, 2008.

FERNSTROM, J. D. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. **Physiol. Rev.**, v.60, p.484–546, 1983.

FERRIS, C. F.; MELLONI, R. H.; KOPPEL, G.; PERRY, K. W.; FULLER, R. W.; DELVILLE, Y. Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. **J. Neurosci.**, v.17, p.4331– 4340, 1997.

FIELDER, D. S.; BARDSLEY, W. J.; ALLAN, D. L.; PANKHURST, P.M. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. **Aquacult.**, v.250, p.201–214, 2005..

FOLKVORD, A.; OTTERA, H. Effects of initial size distribution, day length, and feeding frequency on growth, survival, and cannibalism in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Aquacult.**, v.114, p.243-260, 1993.

GANECO, L. N. **Ontogenia da resposta endócrina em larvas de matrinxã *brycon amazonicus*. ênfase nos eixos hipófise-tireóide e hipófise-tecido interrenal.** 97f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2007.

GAWORECKI, K. M.; STEPHEN J. KLAINE, S. J. Behavioral and biochemical responses of hybrid striped bass during and after fluoxetine exposure. **Aquat. Toxicol.**, v.88, p.207–213, 2008

GAVLIK, S.; ALBINO, M.; SPECKER, J. L. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. **Aquacult.**, v.203, p.359-373, 2002.

GELLER, I.; BLUM, K. The effects of 5-HTP on para-chlorophenylalanine (*p*-CPA) attenuation of “conflict” behavior. **Eur. J. Pharmacol.**, v.9, p.319-324, 1970.

GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. **Matrinxã (*Brycon amazonicus*)**. In **Espécies nativas com potencial para a piscicultura**. BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Eds.). Editora U. Federal de Santa Maria, 2ª Ed., revista e ampliada. p.149-168. 2010.

GOMES, L. C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J. A. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquacult.**, v.183, p.73-81, 2000.

GOULDING, M. **Ecologia da pesca do rio Madeira**. Manaus: INPA, 172p. 1979.

GRACIA-LÓPEZ, V.; KIEWEK-MARTÍNEZ, M.; MALDONADO-GARCÍA, M. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. **Aquacult.**, v.237, p.485–498, 2004.

GREAVES, K.; TUENE, S. The form and context of aggressive behaviour in farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). **Aquacult.**, v.193, p.139-147, 2001.

GUEVARA, M. J. P. **Enriquecimento de zooplâncton com óleo de peixe na larvicultura de pacu *Piaractus mesopotamicus* e curimatá *Prochilodus lineatus***. 106f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, 2003.

HARDY, R. S; LITVAK, M. K. Effects of temperature on the early development, growth, and survival of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus*, yolk-sac larvae. **Environ. Biol. Fish.**, v.70, p.145–154, 2004.

HART, P. R.; HUTCHINSON, W. G.; PURSER, G. J. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). **Aquacult.**, v.144, p.303–311, 1996.

HETCH, T.; PIENAAR, A. G. Cannibalism: the hidden mortality in larviculture. In Larvi'91- Fish & Crustacean Larviculture Symposium. **Europ. Aquacult. Soc.**, Special Publication, v.15, p.277, 1991.

HÖGLUND, E.; BAKKE, M. J.; ØVERLI, Ø.; WINBERG, S.; NILSSON, G. E. Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. **Aquacult.**, v.249, p.525-531, 2005.

HOSHIBA, M. A. **Enriquecimento da alimentação das larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) com aminoácidos. Influência no crescimento inicial e sobrevivência das larvas.** 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

IDE, L. M.; URBINATI, E. C.; HOFFMANN, A. The role of olfaction in the behavioral and physiological responses to conspecific skin extract in a teleost fish, *Brycon cephalus*. **J. Fish Biol.**, v.63, p.332-343, 2003.

INUI, Y.; YAMANO, K.; MIWA, S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. **Aquacult.**, v.135, p.87-98, 1995.

JOHNSTON, W. L.; ATKINSON, J. L.; HILTON, J. W.; WERE, K. E. Effect of dietary tryptophan on plasma and brain tryptophan, brain serotonin, and brain 5-hydroxyindoleacetic acid in rainbow trout. **J. Nutr. Biochem.**, v.1, p.49–54, 1990.

JOHNSTON, T. A.; MATHIAS, J. A. The effects of temperature on feeding in zooplanktivorous walleye, *Stizostedion vitreum*, larvae. **Environ. Biol. Fish.**, v.40, p.189–198, 1994.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MALHEIROS, E. B.; PORTELLA, M. C. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquacult.**, v.221, p. 277–287, 2003.

JOMORI, K. R. **Desenvolvimento, sobrevivência e aspectos econômicos da produção de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), diretamente em viveiros ou com diferentes períodos de larvicultura em laboratório.** Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, São Paulo. 2001.

KHAN, I. A.; THOMAS, D P. Disruption of neuroendocrine control of luteinizing hormone secretion by Aroclor 1254 involves inhibition of hypothalamic tryptophan hydroxylase activity. **Biol. Reprod.**, v.64, p. 955–964, 2001.

KAMLER, E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. **Rev. Fish Biol. Fish.**, v.12, p.79–103, 2002.

KUBITZA, F. **Qualidade de água no cultivo de peixes e camarões.** Jundiaí-SP, p.229, 2003.

LARSON, E. T.; SUMMERS, C. H. Serotonin reverses dominant social status. **Behav. Brain Res.**, v.121, p.95– 102, 2001.

LEPAGE, O.; TOTTMAR, O.; WINBERG, S. Elevated dietary intake of l-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Onchorhyncus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, v.205, p.3679– 3687, 2002.

LEPAGE, O.; VILCHEZ, I. M.; POTTINGER, T. G.; WINBERG, S. Timecourse of the effect of dietary l-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Onchorhyncus mykiss*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p.3589–3599, 2003.

LEPAGE, O.; LARSON, E. T.; MAYER, I.; WINBERG, S. Tryptophan affects both gastrointestinal melatonin production and interrenal activity in stressed and non stressed rainbow trout. **J. Pineal Res.**, v.38, p.264–271, 2005.

LIMA, F. C. T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). **In:** REIS, R.E; KULANDER, S. O; FERRARIS JR, C. J. (Orgs.) Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. EDPURCS, Porto Alegre. p.174-181, 2003.

LIMA, M. S. **Os fluxos de conhecimentos na piscicultura do estado do Amazonas: uma análise da trajetória e das condições institucionais.** ConTexto, v.5, n.8, 2005.

LANDINES, M. A.; SANABRIA, A. I.; SENHORINI, J. A.; URBINATI, E. C. The influence of triiodothyronine (T_3) on the early development and survival of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Fish Physiol. Biochem.** , v.36, p.1291-1296, 2010.

LOPES, R. N. M.; FREIRE, R. A. B.; VICENSOTTO, J. R. M.; SENHORINI, J. A. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Gunther, 1869, (Pisces, Characidae). **B. Tec. CEPTA**, v.8, p.25-39, 1995.

LUZ, R. K. **Aspectos da larvicultura do trairão *Hoplias lacerdae*: manejo alimentar, densidade de estocagem e teste de exposição ao ar.** 120f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2004.

LYNN, S. E.; EGAR, J. M.; WALKER, B. G. ; SPERRY, T. S.; RAMENOFISKY, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. **Adv. Physiol. Educ.**, v.31, p.358-363, 2007.

MENNIGEN, J.A.; HARRIS, E.A.; CHANG, J.P., MOON, T. W.; TRUDEAU, V. L. Fluoxetine affects weight gain and expression of feeding peptides in the female goldfish brain. **Regul. Pept.** v.5, p.99-104, 2009.

MONGEAU, R.; BLIER, P.; de MONTIGNY, C. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. **Brain Res. Rev.**, v.23, p.145–195, 1997.

NUTT, D.; FORSHALL, S.; BELL, C.; RICH, A.; SANDFORD, J.; NASH, J.; ARGYOPOULOS, S. Mechanisms of action of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of psychiatric disorders. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v.3, p.S81– S86, 1999.

PERREAULT, H. A. N.; SEMSAR, K; GODWIN, J. Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. **Physiol. Behav.**, v.79, p.719– 724, 2003.

ROCHA, R. M.; CARVALHO, E. G.; URBINATI, E. C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Aquac. Res.**, v.35, p.245-249, 2004.

SALLES, F. A. **Aspectos técnicos e econômicos da larvicultura intensiva de curimatã *Prochilodus scrofa* (Steindacher, 1881) em escala massal.** 53f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 1998.

SANCHEZ, C.; HYTTEL, J. Isolation-induced aggression in mice-effects of 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors and involvement of postsynaptic 5-HT1a receptors. **Eur. J. Pharmacol.**, v.264, p.241–247, 1994.

SENHORINI, J. A.; MANTELATTO, F. L. M.; CASANOVA, S. M. C. Growth and survival of larvae of Amazon species “matrinxã”, *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae) in larviculture ponds. **B. Tec. CEPTA**, v.11, p.13-28, 1998.

SOARES, M. C. F.; URBINATI, E. C.; SENHORINI, J. A. Variação Periódica da triiodotironina (T3) plasmática e sua ação na reprodução induzida do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro. **R. Bras. Zootec.**, v.32, n.6, p.1825-1834, 2003.

SPERRY, T. S.; THOMPSONY, C. K.; WINGFIELD, J. C. Effects of Acute Treatment with 8-OH-DPAT and Fluoxetine on Aggressive Behaviour in Male Song Sparrows (*Melospiza melodia morphna*). **J. Neuroendocrinol.**, v.15, p.150–160, 2003.

SPIX, J. B. VON; AGASSIZ, L. Selecta genera et species piscium quos in itinere per Brasiliam annos MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I.... colleget et pingendso curavit Dr J. B. de Spix. Monachii. Selecta Piscium Brasiliam Part 1: i-xvi + i-ii + 1-82, p.1-48. 1829-31.

CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DO TRIPTOFANO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA LARVAL DE MATRINXÃ SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Influência do triptofano no desenvolvimento inicial e na sobrevivência larval de matrinxã submetidos a diferentes temperaturas

RESUMO – Os maiores problemas da criação intensiva ocorrem durante o desenvolvimento inicial das larvas devido às variações de temperatura e altas taxas de canibalismo. Estudos relacionados ao uso do aminoácido triptofano, precursor da serotonina, vem sendo realizados com o intuito de minimizar os efeitos do comportamento agressivo das larvas em sistema de criação. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação dietética do triptofano (Trp) no desenvolvimento inicial e na sobrevivência de larvas de matrinxã em diferentes temperaturas. As larvas foram distribuídas em incubadoras horizontais com capacidade de 40L, no entanto contendo 25 litros de água (16 larvas/L) e submetidas aos seguintes tratamentos: ração comercial (Trat. 1- controle); ração suplementada com 0,74 g (Trat. 2); 1,48 g (Trat. 3) e (Trat. 4) 2,96 g triptofano / 100 g de ração comercial. Foram realizados dois experimentos, simultaneamente, sendo o primeiro com temperatura da água controlada (26-28°C) e o segundo mantendo a temperatura ambiente (19-31°C). As coletas foram realizadas 1, 3, 6, 9 e 12 dias após o início do período experimental, nas quais 8 larvas foram fixados para posterior avaliação da sobrevivência, conteúdo estomacal, comprimento e peso, taxa de crescimento específico e coeficiente de variação do peso e comprimento. O delineamento utilizado em cada experimento foi um Delineamento Inteiramente Casualizado, com 3 concentrações de Trp e 1 testemunha, e com 4 repetições por tratamento. Os resultados indicaram que a suplementação da ração com triptofano, independentemente da temperatura, aumentou a sobrevivência e o tamanho das larvas e reduziu o canibalismo. O Trat. 3 (1,48 g triptofano/100 g) promoveu os melhores resultados em termos de sobrevivência, enquanto a concentração de 2,96 g triptofano/100 g melhorou o crescimento, podendo a

suplementação dietética com triptofano ser uma alternativa viável na criação de matrinxã. Por outro lado, a variação da temperatura prejudicou a ação do triptofano nas respostas das larvas.

Palavras – chaves: Canibalismo, Larvicultura, Serotonina

ABSTRACT – The main problems in the intensive farming of matrinxã occur during the early development due to the temperature variation and high incidence of cannibalism. Studies related to the use of the amino acid tryptophan, serotonin precursor, have been developed to minimize its effect on the larval aggressiveness reduction in farming conditions. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of the dietary supplementation of tryptophan (Trp) on the early development and survival of matrinxã in different temperatures. Larvae were distributed in 25L tanks and submitted to the following treatments: commercial diet (T1 – control); diet supplemented with 0.74 g (T2); 1.48 g (T3) and 2.96 g (T4). Two trials were performed simultaneously, being the first at controlled water temperature (26-28°C) and the second one at the ambient temperature (19-31°C). Samplings were performed at 1, 3, 6, 9 and 12 days after the beginning of the experimental feeding, in which 8 larvae or juveniles were fixed in Karnovsky solution to further assessment of the survival, stomach content, body weight and length, specific growth rate and coefficient of variation of weight and length. The design used in each experiment was a complete randomized design, with 3 Trp concentrations and one witness, and 4 repetitions per treatment. The results indicate the Trp supplementation, regardless the temperature, increased the survival and the body length and enhanced the homogeneity of the weight larvae. The T3 (1.48 g) promoted the best results regarding larval survival, while the concentration 2,96 g improved the larval growth. Thus, the dietary supplementation with tryptophan is a viable alternative in matrinxã farming. Otherwise, the temperature variation worsened the effect of tryptophan on larval responses.

Key words: Cannibalism, Larviculture, Serotonin

INTRODUÇÃO

O matrinxã pertence ao gênero *Brycon* e é uma espécie de peixe muito apreciada no Brasil, principalmente na região norte do país. Algumas características têm contribuído para o interesse na criação desta espécie, tornando-a bastante promissora, como sua fácil adaptação ao cativeiro; aceitação de alimento de origem vegetal e animal; rápido crescimento para alcançar o tamanho comercial; fácil comercialização da carne, devido às suas propriedades organolépticas; e rusticidade natural, o que o torna menos susceptível ao estresse de manejo e permite a sua criação nos mais variados tipos de sistemas de produção, podendo ser encontrados até em canais de igarapé (ZANIBONI FILHO, 2006; GOMES e URBINATI, 2010).

A criação do matrinxã vem sendo bastante estudada, pois algumas fases do processo produtivo da espécie, como a larvicultura, apresentam problemas. Os maiores entraves desta fase de produção estão relacionados ao desenvolvimento inicial e sobrevivência das larvas. Um dos problemas relatado nesta etapa do desenvolvimento larval é a variação da temperatura, que causa altas taxas de mortalidade devido ao estresse imposto aos animais, o que reduz sua resistência fisiológica e promove o aparecimento de doenças, resultando na morte dos animais. A temperatura está entre os fatores mais críticos no início do desenvolvimento ontogenético do peixe (KAMLER, 2002; HART et al., 1996). De acordo com Kubitzka et al. (2003), choques térmicos superiores a 2°C já resultam em alta mortalidade de larvas, sendo este fato bastante comum em propriedades onde o sistema de abastecimento de água não possui controle de temperatura, o que resulta em perdas significativas no processo produtivo.

Outro problema que tem sido destacado na larvicultura do matrinxã, que contribuem para as baixas taxas de sobrevivência, é o canibalismo existente já nos primeiros dias de vida dos animais. As larvas, durante os primeiros dias de vida, possuem reservas nutritivas oriundas do saco vitelínico, que servem como um reservatório de nutrientes que supre suas exigências nutricionais. Após o consumo de aproximadamente $\frac{1}{4}$ deste vitelo, quando já possuem natação horizontal e vertical, bexiga de gás inflada e órgãos desenvolvidos, as larvas de matrinxã passam a

dependem de alimentação exógena para continuarem o seu desenvolvimento. Nessa idade, com cerca de um a dois dias de vida, observa-se a presença do comportamento de canibalismo entre os indivíduos (LOPES et al., 1995; SENHORINI et al., 1998; HOSHIBA, 2007).

O canibalismo é um tipo de relação ecológica em que certas espécies de animais se alimentam de indivíduos da mesma espécie. Apesar de ser muito comum e amplamente presente no reino animal, proporciona uma diminuição do número de larvas sobreviventes nos viveiros, sendo um grande problema quando se refere à produção intensiva de peixes (FOX et al., 1975). Na tentativa de minimizar o canibalismo e maximizar a sobrevivência, muitos estudos foram realizados com o gênero *Brycon*, avaliando a densidade de cultivo e formato dos tanques de cultivo (PEREIRA et al., 2003), fotoperíodo (REYNALTE-TATAJE et al., 2002), cultivo em água verde (LUZ et al., 2002), salinidade (LUZ et al., 2004), entre outros. De acordo com uma revisão realizada por Kubitz et al. (2003), o melhor resultado foi obtido por meio de larvicultura em viveiros de terra, na densidade de 30 e 120 larvas/m², com uma alimentação que incluía larvas de *Prochilodus*, onde se obteve sobrevivências de 50 a 72%. Esses resultados levaram pesquisadores a realizar estudos utilizando diferentes espécies de peixes forrageiros como alimento na tentativa de minimizar o alto índice de canibalismo nas larvas do gênero *Brycon* (SENHORINI et al., 1998; LANDINES, 2003).

A alimentação inicial exógena, dessa forma, passou a ser melhor estudada e entendida como um fator fundamental na larvicultura do gênero *Brycon*, que pode influenciar o comportamento agressivo que leva ao canibalismo. Assim, estudos envolvendo o aminoácido triptofano, que está relacionado com a síntese de serotonina, neurotransmissor associado à agressividade, estão sendo desenvolvidos com o intuito de minimizar o canibalismo entre os animais (WEINBERG, et al., 2001; HSEU, et al., 2003; HOGLUD, et al., 2005; HOSHIBA, 2007).

O triptofano é um aminoácido essencial que deve ser adicionado à dieta, pois o organismo não é capaz de produzi-lo em quantidades suficientes. Esse aminoácido desempenha um papel importante, pois está envolvido na incorporação das proteínas corporais, e está relacionado também com importantes funções biológicas, sendo a

maioria delas associadas às vias metabólicas envolvidas no catabolismo. Este aminoácido é o precursor na síntese de serotonina sendo, dessa forma, um importante neuromediador associado ao humor, agressividade, à resposta ao estresse, ao sono e à regulação do apetite (RUSSO et al., 2003). Do ponto de vista quantitativo, a proporção de triptofano utilizada para a produção de serotonina é muito baixa, ou seja, menos de 10% do triptofano que é degradado participa da síntese desse neurotransmissor.

De acordo com Lepage et al. (2005), o fornecimento de dietas suplementadas com triptofano para truta arco-íris reduziu o número de ataques entre os peixes, mostrando a existência de uma relação entre este aminoácido e a redução da agressividade. A inibição do comportamento agressivo dos peixes pode estar relacionada com a redução da reatividade do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal, indicada pelos níveis pós-estresse mais baixos do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e cortisol (WINBERG et al., 2001; LEPAGE et al., 2002; LEPAGE et al., 2003). Da mesma forma, foi observado redução do comportamento agressivo entre juvenis de bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*), quando estes foram alimentados com dieta suplementada com triptofano (HÖGLUND et al., 2005). Para larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*), estudos preliminares também indicaram um efeito do triptofano na redução do canibalismo da espécie durante a fase inicial de vida (HOSHIBA, 2007).

Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com triptofano na sobrevivência e no desenvolvimento inicial de larvas de matrinxãs (*Brycon amazonicus*) submetidas a diferentes temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécie estudada

A espécie utilizada no presente estudo foi a *Brycon amazonicus* (SPIX & AGASSIZ, 1829) pertencente a família Characidae e ao gênero *Brycon*.

Local do experimento

Este estudo foi realizado no CEPTA/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – Pirassununga, SP, Laboratório de Fisiologia de Peixes do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV – Unesp, Jaboticabal - SP e no Laboratório de Aqüicultura da Universidade Federal do Amazonas – ICSEZ (Parintins, AM).

Unidades experimentais

Para o presente estudo foram utilizadas caixas de fibra de vidro com formato retangular, com volume aproximado de 40 litros contendo 25 litros de água, em sistema de circulação fechado, com temperatura da água controlada (Exp.1: 26-28° C) e temperatura ambiente (Exp. 2: 19-31° C) e aeração artificial constante, por meio de um compressor e pedras porosas.

Manejo e reprodução

As larvas utilizadas foram obtidas por reprodução induzida de matrizes de matrinxã, com 2,5 anos de idade, mantidos em viveiros de terra escavados e alimentadas com ração comercial (28% PB), duas vezes ao dia. Os critérios para a seleção dos reprodutores foi o volume e a flacidez da região ventral da fêmea e hiperemiação da papila urogenital, e o grau de fluidez do sêmen do macho (BERNARDINO et al., 1993). No processo de reprodução, foi utilizado como agente indutor da liberação dos gametas, o extrato de hipófise de carpa comum. As fêmeas receberam uma dose inicial de 0,5 mg extrato de hipófise/kg de peixe, na base da nadadeira peitoral e, após o intervalo de aproximadamente 270 horas graus, foi aplicada a segunda dose de 5 mg extrato de hipófise/kg de peixe. Os machos receberam uma única dose de 1 mg extrato de hipófise/kg de peixe, administrado no mesmo momento em que foi aplicada a segunda dose de hormônio nas fêmeas. A extrusão dos ovócitos foi realizada manualmente.

Os ovócitos de todas as fêmeas foram misturados e, posteriormente, separados em porções iguais, que foram colocadas para eclodir em incubadoras tipo funil, de fibra

de vidro com capacidade de 80 L, modelo vertical, com circulação constante da água. Após a eclosão, mantendo uma distribuição homogênea e aleatória dos lotes, os animais foram distribuídos nas caixas de 25 L, na proporção de 16 larvas/L, e submetidos aos seguintes tratamentos:

Experimento 1 – Temperatura da água controlada (26 - 28 °C)

Experimento 2 – Ausência de controle da temperatura da água (19 - 31 °C)

Tratamento 1 Ração comercial - 0,37g triptofano / 100g RC

Tratamento 2 Ração enriquecida com 0,74 g triptofano / 100g RC

Tratamento 3 Ração enriquecida com 1,48 g triptofano / 100g RC

Tratamento 4 Ração enriquecida com 2,96 g triptofano / 100g RC

RC – ração comercial farelada com 56%PB. As concentrações de triptofano utilizadas no enriquecimento da ração comercial foram baseadas nos dados de HOSHIBA (2007). O valor inicial de triptofano da ração foi obtido por meio de análise bromatológica

As concentrações de triptofano utilizadas foram determinadas baseadas nos resultados encontrados em experimentos anteriores (0,59 e 1,94 g triptofano/100 g ração) (HOSHIBA, 2007). A dieta foi misturada ao aminoácido com o auxílio de uma batedeira específica para mistura da ração.

Alimentação durante o período experimental

As larvas receberam alimentação natural (500 zooplâncton/larva) a partir de 24 horas pós-eclosão. A partir do primeiro dia de vida foi oferecida adicionalmente ração suplementada, ou não, de acordo com os tratamentos.

Parâmetros limnológicos

Durante o período experimental, às 8:00 e 17:00 horas, foram mensurados: temperatura, oxigênio dissolvido ($6,61 \pm 1,33$ mg/L), pH ($6,98 \pm 0,4$) e amônia não ionizada da água das caixas ($0,002 \pm 0,0008$ mg/L). As caixas foram sifonadas duas

vezes por semana ou quando necessário, com o auxílio de uma mangueira de borracha, para retirada de restos da alimentação e os detritos.

Coleta das larvas e parâmetros avaliados

As coletas foram realizadas nos seguintes tempos: 1, 3, 6, 9 e 12 dias após o início do período experimental (início da alimentação). Oito larvas foram fixados em Karnowsky e mantidos em álcool 70%, para avaliação da sobrevivência, conteúdo estomacal, peso e comprimento dos exemplares, taxa de crescimento específico e coeficiente de variação do peso e comprimento.

O peso e o comprimento total das larvas foram determinados com paquímetro digital, estereomicroscópio e balança analítica (precisão de cinco casas decimais). Foi levado em consideração, durante as medições larvais, o protocolo de Pedreira et al. (2008), para que fosse garantido uma padronização na metodologia das pesagens.

A taxa de crescimento específico foi calculada de acordo com a fórmula: $TCE (\%/dia) = 100 \times [(ln \text{ peso final} - ln \text{ peso inicial})/dias]$. O coeficiente de variação do peso e do comprimento foi obtido a partir da fórmula: $CV = (\text{desvio padrão}/\text{média}) \times 100$ (JOBLING, 1994). O coeficiente de variação, quando multiplicado por 100, corresponde à porcentagem de variação da população. Foi verificado também o conteúdo estomacal: o tubo difestório de 40 larvas por tratamento e amostragem, por meio de microcirurgia, usando lupa com aumento de 4,5 vezes e com auxílio de agulhas. Sendo observado a presença e o tipo do alimento consumido e a porcentagem de canibalismo. A sobrevivência final foi calculada utilizando-se a fórmula: $S(\%) = (n^{\circ} \text{ final de larvas} / n^{\circ} \text{ inicial}) \times 100$ (SENHORINI et al., 1998).

Análise estatística

O delineamento utilizado em cada experimento foi inteiramente casualizado (DIC), com 3 concentrações de suplementação de triptofano e 1 testemunha não suplementada, e 4 repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias feita pelo teste de Tukey (nível de 5%), no

programa estatístico SAS (9.12). Os dados são apresentados como médias \pm erro padrão (EP).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência inicial na larvicultura de matrinxã tem sido estudada (SENHORINI et al., 1998; GOMES, 2000; LEONARDO, 2005), e é considerada o principal gargalo para a produção desta espécie, principalmente na região norte do país. A porcentagem de sobrevivência das larvas é bastante variável, com valores entre 5,2 e 47,8% (BERNARDINO et al., 1993; SENHORINI et al., 1998; PEDREIRA et al., 2001; URBINATI et al., 2003; PEDREIRA et al., 2003; LEONARDO, 2005; PEDREIRA et al., 2006), sendo que as taxas mais elevadas de sobrevivência foram observadas em estudos que empregaram larvas de outras espécies de peixes na alimentação das larvas de *Brycon* (LANDINEZ, 2005). No presente estudo, a sobrevivência das larvas controle foi de cerca de 20%, enquanto que nos grupos tratados com 1,48 g Trp/100 g de ração a sobrevivência foi em torno de 40%, resultados bastante promissores para a larvicultura do matrinxã, pois estão próximos ao limite superior dos encontrados por diversos autores, sendo que no presente estudo, a alimentação se constituiu apenas de ração suplementada e zooplâncton.

A Figura 1 mostra os valores médios de sobrevivência das larvas alimentadas com dietas suplementadas com Trp e mantidas em temperatura da água controlada (26-28°C). Os valores encontrados nos Trat. 1 e Trat. 4 não diferiram entre si. Já nos Trat. 2 e Trat. 3, a sobrevivência larval foi, respectivamente, 32,4% e 68,9% superior ao tratamento controle. A maior suplementação de Trp reverteu o efeito positivo das duas menores concentrações. Os resultados obtidos mostram o potencial da utilização do aminoácido em relação ao aumento da sobrevivência inicial de matrinxã. Analisando a Figura 2, cujos dados foram obtidos sem controle da temperatura da água, verifica-se o mesmo comportamento observado quando a temperatura ficou entre 26 e 28°C, embora o aumento verificado não tenha sido estatisticamente diferente. Apesar de não serem observado significância estatística nos resultados, verificou-se um aumento de

43,5 e 79,8% nos tratamentos 2 e 3 em relação ao tratamento controle. A alta variabilidade dos valores individuais de sobrevivência afetou a significância estatística dos resultados e está associada à grande variação da temperatura (19 – 31 °C) da água à qual as larvas foram expostas durante a criação, no qual no presente estudo chegou a 12 °C. De acordo com Kubitzka et al. (2003), choques térmicos superiores a 2° C podem resultar em alta mortalidade de pós larvas. A temperatura está entre os fatores mais críticos no início do desenvolvimento ontogenético do peixe (KAMLER, 2002; HART et al., 1996) e que afeta o desenvolvimento larval (FIELDER et al., 2005), incluindo o processo de absorção e utilização do saco vitelino (HARDY E LITVAK, 2004), instalação da primeira alimentação, crescimento (GRACIA-LÓPEZ et al., 2004; BERLINSKY et al., 2004), comportamento e natação (JOHNSTON e MATHIAS, 1994) e sobrevivência (BIDWELL e HOWELL, 2001; BERLINSKY et al., 2004). O tratamento 4 apresentou valores menores que os demais tratamentos, que poderia ser explicado pela diminuição da densidade ocasionado por mortalidade ou canibalismo das larvas, proporcionando dessa forma um maior crescimento e peso das que sobreviveram.

Os valores médios do peso corporal das larvas alimentadas com dietas suplementadas com triptofano e mantidas a 26-28 °C são apresentados na Figura 3. O peso larval não diferiu significativamente entre os tratamentos até o 6º dia de idade. No 9º dia de coleta, os animais dos Trat. 3 e Trat. 4 apresentaram média de peso estatisticamente superior aos dos Trat. 1 e Trat. 2, enquanto no 12º dia do início do experimento, foi possível observar um aumento de peso significativo de todas as larvas tratadas com Trp (Trat. 2, Trat. 3 e Trat. 4) em comparação a dieta controle (Trat. 1). Ahmed e Khan (2005) também relataram melhora no crescimento, sobrevivência e conversão alimentar em *Cirrhinus mrigala* tratados com dietas suplementadas com 0,38 g triptofano /100 g da dieta. O mesmo comportamento foi observado por Tejpal et al. (2009), que relacionaram o aumento do crescimento, em juvenis de *Cirrhinus mrigala*, com redução do estresse provocado por altas densidades de estocagem, quando os animais foram alimentados com 1,36% de L-triptofano. A suplementação de triptofano no sistema nervoso pode estar atuando no eixo hipotálamo-hipófise-interrenal, aumentando o nível de serotonina e dessa forma atuando como redutor da

agressividade, minimizando o estresse causado pela perseguição entre os animais (HOGLUND et al., 2005).

Na Figura 4, são apresentados os valores médios do peso corporal das larvas alimentadas com dietas suplementadas com triptofano mantidas em temperatura ambiente (19°C a 31°C). Diferentemente dos resultados verificados com temperatura da água controlada, somente no 12º dia de coleta foi encontrada diferença significativa no peso das larvas alimentadas com 2,96 g / 100 g de ração, que era maior que o de todas as outras larvas. Entretanto, foi observado um perfil de aumento de peso à medida que se aumentou a concentração do Trp. De acordo com Grimmer & Sillence (2005), o efeito do triptofano no comportamento do peixe depende de outros fatores como a dieta, exercício, idade, condição social e agentes estressores, como a temperatura. Por outro lado, estudos de Papoutsoglou et al. (2004) e Hseu et al. (2003) demonstraram diminuição do crescimento de *Oncorhynchus mykiss* e *Epinephelus coioides*, tratados com triptofano. No estudo de Hseu et al. (2003), 0,5% de triptofano reduziu o canibalismo dos peixes, enquanto as trutas alimentadas com 2 g Trp/100 g ração tiveram respostas de estresse reduzidas (PAPOUTSOGLU et al., 2004).

O maior crescimento das larvas de matrinxãs, especialmente em temperatura controlada, pode estar relacionado a dois aspectos. Primeiro, o triptofano pode afetar o comportamento alimentar, aumentando a ingestão do alimento (WINBERG et al., 2001). Em segundo lugar, pode estar relacionado a um melhor atendimento de exigência protéica. A importância da proteína no crescimento pode ser comprovada quando se observa que larvas não predadoras com 72 horas pesavam dois gramas e larvas que predavam apresentaram 4,5 g (LEONARDO et al., 2008) A exigência dietária para proteína é, de fato, uma exigência de aminoácidos essenciais contidos nas proteínas da dieta (WILSON, 2000). De todos os nutrientes exigidos pelos peixes, os aminoácidos indispensáveis que compõem as proteínas são geralmente considerados de máxima importância devido a sua influência no crescimento dos peixes (NRC, 1993). A exigência de proteína bruta é influenciada diretamente pela composição de aminoácidos da dieta e o balanço de aminoácidos é básico para a exigência da proteína (TIBBETTS et al., 2000).

Os valores médios do comprimento das larvas alimentadas com dietas suplementadas com triptofano, mantidas a 26-28°C, são apresentados na Figura 5. O comprimento apresentou o mesmo perfil apresentado pelo peso, mas só se observou diferença significativa no 12º dia de coleta, quando o comprimento das larvas alimentadas com 1,48 g e 2,96 g / 100 g de ração foi maior que dos tratamentos 1 e 2. Já na Figura 6, são observadas as médias de comprimento das larvas que permaneceram em temperatura ambiente, com variação entre 19 e 31 °C. Neste caso, os resultados mostram o mesmo perfil da Figura 5, e efeito dose-dependente do Trp sobre o comprimento das larvas. As diferenças significativas ocorreram no 12º dia de coleta, sendo que as larvas do Trat. 4 apresentaram comprimento maior que as dos Trat.1 e Trat. 2 e as de Trat. 3 maior que as de Trat. 1. Do mesmo modo que o crescimento das larvas em peso, os resultados de crescimento em comprimento podem estar associados à ingestão de alimentos estimulada pelo Trp e ao atendimento mais eficiente da exigência protéica em termos de composição de aminoácidos.

Ao serem analisados os resultados apresentados nas Figuras 5 e 6, observa-se que as larvas mantidas a 26-28 °C tiveram uma tendência ao maior crescimento do que aquelas submetidas a temperatura ambiente (19 – 31°C). Isto mostra a importância do controle da temperatura no crescimento e desenvolvimento larval, sem o qual podem ocorrer grandes prejuízos na larvicultura inviabilizando a criação (KUBITZA et al., 2003). Sendo assim, a temperatura e o triptofano podem ser considerados potenciais fatores de interferência no crescimento e desenvolvimento das larvas, como indicado por Grimmett & Sillence (2005).

Os resultados de crescimento apresentados nas Figuras 3, 4, 5 e 6 foram realçados pelo cálculo da taxa de crescimento específico como mostram as Tabelas 1 e 2. Na Tabela 1, observa-se que a taxa de crescimento específico das larvas mantidas em temperatura da água controlada e tratadas com Trp é sempre maior que a taxa das larvas controle, em todos os períodos analisados (1-3, 1-6, 1-9 e 1-12 dias). Essa significância estatística não aparece quando é analisada a evolução do peso e comprimento das larvas, embora esse perfil possa ser observado. A análise dos dados, quando a temperatura não foi controlada (Tabela 2), mostra uma flutuação maior dos

resultados, embora se possa observar que os valores são sempre mais altos nos tratamentos com Trp, exceto no período de 1 a 3 dias. No período de 1-3 dias, as taxas foram superiores em todos os tratamentos com Trp e de 1-12 dias destacou-se o grupo alimentado com 2,96 g/100g de ração, como ficou evidenciado na Figura 3. Os efeitos negativos das oscilações da temperatura estão confirmados na flutuação dos resultados encontrados.

Os coeficientes de variação de peso e comprimento, normalmente utilizados para demonstrar a homogeneidade de tamanho num lote de animais (JOBILING, 1994) não mostraram diferenças significativas no tamanho das larvas dos diferentes tratamentos, como mostram as Tabelas 3, 4, 5 e 6 nas duas condições de temperatura.

O canibalismo foi aferido pela presença de restos de larvas no estômago das larvas dos diferentes tratamentos. Na Tabela 7, pode-se verificar o tipo de alimento encontrado no estômago das larvas alimentadas com triptofano e mantidas em temperatura controlada da água. É possível observar que no primeiro dia de coleta as larvas não ingeriram ração, sugerindo que nesta fase do desenvolvimento os animais se alimentam, preferencialmente, de zooplâncton. De 9 a 17% das larvas atacaram outras larvas. Esses resultados mostram efeito positivo de triptofano, pois Leonardo et. al., 2008 encontrou resultados próximos a 50%. Ainda no 1º dia experimental aproximadamente 41-58% das larvas não possuíam nenhum tipo de alimento no estômago, alimentando-se provavelmente da reserva proveniente do saco vitelínico. A partir do 3º dia de vida, observa-se presença de ração e zooplâncton no trato gastrointestinal, mostrando a viabilidade do oferecimento de ração após o 1º dia de idade. De acordo com Kubitz et al. (2003), o fornecimento de ração pode ser iniciado entre o 7º e 10º dia após a estocagem das pós larvas, pois estas já possuem trato digestivo suficientemente maduro para digerir a ração. Entretanto, no presente estudo foi observado que o arraçoamento pode ser realizado já nos dias iniciais de vida das larvas. A ocorrência de canibalismo foi registrada do 1º ao 6º dia. A Tabela 7 mostra, ainda, que ocorreu maior porcentagem de canibalismo nas larvas que não receberam triptofano. Já a Tabela 8 mostra que nas larvas expostas à maior variação da

temperatura os efeitos do triptofano na redução do canibalismo foram mais expressivos no 6º dia.

De acordo com os resultados observados, a suplementação da ração com triptofano alterou o comportamento alimentar das larvas, promovendo efeitos positivos na sobrevivência, no desempenho e comportamento, reduzindo o canibalismo.

O triptofano é o precursor do neurotransmissor serotonina (5-hidroxi-triptamina, 5-HT) e sua taxa de biossíntese no encéfalo é limitada pela disponibilidade do aminoácido (BOADLE-BIBER, 1993), que parece ser uma das principais limitações para a síntese de 5-HT. A ingestão aumentada de triptofano eleva o nível do aminoácido no encéfalo, e aumenta a biossíntese de 5-HT no encéfalo de peixes (JOHNSTON et al., 1990; ALDEGUNDE et al., 1998; ALDEGUNDE et al., 2000; WINBERG et al., 2001; LEPAGE et al., 2002) e de mamíferos (FERNSTROM, 1983).

A participação da serotonina na regulação das interações sociais podem ter implicações no controle do comportamento. Em vertebrados, a atividade serotoninérgica elevada diminui agressão e pode reverter relações de dominância em sistemas experimentais (SANCHEZ e HYTTEL, 1994; DECKEL, 1996; FERRIS et al., 1997; VILLALBA et al., 1997; LARSON e SUMMERS, 2001). Nos peixes, poucos trabalhos dão enfoque à relação da serotonina com a agressividade. Estudos com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) mostraram que a suplementação de dietas com triptofano inibiu o comportamento agressivo dos peixes (WINBERG et al., 2001; LEPAGE et al., 2002; LEPAGE et al., 2003). Em outro estudo com a mesma espécie, a suplementação da ração com triptofano promoveu diminuição do número de ataques entre os peixes, corroborando a participação do triptofano na redução da agressividade dos peixes (LEPAGE et al., 2005). De modo semelhante, a suplementação da dieta com triptofano afetou o sistema central de sinalização serotoninérgica (5-HT) e reduziu o comportamento agressivo de juvenis de bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* (HÖGLUND et al., 2005). Resultados preliminares com larvas de matrinxã indicam efeito do triptofano na redução do canibalismo da espécie durante a fase inicial de vida (HOSHIBA, 2007).

CONCLUSÃO

Dentre os níveis de suplementação testados, 1,48 g/100 g de ração comercial (Trat. 3) mostrou ser o mais adequado para melhorar a sobrevivência, a dose mais alta (2,96 g) proporcionou maior taxa de crescimento das larvas, enquanto a redução de canibalismo foi observada em todas as concentrações testadas (0,74; 1,48 e 2,96 g), independentemente da variação de temperatura.

Por meio da avaliação da temperatura foi possível simular as condições de campo e mostrar que, mesmo sem o controle da temperatura, resultados positivos podem ser esperados com a suplementação de triptofano, sendo esta prática facilmente empregada pelo piscicultor na sua criação. Por outro lado, em criações intensivas, o controle de temperatura pode aumentar ainda mais a produtividade.

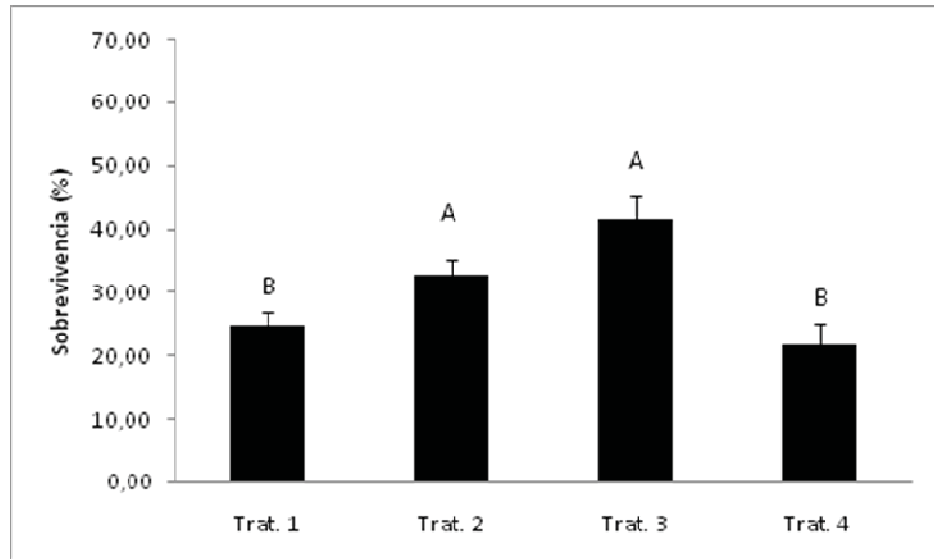


Figura 1 - Taxas de sobrevivência (\pm EP) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com dieta suplementada com triptofano. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Temperatura da água: 26-28°C.

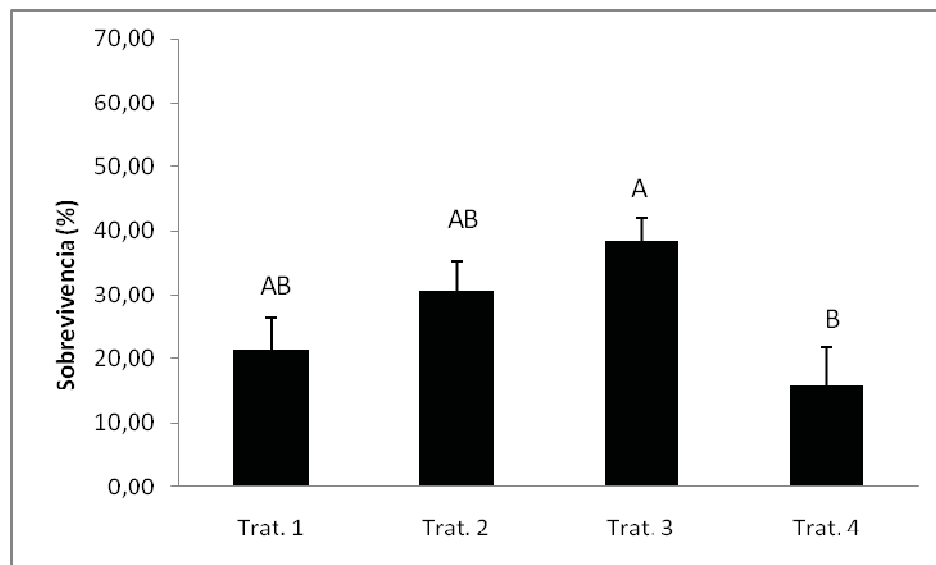


Figura 2 - Taxas de sobrevivência (\pm EP) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Temperatura da água: 19-31°C.

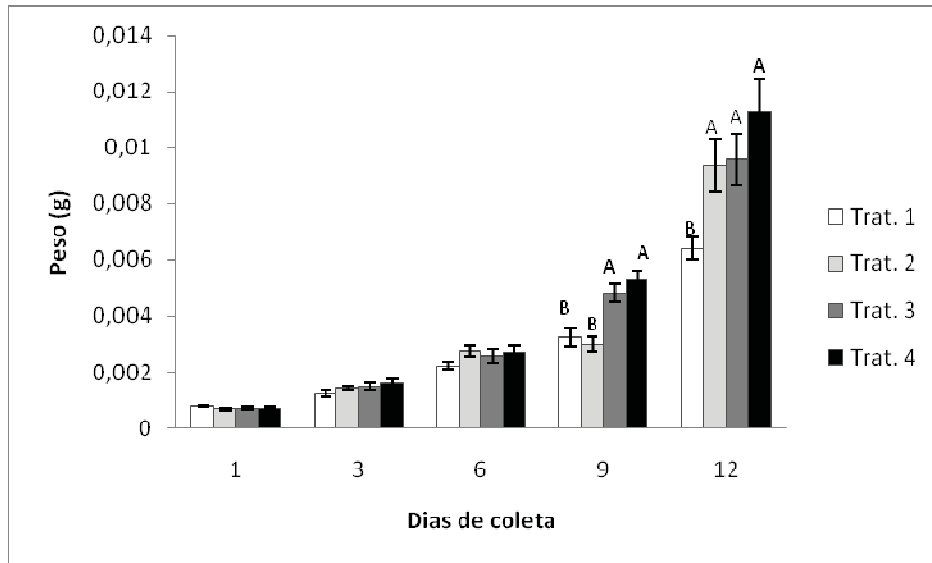


Figura 3 - Valores médios (\pm EP) do peso corporal (g) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Temperatura da água: 26-28°C.

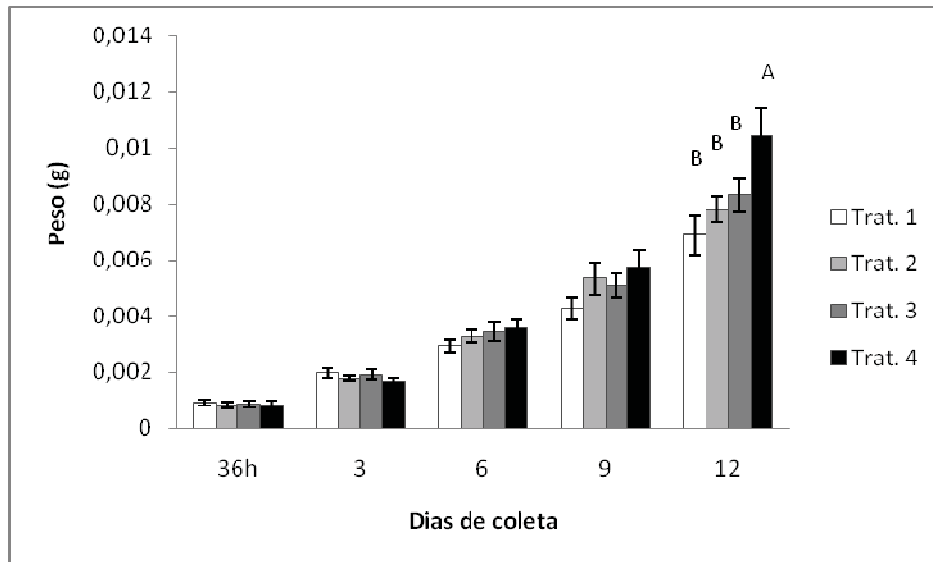


Figura 4 - Valores médios (\pm EP) do peso corporal (g) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Temperatura da água: 19-31°C.

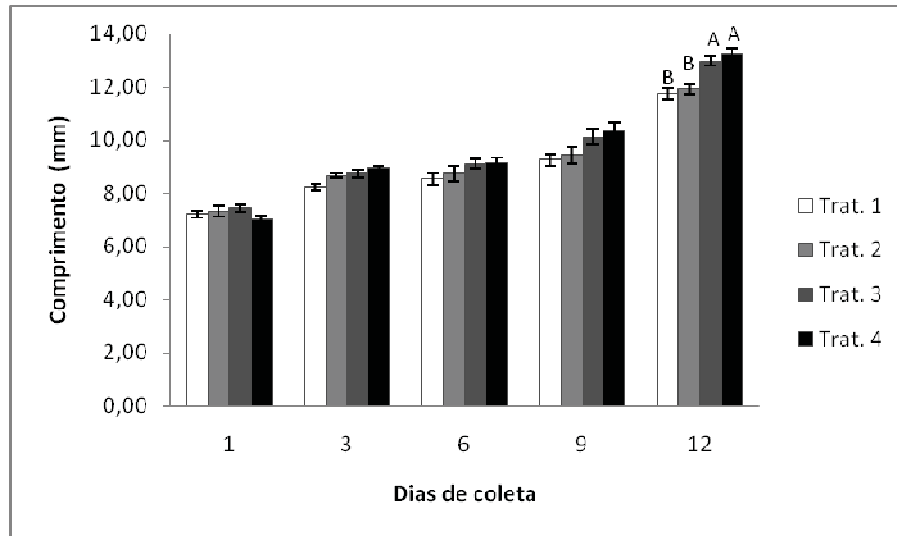


Figura 5 - Valores médios (\pm EP) do comprimento corporal (mm) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Temperatura da água: 26-28°C.

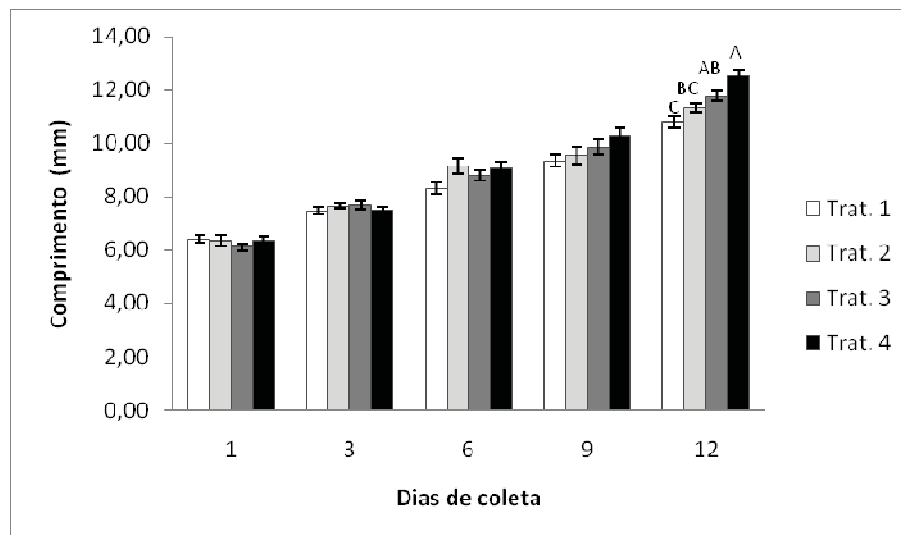


Figura 6 - Valores médios (\pm EP) do comprimento corporal (mm) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Temperatura da água: 19-31°C.

Tabela 1 - Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 26-28°C.

	Dias de coleta			
	01 - 03	01-06	01-09	01-12
Trat. 1	14,53B	17,14B	15,54B	17,39B
Trat. 2	24,11A	22,81A	16,18B	21,65A
Trat. 3	23,88A	21,34A	21,16A	21,63A
Trat. 4	26,30A	22,17A	22,22A	22,93A

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (coluna) pelo teste de tukey ao nível de 5% de significância.

Tabela 2 - Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 19-31°C.

	Dias de coleta			
	01 - 03	01-06	01-09	01-12
Trat. 1	26,05	19,64B	17,27B	16,93B
Trat. 2	25,23	22,85A	20,66A	18,64AB
Trat. 3	26,04	22,87A	19,58AB	18,76AB
Trat. 4	22,99	23,96A	21,23A	20,91A

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (coluna) pelo teste de tukey ao nível de 5% de significância.

Tabela 3 - Coeficiente de variação do peso (CVp) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 26-28 °C.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	12,80	31,24	18,78	33,81	41,95
Trat. 2	14,11	17,26	23,56	27,42	46,64
Trat. 3	14,58	31,36	31,95	20,75	43,32
Trat. 4	20,10	34,73	25,53	17,38	50,95

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração.

Tabela 4 - Coeficiente de variação do peso (CVp) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 19-31 °C.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	39,28	34,39	25,50	33,40	54,06
Trat. 2	38,43	21,42	20,28	38,35	37,06
Trat. 3	37,90	33,68	17,03	29,45	37,14
Trat. 4	41,24	19,60	27,63	36,02	47,29

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração.

Tabela 5 - Coeficiente de variação do comprimento (CVc) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 26-28 °C.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	5,70	4,14	6,22	7,27	8,48
Trat. 2	6,91	2,67	9,65	10,47	7,32
Trat. 3	4,36	5,91	6,10	9,35	6,67
Trat. 4	7,08	3,16	6,33	9,66	6,84

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração.

Tabela 6 - Coeficiente de variação do comprimento (CVc) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 19-31 °C.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	6,41	5,76	7,54	8,17	11,25
Trat. 2	8,59	4,19	10,43	11,52	8,77
Trat. 3	5,92	8,02	7,48	10,26	8,48
Trat. 4	6,81	4,49	7,68	11,12	9,12

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração.

Tabela 7 - Conteúdo estomacal de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 26-28 °C.

Dias de coleta	Tratamento	*Tipo de alimento (%)		Canibalismo (%)
		% larvas c/ Zooplâncton	% larvas c/ Ração	
1	1	42	0	15 ^a
1	2	47	0	17 ^a
1	3	55	0	11 ^{ab}
1	4	59	0	9 ^b
3	1	73	67	43 ^a
3	2	69	72	31 ^b
3	3	83	83	27 ^b
3	4	93	83	25 ^b
6	1	100	88	12 ^a
6	2	100	100	0 ^b
6	3	100	100	0 ^b
6	4	100	89	0 ^b
9	1	100	100	0
9	2	100	100	0
9	3	100	100	0
9	4	100	100	0
12	1	100	100	0
12	2	100	100	0
12	3	100	100	0
12	4	100	100	0

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

*Porcentagem de cada item alimentar no trato gastrointestinal de larvas de matrinxã.

Tabela 8 - Conteúdo estomacal de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentadas com uma dieta suplementada com triptofano. Temperatura da água: 19-31 °C.

Dias de coleta	Tratamento	Tipo de alimento (%)		Canibalismo (%)
		% larvas c/ Zooplâncton	% larvas c/ Ração	
1	1	43	0	20 ^a
1	2	38	0	17 ^{ab}
1	3	47	0	14 ^b
1	4	55	0	21 ^a
3	1	100	67	37
3	2	100	63	35
3	3	100	83	31
3	4	98	67	30
6	1	100	88	14 ^a
6	2	100	100	7 ^b
6	3	100	100	9 ^b
6	4	100	89	5 ^b
9	1	100	100	0
9	2	100	100	0
9	3	100	100	0
9	4	100	100	0
12	1	100	100	0
12	2	100	100	0
12	3	100	100	0
12	4	100	100	0

Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração; Trat.4 - ração suplementada com 2,96g / 100g ração. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

*Porcentagem de cada item alimentar no trato gastrintestinal de larvas de matrinxã.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquac. Res.**, v.36, p.685-697, 2005.
- ALDEGUNDE, M.; GARCIA, J.; SOENGAS, J. L.; ROZAS, G. Uptake of tryptophan into brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Zool.**, v.282, p.285–289, 1998.
- ALDEGUNDE, M.; SOENGAS, J. L.; ROZAS, G. Acute effects on tryptophan hydroxylation rate in brain regions (hypothalamus and medulla) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Zool.**, v.286, p.131–135, 2000.
- BERLINSKY, D. L.; TAYLOR, J.C.; HOWELL, R. A., BRADLEY, T. M.; SMITH, T. I. J.; 2004. The effects of temperature and salinity on early life stages of black sea bass *Centropristis striata*. **J. World Aquac. Soc.**, v.35, p.335–344.
- BERNARDINO, G.; SENHORINI, J. A.; FONTES, N. A.; BOCK, C. L.; MENDONÇA, J. O. J. Propagação artificial do matrinchã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), (*Teleostei, Characidae*). **B. Tec. CEPTA**, v.6, p.1-9, 1993.
- BIDWELL, D. A.; HOWELL, W. H. The effect of temperature on first feeding, growth, and survival of larval witch flounder *Glyptocephalus cynoglossus*. **J. World Aquac. Soc.**, v.32, p.373–384, 2001.
- BOADLE-BIBER, M. C. Regulation of serotonin synthesis. Prog. Biophys. **Mol. Biol.**, v.60, p.1–15, 1993.
- DECKEL, A. W. Behavioral changes in *Anolis carolinensis* following injection with fluoxetine. Behav. **Brain Res.**, v.78, p.175– 82, 1996.

FERNSTROM, J. D. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. **Physiol. Rev.**, v.60, p.484–546, 1983.

FERRIS, C. F.; MELLONI, R. H.; KOPPEL, G.; PERRY, K. W.; FULLER, R. W.; DELVILLE, Y. Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. **J. Neurosci.**, v.17, p.4331– 4340, 1997.

FIELDER, D. S; BARDSLEY, W. J; ALLAN, D. L.; PANKHURST, P. M. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. **Aquac.**, v.250, p.201–214, 2005.

FOX, L. R. Cannibalism in natural populations. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, v.6, p. 87-106, 1975.

GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In **Espécies nativas com potencial para a piscicultura**. BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. (Eds.). Editora Universidade Federal de Santa Maria, 2ª ed., p.149-168, 2010.

GOMES, L.C.; BALDISSEROTO, B.; SENHORINI, J.A. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus*, in ponds. **Aquac.**, v.183, p.73-81, 2000.

GRACIA-LÓPEZ, V.; KIEWEK-MARTÍNEZ, M.; MALDONADO-GARCÍA, M. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. **Aquac.**, v.237, p.485–498, 2004.

GRIMMETT, A.; SILLENCE, M.N. Calmatives for the excitable horse: A review of L-tryptophan. *The Veterinary Journal*, v.170, p. 24–32, 2005.

HART, P. R.; HUTCHINSON, W. G.; PURSER, G. J. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). **Aquac.**, v.144, p.303–311, 1996.

HARDY, R. S.; LITVAK, M. K.; Effects of temperature on the early development, growth, and survival of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus*, yolk-sac larvae. **Environ. Biol. Fish.**, v.70, p.145–154, 2004.

HOGLUND, E; BAKKE, M. J.; OVERLI, O.; WINBERG, S.; NILSSON, G. E. Supression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. **Aquac.**, v.249, p.1-4, 2005.

HOSHIBA, M. A. **Enriquecimento da alimentação das larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) com aminoácidos. Influência no crescimento inicial e sobrevivência das larvas.** 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

HSEU, J. R.; LU F. I.; SU, H. M.; WANG, L. S.; TSAI, C. L.; HWANG, P. P. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. **Aquac.**, v.1, p.1-12, 2003.

JOBLING, M. **Fish Bioenergetics.** Chapman and Hall: London, 309 pp. (1994).

JOHNSTON, W. L.; ATKINSON, J. L.; HILTON, J. W.; WERE, K. E. Effect of dietary tryptophan on plasma and brain tryptophan, brain serotonin, and brain 5-hydroxyindoleacetic acid in rainbow trout. **J. Nutr. Biochem.**, v.1, p.49–54, 1990.

JOHNSTON, T. A.; MATHIAS, J. A. The effects of temperature on feeding in zooplanktivorous walleye, *Stizostedion vitreum*, larvae. **Environ. Biol. Fish.**, v.40, p.189–198, 1994.

KAMLER, E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. **Rev. Fish Biol. Fish.**, v.12, p.79–103, 2002.

KUBITZA, F. **Qualidade de água no cultivo de peixes e camarões**. Jundiaí-SP, p. 229, 2003.

LANDINES, M. A. **Efeito da triiodotironina (T₃) no desenvolvimento embrionário e no desempenho das larvas de pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum*), piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e dourado (*Salminus maxillosus*)**. 146f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

LARSON, E. T.; SUMMERS, C. H. Serotonin reverses dominant social status. **Behav. Brain Res.**, v.121, p.95– 102, 2001.

LEONARDO, A. F. G. **Ação da triiodotironina na larvicultura da piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e matrinxã (*Brycon cephalus*)**. 82f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

LEPAGE, O.; LARSON, E. T.; MAYER, I.; WINBERG, S. Tryptophan affects both gastrointestinal melatonin production and interrenal activity in stressed and nonstressed rainbow trout. **J. Pineal Res.**, v.38, p.264–271, 2005.

LEPAGE, O.; TOTTMAR, O.; WINBERG, S. Elevated dietary intake of l-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, v.205, p.3679– 3687, 2002.

LEPAGE, O.; VILCHEZ, I. M.; POTTINGER, T. G.; WINBERG, S. Timecourse of the effect of dietary l-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p.3589– 3599, 2003.

LOPES, R.N.M.; FREIRE, R.A.B.; VICENSOTTO, J.R.M.; SENHORINI, J.A. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Gunther, 1869, (Pisces, Characidae). **B. Tec. CEPTA**, v.8, p.25-39, 1995.

LUZ, R. K. **Aspectos da larvicultura do trairão *Hoplias lacerdae*: manejo alimentar, densidade de estocagem e teste de exposição ao ar**. 120f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2004.

LUZ, R. K.; REYNALTE-TATAJE, D. A.; ZANIBONI FILHO, E.; SILVA, S. H. Cultivo em água verde, durante a fase de canibalismo de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*. In: XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia, Itajaí, 2002. **Anais...** Itajaí/SC. 2002. p. 281.

PAPOUTSOGLU, S. E.; KARAKATSOULI, N.; CHIRAS, G. Dietary l-tryptophan and tank colour effects on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. **Aquac. Eng.**, v.32, p.277–284, 2005.

PEDREIRA, M. M. **Comparação entre sistemas intensivos de criação para larvas de *Colossoma macropomum* e *Brycon orbignyanus* (Teleostei, Characiformes)**. Jaboticabal, Centro de Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista, 2001. 82p. Tese (Doutorado em Aqüicultura) Centro de Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista, 2001.

PEDREIRA, M. M. Comparação entre três sistemas no cultivo de larvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Revista Ceres**, v.50, n.292, p.779-786, 2003.

PEDREIRA, M. M.; TAVARES, L. H S.; SILVA, R. C. Influência do formato do aquário na sobrevivência e no desenvolvimento de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* (Osteichthyes, Characidae). **Rev. Bras. Zootec.**, v.35, n. 2, p.329-333, 2006.

PEDREIRA, M. M.; SANTOS, J. C. E.; SAMPAIO, E. V.; SILVA, J. L.; FERREIRA, F. N. Fontes de erros na mensuração do comprimento e peso de larvas de peixes. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v.30, n.3, p.245-251, 2008.

PEREIRA, A. S.; NUNER, A. P. O. Utilização de diferentes densidades, dietas e formatos de tanque na larvicultura da piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849. (*Characiformes, Characidae*). **Acta Sci.**, v.25, p.55-61, 2003.

REYNALTE-TATAJE D. A.; LUZ, R. K.; MEURER, S.; ZANIBONI FILHO, E.; NUÑER, A. P. O. Influência do fotoperíodo no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Osteichthys, Characidae). **Acta Sci.**, v.24, n.2, p.439-443, 2002.

RUSSO, S., KEMA, I. P.; FOKKEMA, M. R.; BOON, J. C.; WILLEMSE, P. H.; DE VRIES, E. G.; DEN BOER, J. A.; KORF, J. Tryptophan as a link between psychopathology and somatic states. **Psychosom. Med.**, v.65, p.665-671, 2003.

SANCHEZ, C.; HYTTEL, J. Isolation-induced aggression in mice-effects of 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors and involvement of postsynaptic 5-HT1a receptors. **Eur. J. Pharmacol.**, v.264, p.241-247, 1994.

SENHORINI, J. A.; MANTELATTO, F. L. M.; CASANOVA, S. M. C. Growth and survival of larvae of Amazon species "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae) in larviculture ponds. **B. Tec. CEPTA**, v.11, p.13-28, 1998.

SPIX, J. B. VON; AGASSIZ, L. Selecta genera et species piscium quos in itinere per Brasiliam annos MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I... colleget et pingendo curavit Dr J. B. de Spix.... Monachii. Selecta Piscium Brasiliam Part 1: i-xvi + i-ii + 1-82, p.1-48. 1829-31.

TEJPAL, C. S.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; KUMAR, J. A.; MUTHAPPA, N. A.; VIDYA, S.; RAJAN, M. G. Dietary supplementation of L-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings. **Aquac.**, v.293, n.3-4, p.272-277, 2009.

TIBBETTS S. M.; LALL S. P.; ANDERSON D. M. Dietary protein requirement of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) fed practical diets. **Aquac.**, v.186, p.145-155, 2000.

URBINATI, E. C.; SOARES, M. F.; SENHORINI, J. A. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). **J. Aquac. Trop.**, v.18, p.217-224, 2003.

VILLALBA, C.; BOYLE, P. A.; CALIGURI, E. J.; de VRIES, G. J. Effects of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on social behaviors in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). **Horm. Behav.**, v.32, p.184– 191, 1997.

WILSON, R.P. Amino acids and protein. In: HALVER, J.E. (Ed.) **Fish nutrition**. 2.ed. New York: Academic Press, 1989. p.111-151

WINBERG, S.; ØVERLI, Ø.; LEPAGE, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. **J. Exp. Biol.**, v.204, p.3867–3886, 2001.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Tradução Vera Lucia Mixtra Chama. Brasília: FAO/CODECASF/CNPq, 1983, 220p.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. **Rev. Colom. Cienc. Pec.**, v.19, n.2, 2006.

CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DA FLUOXETINA E DO PARACLOROFENILALANINA NO DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA SOBREVIVÊNCIA LARVAL DE MATRINXÃS SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Influência da Fluoxetina e do Paraclorofenilalanina no Desenvolvimento Inicial e na Sobrevivência Larval de Matrinxãs Submetidos a Diferentes Temperaturas.

RESUMO – Nos vertebrados, altos níveis serotoninérgicos estão freqüentemente associados a baixos níveis de agressão, podendo ser considerado um importante mediador da condição social e do comportamento agressivo. Na aquicultura, em sistema de criação intensiva, esse comportamento agressivo é um problema para a produção de alevinos. Em *Brycons*, esse comportamento agressivo tem início na fase larval, entre 30 e 36 h pós eclosão, quando as larvas já apresentam canibalismo intenso, podendo se estender até a fase de juvenis. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar a influência da fluoxetina e do paraclorofenilalanina (PCPA), respectivamente inibidor de recaptação e inibidor da conversão de triptofano em serotonina, na larvicultura de matrinxã. Para o estudo foram utilizadas caixas de fibra de vidro retangulares com capacidade para 40L com 25 litros de água, em sistema de circulação fechado, com temperatura da água controlada (Exp.1 e 3: 26 - 28°C) e temperatura da água sem controle - ambiente (Exp. 2 e 4: 19-31°C). Foram realizados dois experimentos simultâneos, nos quais foram testados os dois fármacos. As larvas dos Exp. 1 e 2 foram submetidas aos tratamentos: Trat.1 (controle, ausência de fluoxetina); Trat. 2 (larvas mantidas em 250 ppb fluoxetina/L); Trat. 3 (500 ppb fluoxetina/L) e Trat. 4 (5000 ppb fluoxetina/L). As larvas dos Exp. 3 e 4 foram submetidas aos tratamentos: Trat.1 (controle, ausência de PCPA); Trat. 2 (larvas mantidas em 10 mg PCPA/L); Trat. 3 (larvas mantidas em 50 mg PCPA/L) e Trat. 4 (larvas mantidas em 100 mg PCPA/L). Os resultados mostraram que a fluoxetina promoveu menor crescimento e peso das larvas de matrinxã, aumentou a sobrevivência larval e reduziu o canibalismo. A paraclorofenilalanina, nas concentrações testadas, promoveu diminuição do peso e crescimento larval, mas não afetou a sobrevivência. A

fluoxetina e a paraclorofenilalanina parecem ter afetado a atividade serotoninérgica alterando o comportamento e desempenho das larvas de matrinxãs.

Palavras - chave: Agressividade, Larvicultura, Serotonina

ABSTRACT – In vertebrates, high levels of serotonin are often related to low levels of aggressiveness. Serotonin is considered an important mediator of the aggressive behavior in animals. In aquaculture, in intensive farming systems, such behavior is a problem to the seed production. In *Brycons*, the aggressiveness begins in the early stage of life, between 30 and 36 h after hatching, when larvae present high cannibalism that can be present until juvenile stage. Thus, the aim of this study was to evaluate the influence of fluoxetine and paraclorofenilalanine (PCPA), an inhibitor of 5-HT uptake and inhibitor of TRP., respectively, in the early stage of matrinxã. The study used rectangular tanks of glass fiber (25 liters), in a closed system, with water controlled temperature (Exp.1 and Exp. 3: 26 - 28°C) and ambient temperature without control (Exp. 2 and Exp. 4: 19-31°C). Two experiments were simultaneously performed, testing both substances (fluoxetine and PCPA). Larvae of the Exp. 1 e 2 were submitted to the treatments: Trat.1 (control, no fluoxetine); Trat. 2 (larvae were exposed to 250 ppb fluoxetine/L); Trat. 3 (500 ppb fluoxetine/L) and Trat.4 (5000 ppb fluoxetine/L). Larvae of the Exp. 3 and 4 were submitted to: Trat.1 (controle, no PCPA); Trat. 2 (larvae were exposed to 10 mg PCPA/L); Trat. 3 (50 mg PCPA/L); and Trat. 4 (100 mg PCPA/L). The results showed that fluoxetine promoted lower growth but increased the survival and reduced cannibalism of matrinxã larvae. The PCPA in the tested concentrations promoted reduced growth and did not affect the survival of larvae. Fluoxetine and PCPA seems to affect the serotonergic activity changing the behavior and growth of matrinxã in its early stage of life.

Key words: Aggressiveness, Rearing, Serotonin

INTRODUÇÃO

A serotonina, descoberta em 1930, foi denominada “enteramine” por ter sido primeiramente extraída do intestino (ERSPAMER e ASERO, 1952). A partir de sua descoberta, muitos estudos foram desenvolvidos e já foram identificados 14 receptores de serotonina pertencentes a sete famílias (5-HT1, 5-HT2, 5-HT3, 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6 e 5-HT7) (HOYER et al., 1994; 2002). A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é um neurotransmissor sintetizado a partir do aminoácido triptofano (TRP) no sistema nervoso central e no trato gastrointestinal por células enterocromafins. Estudos indicam sua participação nas mais diversas funções, como a regulação do sono, apetite, humor, secreções neuroendócrinas, comportamento sexual e funções gastrointestinais, por meio da interação com diferentes receptores (BARNES e SHARP, 1999; HOYER et al., 2002). Atualmente, o comportamento agressivo tem sido associado à função serotoninérgica e passou a ser objeto de estudos em diversas espécies, como crustáceos (HUBER et al., 1997), peixes (LORENZI et al., 2009), macacos (HOWELL et al., 2007) e principalmente em humanos (COCCARO et al., 1998).

Nos vertebrados, altos níveis serotoninérgicos são freqüentemente associados a baixos níveis de agressão, sendo a serotonina considerada um importante mediador da condição social e do comportamento agressivo (WINBERG et al., 1991; 1992). Estudos indicam que a atividade serotoninérgica elevada, além de diminuir a agressão, pode reverter relações de dominância (SANCHEZ e HYTTEL, 1994; DECKEL, 1996; FERRIS et al., 1997; VILLALBA et al., 1997; LARSON e SUMMERS, 2001). A atividade serotoninérgica foi relacionada à hierarquia de dominância social do “Arctic char” (*Alpinus salvelinus*) e de ciclídeos (*Haplochromis burtoni*) (WINBERG et al., 1997; OVERLI et al., 1998), no comportamento alimentar de truta (*Oncorhynchus mykiss*) (WINBERG et al., 1993) e no comportamento agonístico do “damselfish” (*Pomacentrus partitus bicolor*) (WINBERG et al., 1996). Além disso, o sistema serotoninérgico tem sido associado ao controle de crescimento, ingestão de alimentos e comportamento agressivo de peixes (PEDRO et al., 1998; MENNIGEN et al., 2009).

O comportamento agressivo, segundo Hickman et al. (2004), pode ser definido como uma ação física ofensiva ou ameaçadora que se refere a qualquer atividade relacionada a luta, seja ela agressão, defesa, submissão ou escape. Esse processo pode ser considerado adaptativo e por recursos limitados, variando de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento e as condições ambientais, para assegurar o acesso à comida e segurança, o sucesso reprodutivo e sobrevivência da prole (JOHANSSON et al., 2002; KARL et al., 2004; ALMEIDA et al., 2005). Na aquicultura, em sistema intensivo de criação, esse comportamento agressivo é um problema (CAMPBELL et al., 1992), principalmente na produção de alevinos. Nos *Brycons*, esse comportamento agressivo tem início na fase larval, entre 30 e 36 h após a eclosão, quando as larvas já apresentam canibalismo intenso (BERNARDINO et al., 1993; MENDONÇA et al., 1994), podendo comprometer em até 93% a sobrevivência da prole.

A utilização de fármacos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (fluoxetina, paroxetina, sertralina, entre outros) e inibidores da conversão de triptofano à serotonina (paraclorofenilalanina) são ferramentas experimentais que podem ser bastante úteis na manipulação da ação da serotonina e na exploração do seu papel na regulação da agressão em peixes (ADAMS et al., 1996; LYNN et al., 2007).

A fluoxetina tem seu efeito decorrente do aumento da concentração de serotonina no sistema nervoso central, devido à inibição da recaptção do neurotransmissor na sinapse neuronal, por se ligar ao receptor de serotonina, aumentando assim sua disponibilidade, o que causa redução da agressividade entre indivíduos. Por outro lado, a paraclorofenilalanina atua de forma contrária à fluoxetina, pois inibe a produção de serotonina, reduzindo seus níveis circulantes, o que pode potencializar os sintomas da agressividade. A atuação destes fármacos foi observada em estudos com peixes, indicando resultados promissores. Nesse contexto, Perreault et al. (2003) constataram diminuição na agressividade em peixes de recife de coral (*Thalassoma bifasciatum*) submetidos a tratamentos crônicos e agudos de fluoxetina. Do mesmo modo, Lynn et al. (2007) observaram redução de demonstrações agressivas em *Betta splendens* tratados com fluoxetina. Já, Adams et al. (1996) verificaram que uma única injeção do inibidor da síntese de serotonina, paraclorofenilalanina foi responsável pelo aumento da agressão

em ciclídeos (*Cichlasoma meeki*), evidenciando que a baixa atividade serotoninérgica está associada a aumento da agressividade ou dominância social.

Dessa forma, fica clara a importância de estudos com a fluoxetina e a paraclorofenilalanina na larvicultura de peixes, objetivando a compreensão da relação entre a 5-HT e a agressividade, bem como seu mecanismo de ação. O objetivo do presente estudo foi verificar a influência da serotonina na larvicultura de matrinxã por meio de estudos da manipulação da atividade serotoninérgica com a utilização da fluoxetina e paraclorofenilalanina.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécie estudada e local do experimento

Este estudo tem como modelo a espécie matrinxã, *Brycon amazonicus* (SPIX E AGASSIZ, 1829) e foi realizado no CEPTA/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – Pirassununga - SP, Laboratório de Fisiologia de Peixes do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV – Unesp, Jaboticabal - SP e no Laboratório de Aqüicultura da Universidade Federal da Amazônia – ICSEZ (Parintins - AM).

Unidades experimentais, manejo e reprodução

O estudo utilizou caixas de fibra de vidro retangulares, com capacidade de 40 L e volume de água aproximado de 25 litros, em sistema de circulação fechado, aeração artificial constante, por meio de compressor e pedras porosas, e com a temperatura da água controlada nos Experimentos 1 e 3 (26-28°C) ou ambiente, não controlada, no Experimento 2 e 4 (19-31°C).

As larvas utilizadas foram obtidas por reprodução de matrizes com 2,5 anos de idade, mantidas em viveiros de terra escavados e alimentadas com ração comercial (28% PB), duas vezes ao dia. Os critérios para a seleção dos reprodutores foi o volume e a flacidez da região ventral e hiperemiação da papila urogenital da fêmea, e o grau de fluidez do sêmen do macho (BERNARDINO et al., 1993). Foi utilizado como agente

indutor da liberação dos gametas, extrato de hipófise de carpa comum. As fêmeas receberam uma dose inicial (0,5 mg extrato hipófise/kg peixe) na base da nadadeira peitoral e, após intervalo de cerca de 270 horas graus, foi aplicada a segunda dose do hormônio (5 mg extrato hipófise/kg peixe). Os machos receberam uma única dose (1 mg extrato hipófise/kg peixe) administrada no momento da segunda aplicação nas fêmeas. A extrusão dos ovócitos foi realizada manualmente.

Os ovócitos de todas as fêmeas foram misturados e, posteriormente, separados em porções iguais, que foram colocadas para eclodir em incubadoras tipo funil, de fibra de vidro com capacidade de 80 L, modelo vertical, com circulação constante da água. Após a eclosão, mantendo uma distribuição homogênea e aleatória dos lotes, os animais foram agrupados na proporção de 16 larvas/L, e submetidos aos seguintes tratamentos:

Experimento 1 – Temperatura da água controlada (26 - 28 °C)

Experimento 2 – Ausência de controle da temperatura da água (19 - 31 °C)

Tratamento 1 Larvas mantidas em água

Tratamento 2 Larvas mantidas em solução de 250 ppb de fluoxetina/L

Tratamento 3 Larvas mantidas em solução de 500 ppb de fluoxetina/L

Tratamento 4 Larvas mantidas em solução de 5000 ppb de fluoxetina/L

Experimento 3 – Temperatura da água controlada (26 - 28 °C)

Experimento 4 – Ausência de temperatura da água controlada (19 - 31 °C)

Tratamento 1 Larvas mantidas em água

Tratamento 2 Larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L

Tratamento 3 Larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L

Tratamento 4 Larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L

As concentrações de fluoxetina utilizadas foram calculadas de acordo com Henry e Black (2007) e as concentrações de paraclorofenilalanina de acordo com Tsai e Wang

(1999). As larvas permaneceram nas caixas, imersas nas diferentes soluções durante todo o período experimental, de acordo com os tratamentos. Os fármacos foram previamente diluídos antes de serem misturados à água das caixas experimentais.

As larvas receberam alimentação natural (500 zooplâncton/larva) a partir de 24 horas pós-eclosão. A partir do primeiro dia de vida foi oferecida adicionalmente ração comercial (56%PB) para larvas de todos os tratamentos.

Durante o período experimental, às 8:00 e 17:00 horas, foram mensurados: temperatura, oxigênio dissolvido ($5,18 \pm 1,03$ mg/L), pH ($6,72 \pm 0,2$) e amônia não ionizada da água das caixas ($0,003 \pm 0,0008$ mg/L). As caixas foram sifonadas duas vezes por semana ou quando necessário, com o auxílio de uma mangueira de borracha, para retirada de restos da alimentação e os detritos.

Coleta das larvas

As coletas foram realizadas nos seguintes tempos: 1, 3, 6, 9 e 12 dias após o início do período experimental. Oito larvas foram fixados em Karnovsky e mantidos em álcool 70%, para avaliação do peso e comprimento corporal, taxa de crescimento específico, coeficiente de variação do peso e comprimento, conteúdo estomacal e sobrevivência.

O peso das larvas e o comprimento total foram determinados com balança analítica (precisão de 5 casas decimais) e paquímetro digital e estereomicroscópio. Foi levado em consideração, durante as medições larvais, o protocolo de Pedreira et al. (2008), para garantir maior precisão nos dados.

A taxa de crescimento específico foi calculada de acordo com a fórmula: TCE (%/dia) = $100 \times [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{dias}]$. O coeficiente de variação do peso e do comprimento foi obtido a partir da fórmula: CV = (desvio padrão / média) $\times 100$ (JOBLING, 1994). O coeficiente de variação, quando multiplicado por 100, corresponde à porcentagem de variação da população. Foi verificado também o conteúdo estomacal: o tubo digestório de 40 larvas por tratamento e amostragem, por meio de microcirurgia, usando lupa com aumento de 4,5 vezes e com auxílio de agulhas. Sendo observado a presença e o tipo do alimento consumido e a porcentagem de canibalismo. A

sobrevivência final foi calculada utilizando-se a fórmula: $S(\%) = (n^{\circ} \text{ final de alevinos} / n^{\circ} \text{ inicial}) \times 100$ (SENHORINI et al., 1998).

Análise Estatística

O delineamento utilizado em cada experimento foi inteiramente casualizado (DIC), com 3 diferentes concentrações do fármaco utilizado e 1 testemunha. Cada tratamento foi distribuído em 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias feita pelo teste de Tukey (nível de 5%), no programa estatístico SAS (9.12).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fluoxetina

Os Experimentos 1 e 2 avaliaram o efeito da fluoxetina no desenvolvimento inicial das larvas de matrinxã. A fluoxetina é um inibidor da recaptção de serotonina nas sinapses que promove maior disponibilidade de serotonina no sistema nervoso central e pode ser uma ferramenta em estudos na regulação da agressão em peixes (ADAMS et al., 1996; LYNN et al., 2007), como no presente estudo.

As Fig. 1 e 2 mostram os valores médios da sobrevivência das larvas mantidas em solução de fluoxetina com e sem temperatura da água controlada, respectivamente. Na Fig. 1, observa-se que a sobrevivência das larvas do Trat. 4 foi 316,7 % superior às do Trat. controle. O mesmo perfil pode ser observado na Fig. 2, sendo o Trat. 4 superior ao controle (221,5 %), embora sem diferença estatística. Comparando-se numericamente as Fig. 1 e 2, observa-se que a resposta das larvas à fluoxetina, em condições de temperatura não controlada (19-31 °C), foi prejudicada não ocorrendo diferenças significativas entre os tratamentos, sugerindo os efeitos benéficos do controle da temperatura no sistema de criação.

Durante o experimento, observou-se que as larvas tratadas com fluoxetina se mostravam mais calmas e menos agressivas, podendo explicar a maior taxa de

sobrevivência e comprovando a relação deste fármaco, e da serotonina, com a mediação do comportamento agressivo. Perreault et al. (2003) relataram redução na agressividade em “bluehead wrasse” (*Thalassoma bifasciatum*) submetidos a tratamentos crônicos e agudos de fluoxetina. Do mesmo modo, Lynn et al. (2007) observaram redução de demonstrações agressivas em *Betta splendens* tratados com fluoxetina. Confirmando a ação da fluoxetina na dinâmica da serotonina, em vertebrados, altos níveis serotoninérgicos foram associados a baixos níveis de agressão, sendo a serotonina considerada um importante mediador da condição social e do comportamento agressivo (WINBERG et al., 1991; 1992).

A Figura 3 mostra os valores médios do peso das larvas expostas à fluoxetina em temperatura da água controlada (26-28 °C). A partir do 3º dia, observa-se pesos mais baixos nas larvas do Trat. 4. O mesmo perfil se verifica-se no 3º, 6º e 9º dia na Fig. 4, embora sem diferença estatística, mostrando mais uma vez que as flutuações da temperatura da água (19-31 °C) afetaram as respostas das larvas à fluoxetina. De acordo com Gaworechi et al. (2008), a fluoxetina diminui a habilidade de captura da presa podendo ocasionar em menores pesos devido a menor taxa da frequência alimentar. Por outro lado, a fluoxetina pode apresentar um efeito anoréxico nos peixes (MENNIGEN et al., 2010), realçando a ação da serotonina. Estudos têm associado à ação da serotonina com a inibição da ingestão de alimentos em humanos e outros vertebrados (LEIBOWITZ E ALEXANDER, 1998). Em peixes, a administração, central e oral, da 5-HT promoveu efeitos anoréxicos em goldfish (DE PEDRO et al., 1998) e no “sea bass” europeu (Rubio et al., 2006).

As Figuras 5 e 6, apresentam os valores médios de comprimento corporal das larvas mantidas em solução com fluoxetina em temperatura da água controlada (26-29 °C) ou não (19-31 °C). Observou-se, em ambas as condições, comportamento semelhante ao que ocorreu em relação ao peso corporal, tanto na redução significativa do parâmetro nos dias 9 e 12 de criação, quanto a perda da significância estatística por efeito das oscilações da temperatura da água. Esses resultados corroboram os resultados de peso corporal encontrados neste estudo e a participação indireta da

fluoxetina, influenciando o comportamento alimentar das larvas e conseqüentemente seu desempenho.

As taxas de crescimento específico das larvas mantidas em temperatura controlada (26-28° C) ou não (19-31 °C) e submetidas aos diferentes tratamentos com fluoxetina podem ser observadas nas Tabelas 1 e 2. Observa-se que as maiores médias de crescimento ocorrem no período de 1 a 9 dias, mostrando a grande importância dessa fase na larvicultura do matrinxã. No caso das larvas do Trat. 4, como verificado nos resultados de peso e comprimento corporal, o crescimento foi inferior ao das larvas dos demais tratamentos, de modo geral, nas duas condições de temperatura estudadas.

As Tabelas 3, 4, 5 e 6 apresentam os coeficientes de variação do peso e comprimento das larvas mantidas em solução de fluoxetina com a temperatura da água controlada (26-28 °C) ou não (19-31 °C). Estes indicadores têm sido considerados importantes para se verificar heterogeneidade num lote de peixes, sugerindo a existência de predação entre as larvas (KESTEMONT et al., 2003). Entretanto, pela análise dos resultados encontrados pode-se verificar que ocorrem grandes variações nos dois parâmetros, sem um padrão que permita inferir efeito dos tratamentos.

Em geral, a homogeneidade de lotes na piscicultura é uma característica interessante, visto que larvas fisicamente semelhantes disputam igualmente pelo alimento, ocasionando em comportamentos menos agressivos, o que contribui para o aumento da produtividade final. Por outro lado, a variação de crescimento, a alta predação e as baixas sobrevivências das larvas, vêm sendo apontadas como os principais entraves na criação intensiva de *Brycons* (KESTEMONT et al., 2003).

A ocorrência de canibalismo foi verificada por meio da presença de restos de outras larvas no trato gastrintestinal das larvas. O conteúdo estomacal das larvas expostas à fluoxetina em temperatura da água controlada (26-28° C) ou não (19-31 °C) pode ser observado nas Tabelas 7 e 8. Observa-se que a alimentação das larvas no primeiro dia é composta apenas por alimentos vivos, não sendo encontrada presença de ração. No 3º dia, já se pode observar presença de ração no estômago de larvas que foram expostas a fluoxetina, em ambas as temperaturas da água. Já, aos 6 dias de

vida, larvas de todos os tratamentos ingeriram ração, além do zooplâncton, sendo que não se encontrou restos de outras larvas nas larvas expostas a fluoxetina em temperatura controlada, do mesmo modo que não se encontrou restos nas larvas expostas à maior concentração de fluoxetina em condições de oscilações naturais de temperatura. As mesmas explicações aventadas anteriormente na discussão dos resultados de sobrevivências das larvas de matrinxã são válidas aqui, quando se observa, por meio do conteúdo estomacal das larvas, redução da predação e do canibalismo. Durante o experimento, as larvas expostas à fluoxetina se mostravam mais calmas e menos agressivas, comprovando a relação deste fármaco, e da serotonina, com a mediação do comportamento agressivo. Aparentemente, ocorreu na matrinxã a mesma redução da agressividade observada em *Thalassoma bifasciatum* submetido a tratamentos crônicos e agudos de fluoxetina (PERREAULT et al., 2003) e na redução de demonstrações agressivas em *Betta splendens* tratados com fluoxetina (LYNN et al., 2007).

A alimentação com zooplâncton teve início no 1º dia de vida das larvas e a presença de ração foi verificada no 3º dia da coleta, diferente da recomendação de Kubitz et al. (2003) que sugere que o arraçoamento deve ser iniciado do 7º ao 10º dia após estocagem das pós larvas. Além disso, observou-se nas larvas tratadas com fluoxetina, no experimento com temperatura da água controlada, uma menor quantidade de alimentos em relação ao grupo controle. Estes resultados sugerem que a fluoxetina atue no comportamento alimentar das larvas de matrinxã, corroborando os estudos em goldfish (DE PEDRO et al., 1998) e no “sea bass” europeu (RUBIO et al., 2006) que mostraram que a administração, central e oral, da 5-HT promoveu efeitos anoréxicos nos peixes.

Sendo assim, a apesar da diminuição do comportamento alimentar, a fluoxetina pode ser mais uma alternativa para minimizar o comportamento agressivo nas larvas de matrinxã, ocasionando em uma maior sobrevivência e rentabilidade para o produtor.

Paraclorofenilalanina

Os Experimentos 3 e 4 avaliaram o efeito do fármaco paraclorofenilalanina (PCPA) no desenvolvimento inicial das larvas de matrinxã. A PCPA é um inibidor da conversão de triptofano em serotonina, podendo ser utilizado como ferramenta para o entendimento do papel deste neurotransmissor na regulação do comportamento agressivo em peixes (ADAMS et al., 1996; LYNN et al., 2007), como no presente estudo.

As Figuras 7 e 8 mostram os valores médios da sobrevivência das larvas expostas às soluções de paraclorofenilalanina, em condições controladas de temperatura da água (26-28 °C) ou sem controle, com oscilações naturais (19-31 °C). Os valores encontrados nos diferentes tratamentos não diferiram significativamente entre si, sugerindo que as concentrações utilizadas não foram adequadas para promover os efeitos esperados no processo de redução da produção de serotonina.

As Figuras 9 e 10 apresentam os valores médios de peso das larvas expostas à PCPA, nas duas condições experimentais de temperatura da água. Poucos resultados significativos foram encontrados, mas observa-se, na Fig. 9, redução de peso nas larvas do Trat 2, ao 9º dia, e na Fig. 10, redução do peso de todas as larvas expostas a PCPA no 9º dia de criação, bem como tendência a redução nas duas temperaturas, no 12º dia, a medida que se aumentou a concentração do fármaco.

Respostas semelhantes podem ser verificadas nas Figuras 11 e 12, nas quais são apresentados os valores médios de comprimento corporal das larvas mantidas em solução de PCPA, nas duas condições de temperatura da água.

Redução do peso também foi verificado por Raz e Berger (2010), que atribuíram este fato a diminuição da frequência alimentar dos animais submetidos aos efeitos da paraclorofenilalanina. De acordo com Gaworecki et al. (2008), a diminuição das funções serotoninérgicas no encéfalo, influenciada pela paraclorofenilalanina, leva a diminuição dos níveis de serotonina circulante, tornando os animais mais agitados e agressivos, o que pode alterar o seu hábito alimentar.

Nas Tabelas 9 e 10, estão apresentadas as taxas de crescimento específico das larvas mantidas em temperatura da água controlada (26-28 °C) e sem controle (19-31 °C). Em nenhuma das condições, é possível identificar um padrão definido entre os tratamentos com a PCPA.

Os coeficientes de variação do peso e comprimento das larvas mantidas em solução de PCPA, nas duas condições de temperatura da água de criação, são apresentados nas Tabelas 11, 12, 13 e 14, respectivamente. Não houve um padrão de variação que permita identificar efeito de algum tratamento. A grande variabilidade pode ser associada a ação da PCPA que estaria acentuando a agressividade dos animais, devido a uma diminuição dos níveis serotoninérgicos, ocasionando uma alteração no comportamento habitual da espécie, podendo vir a potencializar o canibalismo, já presente nos *Brycons*, tornando os lotes mais heterogêneos. Boer e Koolhaas (2005) obtiveram resultados semelhantes com ratos tratados com paraclorofenilalanina, que tiveram seu comportamento alterado pelo medicamento, ficando mais agressivos.

O crescimento heterogêneo durante a larvicultura para espécies com hábitos predatórios, como é o caso do gênero *Brycon*, tem sido apontado como um dos grandes problemas na produção destas espécies (KESTEMONT et al. 2003), devendo ser mais estudado.

A análise do conteúdo estomacal das larvas, e presença de restos de outras larvas, foi realizada como indicador da ocorrência de canibalismo. O conteúdo estomacal das larvas expostas à PCPA em temperatura da água controlada (26-28° C) ou não (19-31 °C) pode ser observado nas Tabelas 15 e 16. No primeiro dia de coleta, nas duas condições experimentais, não se encontrou ração no conteúdo estomacal das larvas, indicando a preferência alimentar das larvas por zooplâncton nesta fase do desenvolvimento. Neste dia, aproximadamente 47-53% das larvas não possuíam nenhum tipo de alimento no seu conteúdo estomacal, utilizando provavelmente a reserva endógena do saco vitelínico. A partir do 3º dia de vida, é possível observar a presença de ração e zooplâncton no trato gastrintestinal das larvas de todos os tratamentos.

Em temperatura controlada, ocorre maior canibalismo no grupo de larvas tratadas com a concentração mais alta de PCPA, mas o resultado é conflitante em condições de temperatura sujeita a variações, quando este tratamento e o da concentração intermediária são os que promovem menor ocorrência de canibalismo.

Os resultados encontrados nos tratamentos envolvendo a PCPA sugerem que as concentrações do fármaco utilizadas não foram adequadas para promover os efeitos esperados no processo de inibição da síntese de serotonina.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, verificou-se que a administração da fluoxetina e paraclorofenilalanina na larvicultura do matrinxã promoveu alterações comportamentais nas larvas, de forma mais ou menos evidente, indicando a interação dos fármacos com o mecanismo de regulação da agressão.

No caso da fluoxetina, ela promoveu menor crescimento no peso e comprimento das larvas, mas deve-se considerar que houve aumento da sobrevivência das larvas ao final de 12 dias de criação, fato que indica o potencial benéfico desse fármaco na larvicultura de *Brycons*.

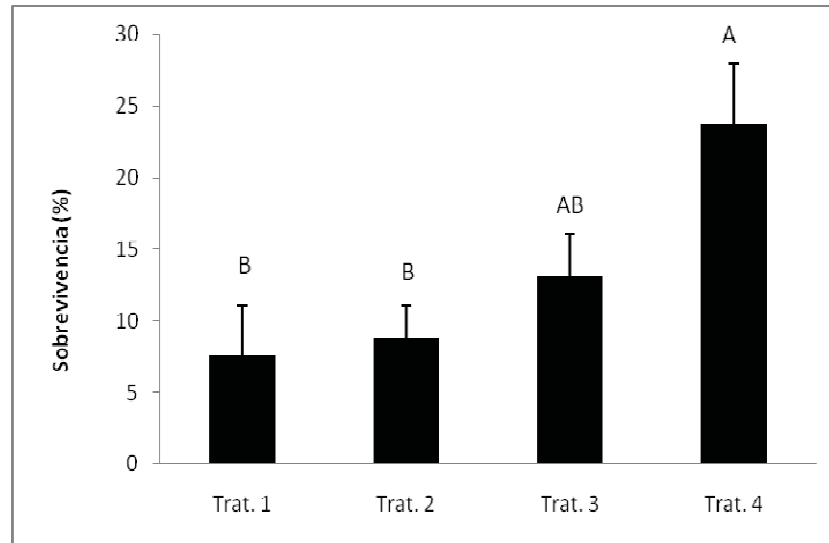


Figura 1 - Taxa de sobrevivência (\pm EP) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

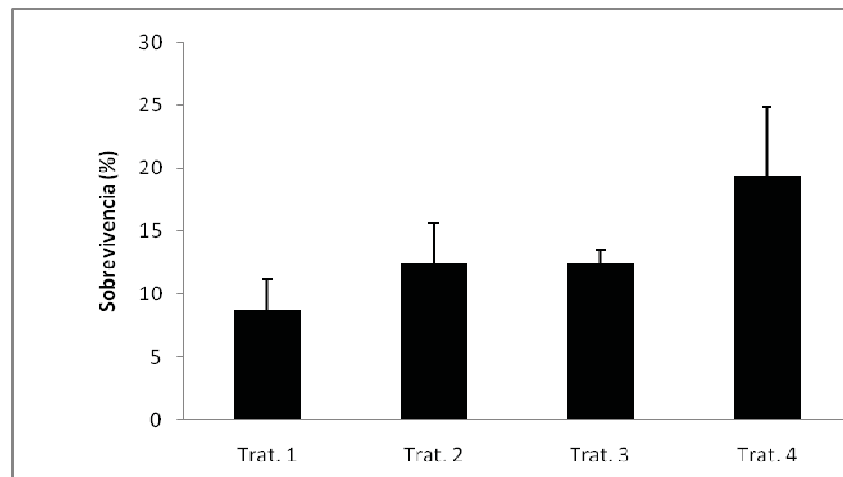


Figura 2 - Taxa de sobrevivência (\pm EP) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L. O experimento foi realizado sem controle da temperatura da água.

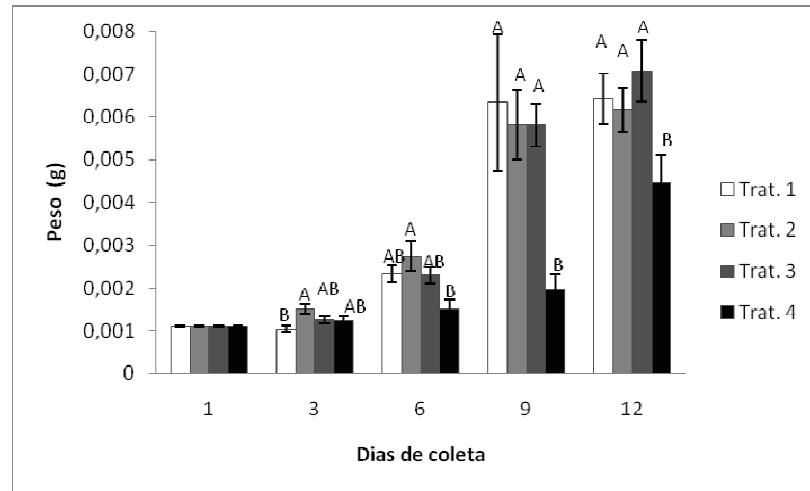


Figura 3 - Valores médios (\pm EP) do peso corporal (g) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas expostas à fluoxetina. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

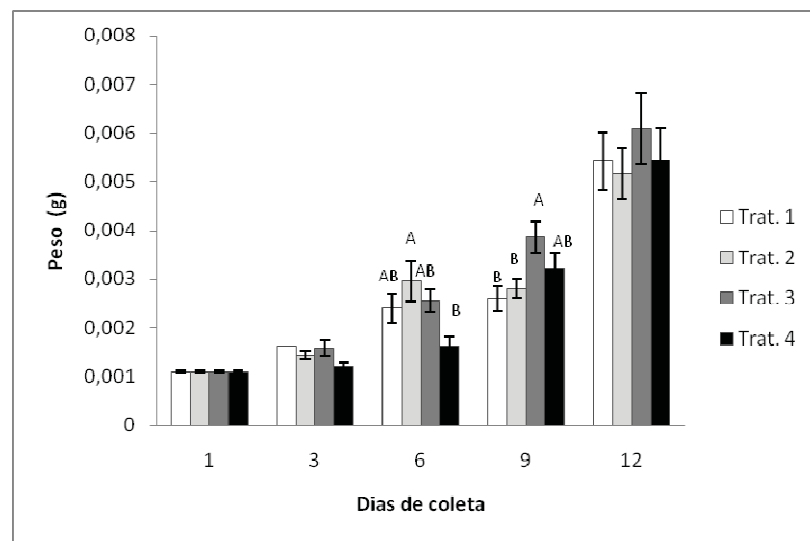


Figura 4 - Valores médios (\pm EP) do peso corporal (g) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L. O experimento foi realizado sem controle da temperatura da água.

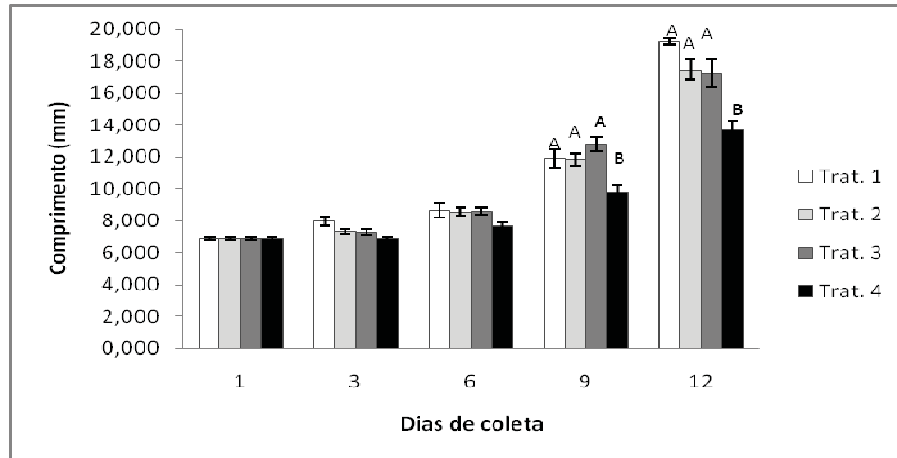


Figura 5 - Valores médios (\pm EP) comprimento (mm) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas expostas à fluoxetina. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

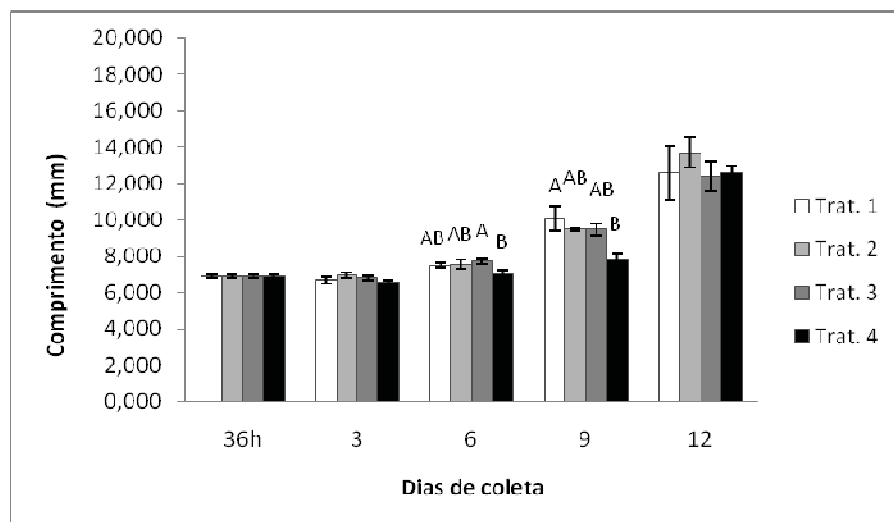


Figura 6 - Valores médios (\pm EP) do comprimento (mm) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas expostas à fluoxetina. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L. O experimento foi realizado sem controle da temperatura da água.

Tabela 1- Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sob condições da temperatura da água controlada.

	Dias de coleta			
	01 - 03	01-06	01-09	01-12
Trat. 1	-1,86	12,45	19,41	14,67
Trat. 2	10,35	15,15	18,44	14,32
Trat. 3	4,13	12,23	18,43	15,48
Trat. 4	3,65	5,31	6,47	11,61

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.

Tabela 2 - Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sem controle da temperatura da água.

	Dias de coleta			
	01 - 03	01-06	01-09	01-12
Trat. 1	12,69	12,91	9,51	13,25
Trat. 2	8,73	16,33	10,34	12,85
Trat. 3	11,86	13,94	13,91	14,21
Trat. 4	2,73	6,42	11,85	13,30

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.

Tabela 3 - Coeficiente de variação do peso (CVp) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sob condições da temperatura da água controlada.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	7,70	20,39	24,58	61,56	47,98
Trat. 2	7,65	25,88	32,33	34,26	92,28
Trat. 3	7,35	25,60	26,38	22,23	69,97
Trat. 4	7,00	35,71	46,61	58,15	43,79

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.

Tabela 4 - Coeficiente de variação do peso (CVp) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sem controle da temperatura da água.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	7,85	13,20	23,78	150,84	56,83
Trat. 2	7,12	27,31	30,11	71,04	110,16
Trat. 3	7,34	20,30	23,54	33,39	81,41
Trat. 4	7,18	35,87	43,54	35,85	35,75

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.

Tabela 5 - Coeficiente de variação do comprimento (CVc) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sob condições da temperatura da água controlada.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	7,34	11,04	13,88	13,29	12,23
Trat. 2	7,88	7,26	8,21	10,11	10,89
Trat. 3	7,39	10,37	7,87	7,22	13,98
Trat. 4	7,11	5,52	7,10	14,26	12,28

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.

Tabela 6 - Coeficiente de variação do comprimento (CVc) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sem controle da temperatura da água.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	7,33	8,51	4,39	13,59	20,15
Trat. 2	7,33	7,63	7,75	1,12	14,74
Trat. 3	7,33	7,40	7,75	10,27	13,60
Trat. 4	7,33	7,37	11,21	11,39	9,58

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.

Tabela 7 - Conteúdo estomacal de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

Dias de coleta	Tratamento	*Tipo de alimento (%)		Canibalismo (%)
		% larvas c/ Zooplâncton	% larvas c/ Ração	
1	1	42	0	23 ^{ab}
1	2	34	0	33 ^a
1	3	43	0	16 ^b
1	4	47	0	16 ^b
3	1	65	0	34 ^a
3	2	56	0	22 ^{ab}
3	3	64	0	17 ^b
3	4	55	45	25 ^{ab}
6	1	100	88	13 ^a
6	2	100	100	0 ^b
6	3	100	100	0 ^b
6	4	100	89	0 ^b
9	1	100	100	0
9	2	100	100	0
9	3	100	100	0
9	4	100	100	0
12	1	100	100	0
12	2	100	100	0
12	3	100	100	0
12	4	100	100	0

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.
*Porcentagem de cada item alimentar no trato gastrintestinal de larvas de matrinxã.

Tabela 8 - Conteúdo estomacal de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas à fluoxetina. O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

Dias de coleta	Tratamento	*Tipo de alimento (%)		Canibalismo (%)
		% larvas c/ Zooplâncton	% larvas c/ Ração	
1	1	33	0	23 ^a
1	2	23	0	17 ^b
1	3	43	0	25 ^a
1	4	24	0	11 ^b
3	1	55	0	32 ^a
3	2	54	0	27 ^{ab}
3	3	48	23	37 ^a
3	4	43	32	25 ^b
6	1	100	77	12 ^{ab}
6	2	100	87	17 ^a
6	3	100	100	8 ^b
6	4	100	89	0 ^b
9	1	100	100	0
9	2	100	100	0
9	3	100	100	0
9	4	100	100	0
12	1	100	100	0
12	2	100	100	0
12	3	100	100	0
12	4	100	100	0

Trat.1 – ausência de fluoxetina; Trat.2 – larvas mantidas em 250 ppb de fluoxetina/L; Trat.3 - larvas mantidas em 500 ppb de fluoxetina/L; Trat.4 - larvas mantidas em 5000 ppb de fluoxetina/L.
*Porcentagem de cada item alimentar no trato gastrintestinal de larvas de matrinxã.

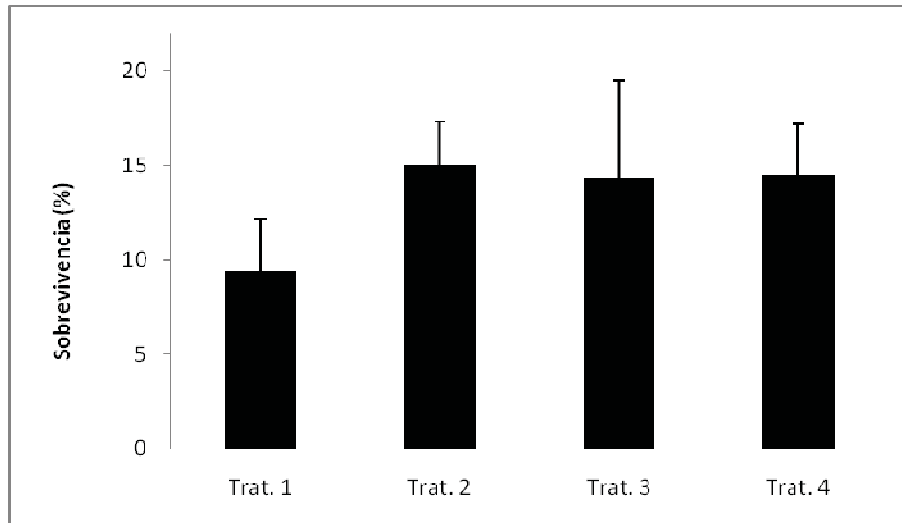


Figura 7- Taxa de sobrevivência (\pm EP) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

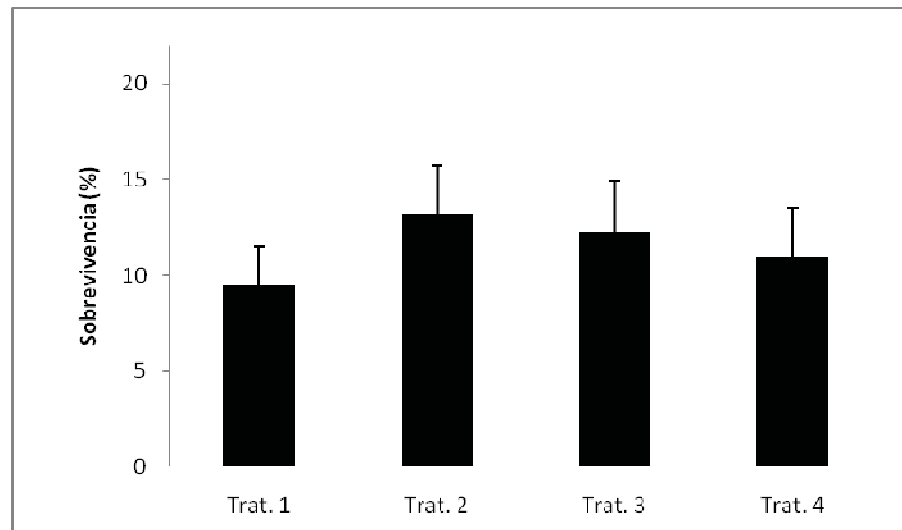


Figura 8 - Taxas de sobrevivência (\pm EP) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

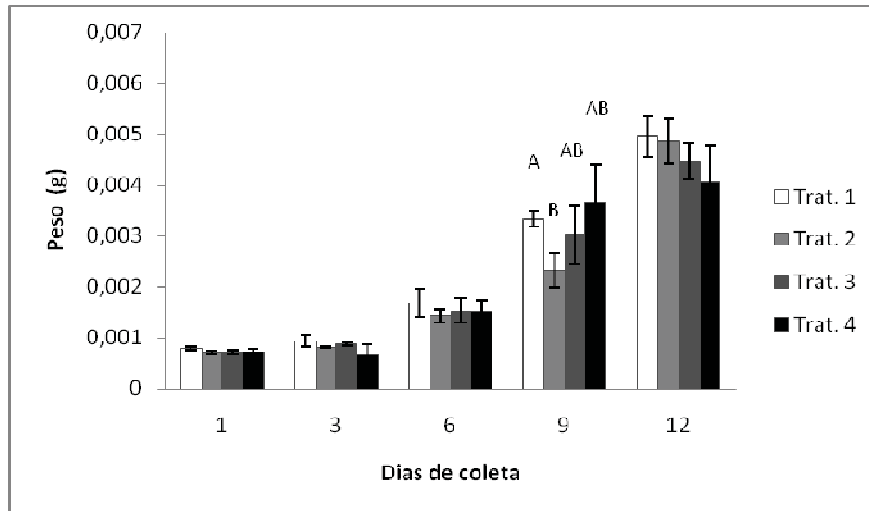


Figura 9 - Valores médios (\pm EP) do peso corporal (g) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

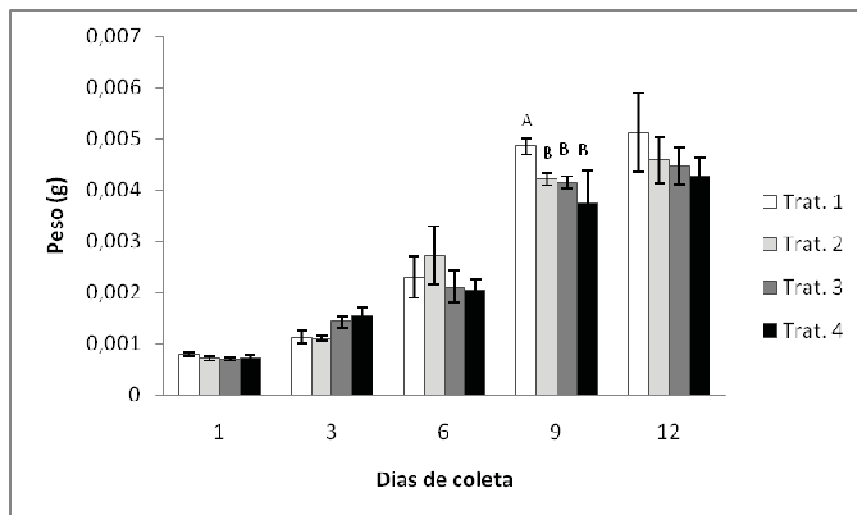


Figura 10 - Valores médios (\pm EP) do peso corporal (g) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas mantidas em solução de paraclorofenilalanina /L. Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de solução ; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg /L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg/L de paraclorofenilalanina. O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

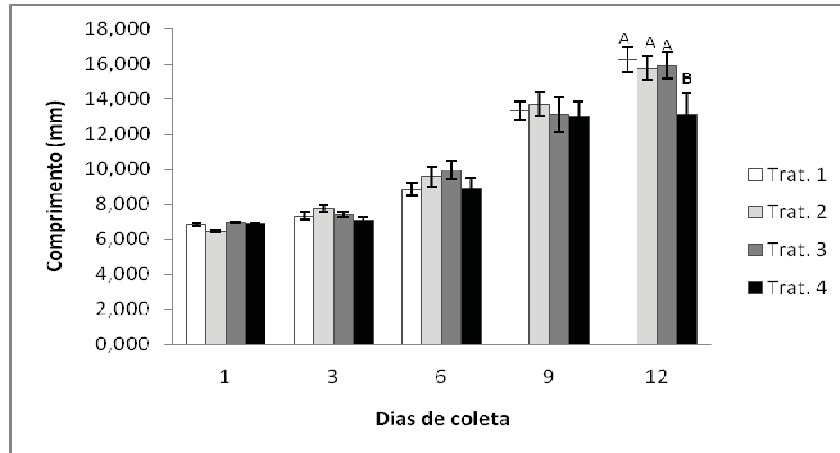


Figura 11 - Valores médios (\pm EP) do comprimento (mm) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

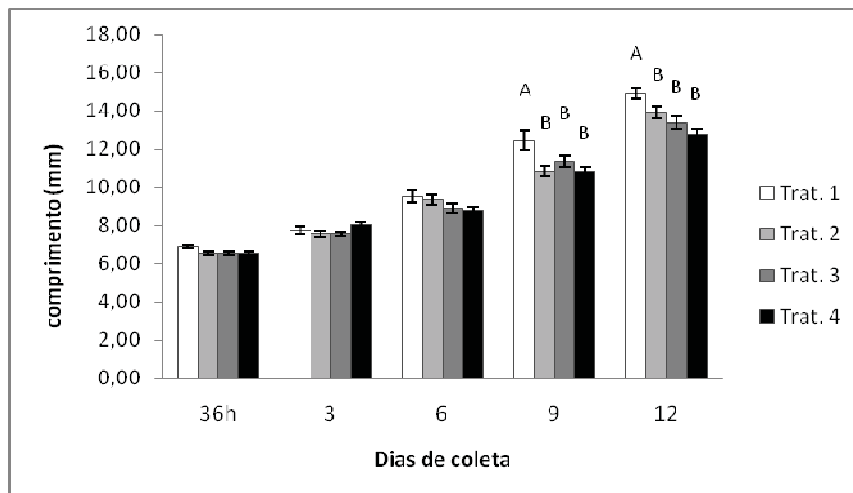


Figura 12 - Valores médios (\pm EP) do comprimento (mm) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvas expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). Letras diferentes indicam diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L. O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

Tabela 9- Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

	Dias de coleta			
	01 - 03	01-06	01-09	01-12
Trat. 1	5,37	12,40	15,92	15,25
Trat. 2	5,41	11,95	13,38	16,18
Trat. 3	6,94	12,71	16,03	15,25
Trat. 4	-2,99	12,40	18,05	14,38

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

Tabela 10 - Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) mantidas em solução de paraclorofenilalanina. O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

	Dias de coleta			
	01 - 03	01-06	01-09	01-12
Trat. 1	11,33	17,72	20,08	15,51
Trat. 2	14,49	22,29	19,68	15,47
Trat. 3	23,95	18,47	19,83	15,48
Trat. 4	25,30	17,28	18,29	14,80

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

Tabela 11 - Coeficiente de variação do peso (CVp) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	48,37	72,73	44,72	42,58	75,19
Trat. 2	40,88	46,34	46,49	87,77	59,45
Trat. 3	46,74	72,97	37,75	49,48	67,16
Trat. 4	32,55	50,00	64,91	54,60	81,42

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

Tabela 12 - Coeficiente de variação do peso (CVp) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	60,94	34,88	43,38	53,39	74,27
Trat. 2	53,72	15,36	51,28	71,23	111,65
Trat. 3	40,88	24,48	45,00	72,20	96,94
Trat. 4	60,25	38,25	30,83	37,37	106,87

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

Tabela 13 - Coeficiente de variação do comprimento (CVc) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	7,41	7,78	3,71	10,27	12,51
Trat. 2	6,71	6,82	6,11	0,77	12,80
Trat. 3	7,89	6,81	6,04	7,14	10,56
Trat. 4	8,54	6,83	8,82	6,90	9,15

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

Tabela 14 - Coeficiente de variação do comprimento (CVc) de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

	Dias de coleta				
	01	03	06	09	12
Trat. 1	7,34	5,57	6,58	6,13	8,11
Trat. 2	6,60	4,25	10,21	10,14	7,12
Trat. 3	8,37	8,14	7,37	9,60	7,48
Trat. 4	8,98	4,20	7,96	10,53	8,95

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

Tabela 15 - Conteúdo estomacal de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura da água controlada.

Dias de coleta	Tratamento	*Tipo de alimento (%)		Canibalismo (%)
		% larvas c/ Zooplâncton	% larvas c/ Ração	
1	1	47	0	18
1	2	55	0	14
1	3	53	0	17
1	4	64	0	21
3	1	77	23	21
3	2	79	33	17
3	3	82	37	14
3	4	93	45	17
6	1	100	88	6 ^{ab}
6	2	100	100	0 ^b
6	3	100	100	0 ^b
6	4	100	89	17 ^a
9	1	100	100	0
9	2	100	100	0
9	3	100	100	0
9	4	100	100	0
12	1	100	100	0
12	2	100	100	0
12	3	100	100	0
12	4	100	100	0

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.
*Porcentagem de cada item alimentar no trato gastrintestinal de larvas de matrinxã.

Tabela 16 - Conteúdo estomacal de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) expostas a paraclorofenilalanina (PCPA). O experimento foi realizado sob condições de temperatura ambiente.

Dias de coleta	Tratamento	*Tipo de alimento (%)		Canibalismo (%)
		% larvas c/ Zooplâncton	% larvas c/ Ração	
1	1	11	0	23
1	2	21	0	21
1	3	42	0	17
1	4	33	0	19
3	1	54	0	32 ^a
3	2	74	0	27 ^{ab}
3	3	78	0	24 ^b
3	4	96	55	29 ^{ab}
6	1	100	66	21 ^a
6	2	100	78	17 ^{ab}
6	3	100	82	11 ^b
6	4	100	89	9 ^b
9	1	100	100	0
9	2	100	100	0
9	3	100	100	0
9	4	100	100	0
12	1	100	100	0
12	2	100	100	0
12	3	100	100	0
12	4	100	100	0

Trat.1 – ausência de PCPA; Trat.2 – larvas mantidas em solução de 10 mg PCPA/L; Trat.3 - larvas mantidas em solução de 50 mg PCPA/L; Trat.4 - larvas mantidas em solução de 100 mg PCPA/L.

*Porcentagem de cada item alimentar no trato gastrointestinal de larvas de matrinxã.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. F.; LILEY, N. R.; GORZALKA, B. B. PCPA increases aggression in male firemouth cichlids. **Pharmacol.**, v.53, p.328–330, 1996.

ALMEIDA, R. M. M.; FERRARI, P. F.; PARMIFIANI, S.; MICZEK, K. A. Escalated aggressive behavior: Dopamine, serotonin and GABA. **Eur. J. Pharmacol.**, v.526, p.51-64, 2005.

BARNES, N. M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacol.**, v.38, n.8., p.1083-152, 1999.

BERNARDINO, G.; SENHORINI, J. A.; FONTES, N. A.; BOCK, C. L.; MENDONÇA, J.O.J. Propagação artificial do matrinchã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), (Teleostei, Characidae). **B. Tec. CEPTA**, v.6, p.1-9, 1993.

DE BOER, S. F.; KOOLHAAS, J. M. 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor agonists and aggression: A pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. **Eur. J. Pharmacol.**, v.526, p.125-139, 2005.

CAMPBELL, P. M.; POTTINGER, T. G.; SUMPTER, J.P. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. **Biol. Reproduc.**, v.47, p.1140–1150, 1992.

COCCARO, E. F.; KAVOUSSI, R. J.; HAUGER, R. L.; COOPER, T. B.; FERRIS, C. F. Cerebrospinal fluid vasopressin levels. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.55; p.708-714, 1998.

DE PEDRO, N.; PINILLOS, M. L.; VALENCIANO, A. I.; ALONSO-BEDATE, M.; DELGADO, M. J. Inhibitory effect of serotonin on feeding behavior in goldfish: involvement of CRF. **Peptides**, v.19, p.505–511, 1998.

ERSPAMER, V.; ASERO, B. Identification of enteramine, specific hormone of enterochromaffin cells, as 5-hydroxytryptamine. **Nature**, v.169, p.800–801, 1952.

FERRIS, C. F.; MELLONI, R. H.; KOPPEL, G.; PERRY, K. W.; FULLER, R. W.; DELVILLE, Y. Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. **J. Neurosci.**, v. 17, p. 4331– 4340, 1997.

GAWORECKI, K. M.; STEPHEN J. KLAINE, S.J. Behavioral and biochemical responses of hybrid striped bass during and after fluoxetine exposure. **Aquatic Toxicol.**, v.88, p.207–213, 2008.

HENRY, T. B.; BLACK, M. C. Acute and chronic of fluoxetine (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor) in Western Mosquitofish. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v.54, n.2 , p.325-330, 2007.

HICKMAN, C. P.; ROBERTS, S. L.; LARSON, A. **Princípios Integrados de Zoologia.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA, 2004.

HOYER, D.; CLARKE, D.; FOZARD, J.; HARTIG, P.; MARTIN, G.; MYLECHARANE, E.; SAXENA, P.; HUMPHREY, P. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine. **Pharmacol. Rev.**, v.46, p.157–203, 1994.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Moleculares e funcionais diversidade farmacológica de receptores 5-HT. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.71, p.533-554, 2002.

HOWELL, S.; WESTERGAARD, G. C.; HOSS, B. Serotonergic influences on life history outcomes in free-ranging male primates. **Americ. J. Primatol.**, v.69, p.1-15, 2007.

HUBER, R.; SMITH, K.; DELAGO, A.; ISAKSSON, K.; KRAVITZ, E. A. Serotonin and aggressive motivation in crustaceans: altering the decision to retreat. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.94, p.5939 -5942, 1997

JOBLING, M. **Fish Bioenergetics**. Chapman and Hall: London, 309 pp. 1994.

JOHANSSON, J. I.; CARLSSON, M.; SUNDSTRÖM, L. F. Habitat preference increases territorial defence in brown trout (*Salmo trutta*). **Beh. Ecol. Sociobiol.**, v.48, p.373-377, 2002.

KARL, T.; LIN, S. SCHWARZER, C.; SAINSBURY, A.; COUZENS, M.; WITTMANN, W.; BOEY, D.; VON HÖRSTEN, S.; HERZOG, H. Y1 receptors regulate aggressive behavior by modulating serotonin pathways. **Proceedings...National Academy of Sciences of the United States of América**, v.101, n.34, p.12742-12747, 2004.

KESTEMONT, P.; JOURDAN, S.; HOUBART, M.; MÉLARD, C.; PASPATIS, M.; FONTAINE, P.; CUVIER-PERES, A.; KENTOURI, M.; BARAS, E. Size heterogeneity, cannibalism and competition in culture predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. **Aquacult.**, v.227, p.333-356, 2003.

KUBITZA, F. **Qualidade de água no cultivo de peixes e camarões**. Jundiaí-SP, p.229, 2003.

LARSON, E. T.; SUMMERS, C. H. Serotonin reverses dominant social status. **Behav. Brain Res.**, v.121, p.95– 102, 2001.

LEIBOWITZ, S. F.; ALEXANDER, J. T. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. **Biol. Psych.**, v.44, p.851–864, 1998.

LORENZI, V.; CARPENTER, R.E.; SUMMERS, C.H.; EARLEY, R.L.; GROBER, M.S. Serotonin, social status and sex change in the bluebanded goby *Lythrypnus dalli*. **Physiol. & Behav.**, v.97, p.476–483, 2009.

LYNN, S. E.; EGAR, J. M. ; WALKER, B. G. ; SPERRY, T. S. ; RAMENOFISKY, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. **Adv. Physiol. Educ.**, v.31, p. 358-363, 2007.

MENDONÇA, J. O. J. Criação de espécies do gênero *Brycon* no CEPTA/IBAMA. In: Seminário sobre criação de espécies do gênero *Brycon*. 1994, Pirassununga. **Resumos...** Pirassununga: CEPTA, 1994, p. 31-48.

MENNIGEN, J.A.; HARRIS, E.A.; CHANG, J.P., MOON, T. W.; TRUDEAU, V. L. Fluoxetine affects weight gain and expression of feeding peptides in the female goldfish brain. **Regul. Pept.** v.5, p.99-104, 2009.

MENNIGEN, J. A.; SASSINE, J.; TRUDEAU, V.L.; THOMAS W. M. Waterborne fluoxetine disrupts feeding and energy metabolism in the goldfish *carassius auratus*. **Aquatic. Toxicol.**, v.100, p.128-137, 2010.

PEDREIRA, M. M.; SANTOS, J. C. E.; SAMPAIO, E. V.; SILVA, J. L.; FERREIRA, F. N. Fontes de erros na mensuração do comprimento e peso de larvas de peixes. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v.30, n.3, p.245-251, 2008.

PEDRO, N.; PINILLOS, M.L.; VALENCIANO, A. I.; ALONSO-BEDATE, M.; DELGADO, M.J.; Inhibitory Effect of Serotonin on Feeding Behavior in Goldfish: involvement of crf. **Peptides**, v.19, n.3, p.505–511, 1998.

PERREAULT, H. A. N.; SEMSAR, K.; GODWIN, J. Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. **Physiol. and Behav.**, v.79, p.719-724, 2003.

RAZ, S.; BERGER, B.D.; Effects of fluoxetine and PCPA on isolation-induced morphine self-administration and startle reactivity. **Pharmacol. Bioch. Behav.**, v.96, p.59–66, 2010.

ØVERLI Ø., WINBERG S, DAMSGA°RD B, JOBLING M. Food intake and spontaneous swimming activity in Arctic char (*Salvelinus alpinus*): role of brain serotonergic activity and social interactions. **Can. J. Zool.**, v.76, p.1366–70, 1998.

RUBIO, V. C.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F. J.; MADRID, J. A. Oral serotonin administration affects the quantity and the quality of macronutrients selection in European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. **Physiol. and Behav.**, v.87, p.7–15, 2006.

SANCHEZ, C.; HYTTEL, J. Isolation-induced aggression in mice-effects of 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors and involvement of postsynaptic 5-HT_{1a} receptors. **Eur. J. Pharmacol.**, v.264, p.241–247, 1994.

SENHORINI, J. A.; MANTELATTO, F. L. M.; CASANOVA, S. M. C. Growth and survival of larvae of Amazon species “matrinxã”, *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae) in larviculture ponds. **B. Tec. CEPTA**, v.11, p.13-28, 1998.

SPIX, J. B. VON; AGASSIZ, L. Selecta genera et species piscium quos in itinere per Brasiliam annos MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I.... colleget et pingendso curavit Dr J. B. de Spix.... Monachii. **Selecta Piscium Brasiliam** Part 1: i-xvi + i-ii + 1-82, p.1-48. 1829-31

TSAI, L. T.; WANG, L.H. Effects of gonadal steroids on the serotonin synthesis and metabolism in the early developing tilapia brain. **Neurosc. Letters.**, v.264, p.45-48, 1999.

VILLALBA, C.; BOYLE, P. A.; CALIGURI, E. J.; de VRIES, G. J. Effects of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on social behaviors in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). **Horm. Behav.**, v.32, p.184– 191, 1997.

WINBERG, S.; NILSSON, G. E.; OLSEN, K. H. Social rank and brain levels of monoamines and monoamine metabolites in arctic charr, *Salvelinus alpinus*. **J. Comp. Physiol. A Sens. Neural Behav. Physiol.**, v.168, p.241– 246, 1991.

WINBERG, S.; NILSSON, G. E.; OLSEN, K. H. Changes in brain serotonergic activity during hierarchical behavior in arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) are socially induced. **J. Comp. Physiol. A Sens. Neural Behav. Physiol.**, v.170, p.93– 99, 1992.

WINBERG, S.; NILSSON, G. E. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. **Comp. Bioch. and Physiology**, v.106C, p.597–614, 1993.

WINBERG, S.; MYRBERG, A. A.; NILSSON, G. E. Agonistic interactions affect brain serotonergic activity in an acanthopterygian fish: the bicolor damselfish (*Pomacentrus partitus*). **Brain Behav. Evol.**, v.48, p.213– 220, 1996.

WINBERG, S.; WINBERG, Y.; FERNALD, R. D. Effect of social rank on brain monoaminergic activity in a cichlid fish. **Brain Behav. Evol.**, v.49, p.230– 236, 1997.

WINBERG, S.; ØVERLI, Ø.; LEPAGE, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. **J. Exp. Biol.**, v.204, p.3867–3886, 2001.

WINBERG, S.; CARTER, C. G.; MCCARTHY, J. D.; HE, Z. Y.; NILSSON, G. E.; HOULIHAN, D. F. Feeding rank and brain serotonergic activity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **J. Exp. Biol.**, v.179, p.197–211, 1993.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Tradução Vera Lucia Mixtra Chama. Brasília: FAO/CODECASF/CNPq, 1983, 220p.

CAPÍTULO 4 – DISTRIBUIÇÃO DE NEURÔNIOS SEROTONINÉRGICOS IMUNORREATIVOS (5-HTir) EM LARVAS DE MATRINXÃ

Distribuição dos neurônios serotoninérgicos imunorreativos (5-HTIR) em larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*)

RESUMO - A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) é uma indoleamina do grupo das monoaminas, e tem sido descrita como um neurotransmissor modulador amplamente distribuído no sistema nervoso central de vertebrados. Sua ação está ligada às mais diversas funções fisiológicas e comportamentais, como a regulação do sono, apetite, humor, secreções neuroendócrinas, comportamento agressivo, funções gastrointestinais, pela interação com diferentes receptores. O conhecimento da distribuição de neurônios serotoninérgicos imunoreativos (5-HTir) no encéfalo de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) é uma ferramenta para o entendimento do mecanismo de ação e da participação da serotonina na regulação do comportamento agressivo das larvas da espécie. O presente estudo utilizou 16 larvas com 9 dias após a eclosão, que foram eutanasiadas por sobredose de anestesia e fixados para a realização dos procedimentos de imunohistoquímica e marcação dos neurônios serotoninérgicos imunorreativos. Na larva de matrinxã, foi observada uma distribuição dos neurônios serotoninérgicos principalmente nas regiões do prosencefalo e mesencéfalo; principalmente com grupos espalhados nas regiões do diencéfalo, teto óptico e na região do tegumento. Dessa forma, o estudo descreveu a distribuição do sistema serotoninérgico de larvas de matrinxã, que se assemelha à distribuição descrita em indivíduos juvenis da espécie e segue o mesmo padrão de distribuição de outras espécies de peixes.

Palavras - chave: Larvicultura, Serotonina, Imunohistoquímica, Sistema serotoninérgico

ABSTRACT - Serotonin or 5-hydroxytryptamine (5-HT) is an indoleamine from the monoamine group and has been described as a modulating neurotransmitter widely distributed in the central nervous system of vertebrates. Its role is associated to different physiological and behavioral functions such as sleep, appetite, humor, neuroendocrine secretions, aggressive behavior, gastrointestinal functions, by interacting with different receptors. The knowledge of the distribution of the serotonergic immunoreactive (5-Htir) neurons in matrinxã (*Brycon amazonicus*) larvae brain is a tool to the understanding of the mechanism of action and of the participation of serotonin in the regulation of the aggressive behavior of these larvae. The present study used 16 larvae sampled 9 days after hatching. They were euthanized by overdose of anesthesia and fixed before the procedures of immunohistochemistry and labeling of the immunoreactive neurons. The results showed a distribution of serotonergic neurons mainly in prosencephalus and mesencephalus. Groups of neurons were distributed in diencephalus, tectum opticum and tegument. The study describes the distribution of the serotonergic system in matrinxã larvae that is similar to that of described in juvenile specimens of the same species, and follow the pattern of many other fish species.

Palavras - chave: Hatchery, Serotonin, Immunohistochemistry, System serotonergic

INTRODUÇÃO

Em 1937, ocorreu, pela primeira vez, a extração da mucosa gastrintestinal de uma substância com efeito vasoativo, que podia provocar contração da musculatura lisa do trato gastrintestinal de *Octopus vulgaris*, sendo chamada de enteramina por sua localização nas células enterocromafins, posteriormente foi isolada e caracterizada como serotonina em 1948 por Maurice Rapport e Irvine Page (ERSPAMER & ASERO, 1952). Em 1952, descobriu-se que a enteramina era igual a serotonina (REID & RAND, 1952). Após a descoberta da serotonina, ela foi rapidamente identificada em tecidos como encéfalo e trato gastrintestinal, entre outros. Concomitantemente a descoberta, inúmeros estudos estavam sendo investigados e, em 1957, Brodie & Shore propuseram

o papel da serotonina como neurotransmissor, baseados em estudos que demonstraram a localização de alguns receptores de serotonina no sistema nervoso dos vertebrados (TWAROG & PAGE, 1953; AMIN et al., 1954). Em 1963, a serotonina foi localizada nas terminações nervosas de neurônios e em regiões isoladas do encéfalo de mamíferos (MICHAELSON & WHITTAKER, 1963; ZIEHER & DE ROBERTIS, 1963).

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) é uma indoleamina do grupo das monoaminas e tem sido descrita como um neurotransmissor modulador amplamente distribuído no sistema nervoso central de vertebrados. A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano, sua síntese ocorre pela captação ativa do triptofano plasmático por carreadores de aminoácidos neutros na barreira hematoencefálica. Por esta razão, a variação do triptofano plasmático influencia profundamente a produção de serotonina (LEPAGE et al., 2005). Sua ação está relacionada a diversas funções fisiológicas e comportamentais, como a regulação do sono, apetite, humor, secreções neuroendócrinas, comportamento sexual e funções gastrointestinais, por meio da interação com diferentes receptores (BARNES & SHARP, 1999; HOYER et al., 2002). Atualmente, a função serotoninérgica tem sido associada ao comportamento agressivo em diversas espécies, desde humanos (COCCARO et al., 1998) até peixes (LORENZI et al., 2009). Nesse sentido, estudos têm utilizado fármacos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (fluoxetina, paroxetina, sertralina, entre outros) e inibidor da conversão de triptofano em serotonina (paraclorofenilalanina) para manipular os níveis de serotonina e, dessa forma, explorar seu papel na regulação da agressão em peixes (ADAMS et al., 1996; LYNN et al., 2007).

Os neurônios serotoninérgicos podem ser encontrados principalmente na região da rafe e consistem em numerosos e distintos grupos de neurônios do tronco encefálico que estão organizados ao longo da linha média, originando projeções ascendentes e descendentes (ZIGMOND et al., 1999). A organização do sistema serotoninérgico já pode ser observada desde os peixes mais basais, nos quais a serotonina é encontrada em abundância no hipotálamo e no tronco encefálico, formando um elo importante entre o fluido cerebrospinal e o tecido neural assim como em todos os vertebrados. Dessa

forma, o estudo desse sistema, permite uma melhor compreensão da ação do sistema serotoninérgico frente a regulação do comportamento agressivo, comum a muitas espécies de peixes, e com isso a busca de alternativas para problemas causados por esse comportamento em sistemas de criação, e o desenvolvimento de tecnologias que otimizem a cadeia produtiva de muitas espécies de peixes.

Até meados dos anos de 80, os estudos do sistema serotoninérgico por métodos imuno-histoquímicos eram realizados utilizando fluorescência induzida por formaldeído (FIF) (EKSTRO E VAN VEEN, de 1984). No entanto, essas técnicas não são mais utilizadas principalmente para o sistema serotoninérgico, devido ao baixo rendimento e clareamento rápido do fluoróforo amarelo 5-HT. As técnicas de imuno-histoquímica revelaram-se mais específicas e sensíveis para a detecção de monoaminas e o uso de anticorpos contra a serotonina permitiu melhores resultados na marcação do sistema serotoninérgico de inúmeras espécies de vertebrados, incluindo teleósteos (KAH & CHAMBOLLE, 1983; YOSHIDA et al., 1983).

O presente estudo avaliou a distribuição de neurônios serotoninérgicos imunoreativos (5-HTir) no encéfalo de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*), espécie que se destaca dentre as espécies comercialmente importantes no Brasil e que apresenta uma característica comportamental de agressividade na fase larval e jovem. Estudos que levem ao entendimento dos mecanismos de regulação deste comportamento poderão ajudar a implantação de técnicas de manejo que reduzam as perdas por confrontos co-específicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações e protocolo experimental

Este estudo foi realizado no CEPTA/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – Pirassununga, SP, no Laboratório de Aqüicultura da Universidade Federal da Amazônia - ICSEZ, Parintins, AM, e no Laboratório de Fisiologia de Peixes do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV – Unesp, Jaboticabal, SP.

As unidades experimentais foram caixas de fibra de vidro retangulares, com 25 litros, de água, dispostas em sistema de circulação fechado, com aeração constante.

As larvas utilizadas foram obtidas pela reprodução induzida de matrizes de matrinxã, com 2,5 anos, criadas em viveiros de terra escavados e alimentadas com ração comercial (28% PB), duas vezes ao dia. A indução da desova foi realizada com extrato de hipófise de carpa comum (EHC), seguindo metodologia de rotina (BERNARDINO et al., 1993). Os ovócitos de todas as fêmeas foram misturados, separados em três porções iguais e colocados para eclodir em incubadoras tipo funil, de 150 L, com circulação constante da água.

As larvas passaram a receber alimentação natural (500 zôoplancton/larva) e ração a partir de 24 horas pós-eclosão, momento no qual foram transferidas para as unidades experimentais (4 caixas de 25 litros)

Durante o período experimental, às 8:00 e 17:00 horas, foram mensurados: temperatura ($25,2 \pm 3,5^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido ($6,61 \pm 1,33$ mg/L), pH ($6,98 \pm 0,4$) e amônia não ionizada da água das caixas ($0,002 \pm 0,0008$ mg/L). As caixas foram sifonadas duas vezes por semana ou quando necessário, com o auxílio de uma mangueira de borracha, para retirada de restos da alimentação e os detritos.

Coleta das larvas e método imunohistoquímico

Para avaliar a distribuição de neurônios serotoninérgicos imunoreativos (5-HTir) no encéfalo de larvas, foram coletados 4 exemplares de cada unidade experimental, totalizando em 16 animais (peso $\pm 5,5$ mg) foram coletados nove dias após a eclosão, período ideal no qual geralmente permanecem nas caixas com fins experimentais, antes de irem para os viveiros de alevinagem. Os animais foram eutanasiados por sobredose de anestesia e fixados em paraformaldeído 4% por 4 h, sendo, em seguida, transferidos para uma solução de sacarose 30% em tampão fosfato (0,2 M) com pH de 7,4, onde permaneceram por uma noite. As amostras foram lavadas em tampão fosfato (0,2 M), e congeladas com Tissue Tek e gelo seco, para serem cortadas em criostato (Microm HM 505) a uma espessura de 25 μm e montadas em lâminas gelatinizadas.

O procedimento de imunohistoquímica foi realizado sobre os cortes fixados nas lâminas. Primeiramente, as amostras foram lavadas em tampão fosfato 0,01M (PBS), pH 7,4 (três lavagens de 10 min cada) e, em seguida, incubadas em peróxido de hidrogênio 1% por 10 min e lavadas novamente por 3 vezes com PBS até a retirada total da espuma formada. As amostras foram, então, incubadas em soro caprino 2% (Vectastain ABC kit, Vector Laboratories), por 60 min, e em seguida, incubadas com anticorpo primário anti-serotonina produzido em coelho (Sigma-Aldrich) numa proporção de 1:250, por 48 h, a 4°C. A seguir, as amostras foram novamente lavadas com PBS e incubadas com anticorpo secundário produzido em coelho (anti-rabbit) 1:100 (Vectastain ABC kit, Vector Laboratories) por uma hora. As amostras foram mais uma vez lavadas em PBS e incubadas no kit ABC (complexo avidina-biotina - Vectastain ABC kit, Vector Laboratories) por 60 min, para nova lavagem com PBS. Após esse procedimento, a reação foi revelada utilizando-se uma solução de 3,3'-diaminobenzidina a 0,3 mg/mL (DAB, Sigma-Aldrich) e peróxido de hidrogênio 0,1%. As lâminas permaneceram por 24 h, a 4°C, para secagem e foram, então, submetidas ao processamento histológico, passando por uma bateria de desidratação com álcool etílico em concentrações crescentes e por uma bateria de diafanização com utilização de xilol. A seguir, as lâminas foram montadas em lamínulas com Entellan (Merck). Para testar a especificidade da análise, foi feito um controle negativo, em que as lâminas não foram incubadas com o anticorpo primário. Os neurônios serotoninérgicos imunorreativos (5-HTir) foram analisados e fotografados em fotomicroscópio Leica DM 2500.

A identificação e nomenclatura das regiões anatômicas do encéfalo de matrinxã foram baseadas na neuroanatomia de *Danio rerio* (WULLIMANN et al., 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das lâminas permitiu descrever a localização e a intensidade das células 5-HTir.

Não foi possível observar presença de núcleos serotoninérgicos na região anterior do encéfalo (bulbo olfatório, região do telencéfalo basal e córtex) das larvas de matrinxã. Estudos com outras espécies como *Carassius auratus* (KAH & CHAMBOLLE, 1983), *Polypterus senegalus* (CHIBA, 1999) e *Trematomus bernacchii* (OLIVERI et al., 2005) relatam resultados similares. A ausência de grupos celulares serotoninérgicos na região do telencéfalo descrita pela maioria das pesquisas pode ser explicada pela evolução do sistema serotoninérgico em vertebrados. Entretanto, não se pode afirmar que não existam esses núcleos nestas regiões em algumas espécies. Adrio et al. (1999), estudando *Acipenser baeri* e *Huso huso*, verificaram a presença de núcleos serotoninérgicos na região do telencéfalo. As células 5-HTir foram encontradas no bulbo olfatório e na parede do ventrículo medioventral telencefálico, rostral à comissura anterior. Também na lampréia, foram observados grupos de células 5-HTir distribuídas em praticamente toda região encefálica (telencéfalo, diencefalo, mesencefalo caudal, rombencefalo) (ABALO et al., 2007).

Em trabalho recente, Wolkers (2010) estudou a distribuição dos neurônios serotoninérgicos em juvenis de matrinxã e observou uma grande semelhança com outras espécies de peixes. Foram encontrados grupos celulares espalhados por praticamente todas as regiões encefálicas, representados na região diencefálica, mesencefálica e no tronco encefálico (KAH & CHAMBOLLE, 1983; EKSTRÖN & VAN VEEN, 1984; STUESSE et al., 1991; KHAN & THOMAS, 1993; ADRIO et al., 1999; RODRÍGUEZ-GOMES et al., 2000; OLIVERI et al., 2005).

No presente estudo, a distribuição dos neurônios serotoninérgicos das larvas foi semelhante ao descrito em juvenis da mesma espécie (WOLKERS, 2010). Foram encontradas grandes quantidades de núcleos serotoninérgicos na região do diencefalo, principalmente na região hipotalâmica, e na região do mesencefalo (núcleo hipotálamo lateral, zona ventral periventricular do hipotálamo, zona caudal periventricular do hipotálamo, próximo ao recesso posterior do ventrículo diencefálico, núcleo talâmico anterior, núcleo habenular ventral, zona ventral do núcleo periventricular pretektal, torus longitudinalis, núcleo tuberal anterior e posterior, núcleo tuberal posterior) (Figuras 1, 2, 3). Os resultados do presente estudo se assemelham ao encontrado por Oliveri et al.

(2005), em *Trematomus bernacchii*. Estes autores descreveram a maior quantidade de células serotoninérgicas na região do ventrículo diencefálico, próximo ao recesso lateral e ao ventrículo diencefálico. No entanto, os autores ainda relatam grande número de células na região romboencefálica, diferentemente do presente estudo que encontrou pequena quantidade nesta região.

Na maioria dos peixes estudados, a região periventricular do hipotálamo e a região dos recessos laterais e posterior possuem uma grande quantidade de células serotoninérgicas (KAH & CHAMBOLLE, 1983; EKSTRÖN & Van VEEN, 1984; STUESSE et al., 1991; KHAN & THOMAS, 1993; ADRIO et al., 1999). Em juvenis de matrinxã, o sistema serotoninérgico da região periventricular se mostrou pouco denso, não sendo encontradas células nas regiões dos recessos lateral e posterior e do hipotálamo ventromedial (WOLKERS, 2010), como descrito em outras espécies, incluindo peixes teleósteos (ADRIO et al., 1999; ABALO et al., 2007).

Os neurônios serotoninérgicos nas larvas de matrinxã foram encontrados também na transição da região mesencefálica com a romboencefálica (fascículo longitudinal medial, formação reticular superior, rafe superior) (Figura 4). Esse grupo de células foi descrito também em outras espécies de peixes, incluindo peixes teleósteos (EKSTRÖN & VAN VEEN, 1984). Próximo a região romboencefálica, este grupo de células mesencefálicas arredondadas parece se dividir em dois grupos, um deles se mantendo medialmente na região da rafe, parecendo corresponder à *raphe centralis superior* (STUESSE et al., 1991; STUESSE et al., 1995), e o outro grupo se mantendo lateralmente ao ventrículo romboencefálico, na região acima do fascículo medial longitudinal, correspondendo à rafe dorsal (STUESSE et al., 1991; STUESSE et al., 1995; OLIVERI et al., 2005). Essa transição entre as regiões gera, muitas vezes, divergências em relação à nomenclatura. Alguns autores a classificam como rafe linear, outros como núcleo da rafe superior ou ainda núcleo da rafe dorsal (STUESSE et al., 1995; ADRIO et al., 1999; OLIVERI et al., 2005).

Os núcleos serotoninérgicos encontrados na região da formação reticular e da rafe (Figura 4) das larvas de matrinxã tem sido relatados em várias espécies de peixes (KAH & CHAMBOLLE, 1983; STUESSE et al., 1991; ADRIO et al., 1999; RODRÍGUEZ-

GOMES et al., 2000; OLIVERI et al., 2005; ABALO et al., 2007). No entanto, ainda há divergências em relação à presença de um sistema serotoninérgico desenvolvido nessa região. Segundo Wolkers (2010), juvenis de matrinxã apresentam grupos celulares reticulares bastante densos, de forma semelhante aos condrósteos (ADRIO et al., 1999) e peixes cartilaginosos (STUESSE et al., 1991; STUESSE et al., 1995). Nas larvas de matrinxã, foi possível observar grupos celulares bastante densos como descrito nos juvenis da mesma espécie (WOLKERS, 2010). No entanto, estudos com outros teleósteos não descrevem um sistema serotoninérgico reticular muito desenvolvido (KAH & CHAMBOLLE, 1983; EKSTRÖN & Van VEEN, 1984).

Dessa forma, os resultados indicam que o sistema serotoninérgico em larvas de matrinxã já possui características semelhantes à fase juvenil ocorrendo pequenas variações entre a fase de larva e juvenil.

CONCLUSÃO

Na larva de matrinxã, foi observada uma distribuição dos neurônios serotoninérgicos principalmente nas regiões do prosencefalo e mesencéfalo; principalmente com grupos espalhados nas regiões do diencéfalo, teto óptico e na região do tegumento. Essa distribuição é muito semelhante ao juvenil da espécie e segue o mesmo padrão de outras espécies de peixes.

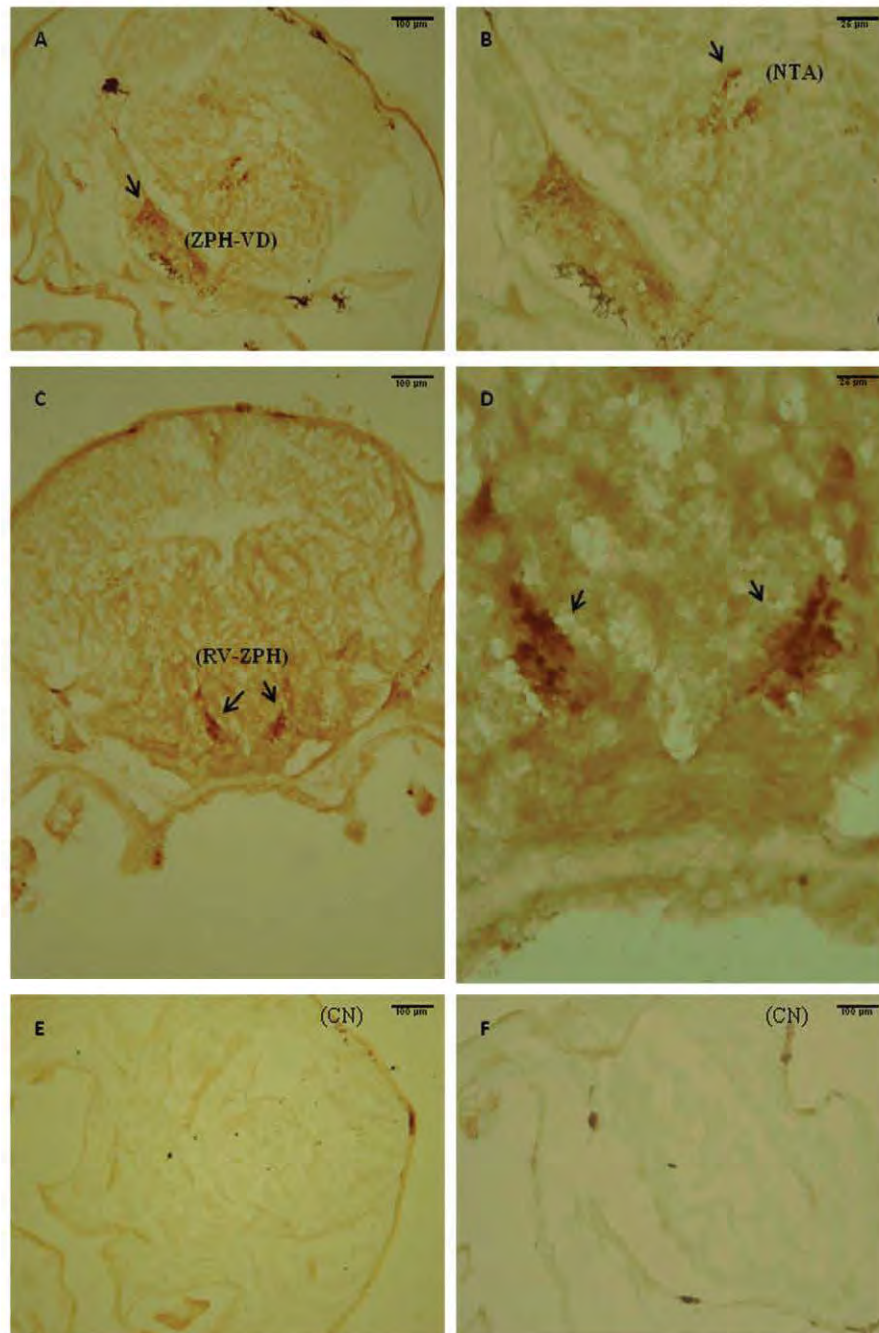


FIGURA 1 - Fotomicrografias de seções de encéfalos de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) destacando neurônios serotoninérgicos imunorreativos. As setas destacam as células 5-HTir. Aumento: 10x (A,C,E) e 40x (B,D e F). (A) Zona periventricular do hipotálamo próxima a região do recesso do ventrículo diencefálico (ZPH-VD); (B) Região próxima ao núcleo tuberal anterior (NTA); (C e D) Região ventral da zona periventricular do hipotálamo (RV-ZPH); (E e F) Controle negativo (CN)

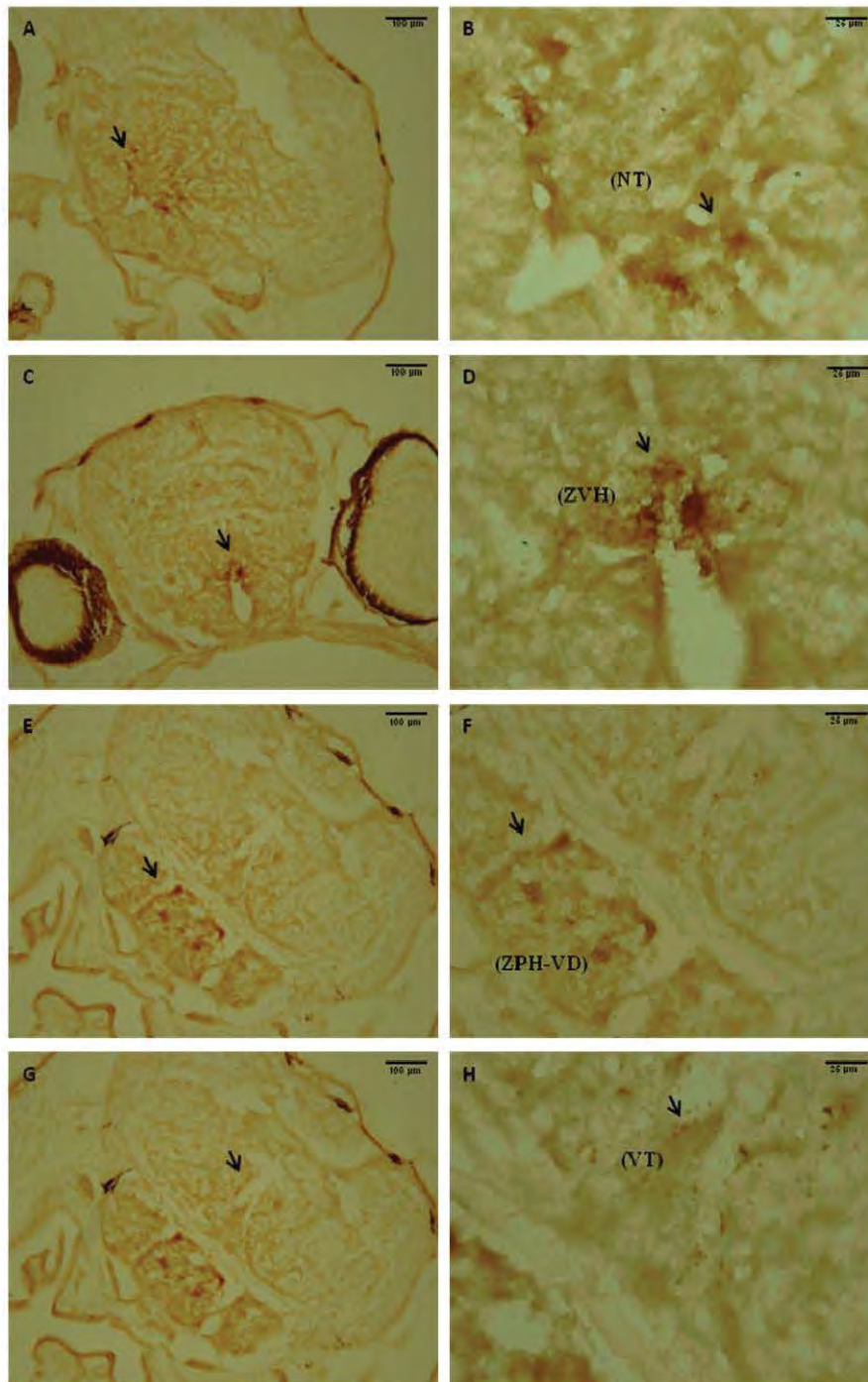


FIGURA 2 - Fotomicrografias de secções de encéfalos de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) destacando neurônios serotoninérgicos imunorreativos. As setas destacam as células 5-HTir. Aumento: 10x (A,C,E,G) e 40x (B,D,F,H). (A e B) Região próxima ao núcleo tuberal (NT); (C e D) Região da zona ventricular do hipotálamo (ZVH); (E e F) Zona periventricular do hipotálamo próxima a região do recesso do ventrículo diencefálico (ZPH-VD); (G e H) Região próxima ao ventrículo tectal (VT).

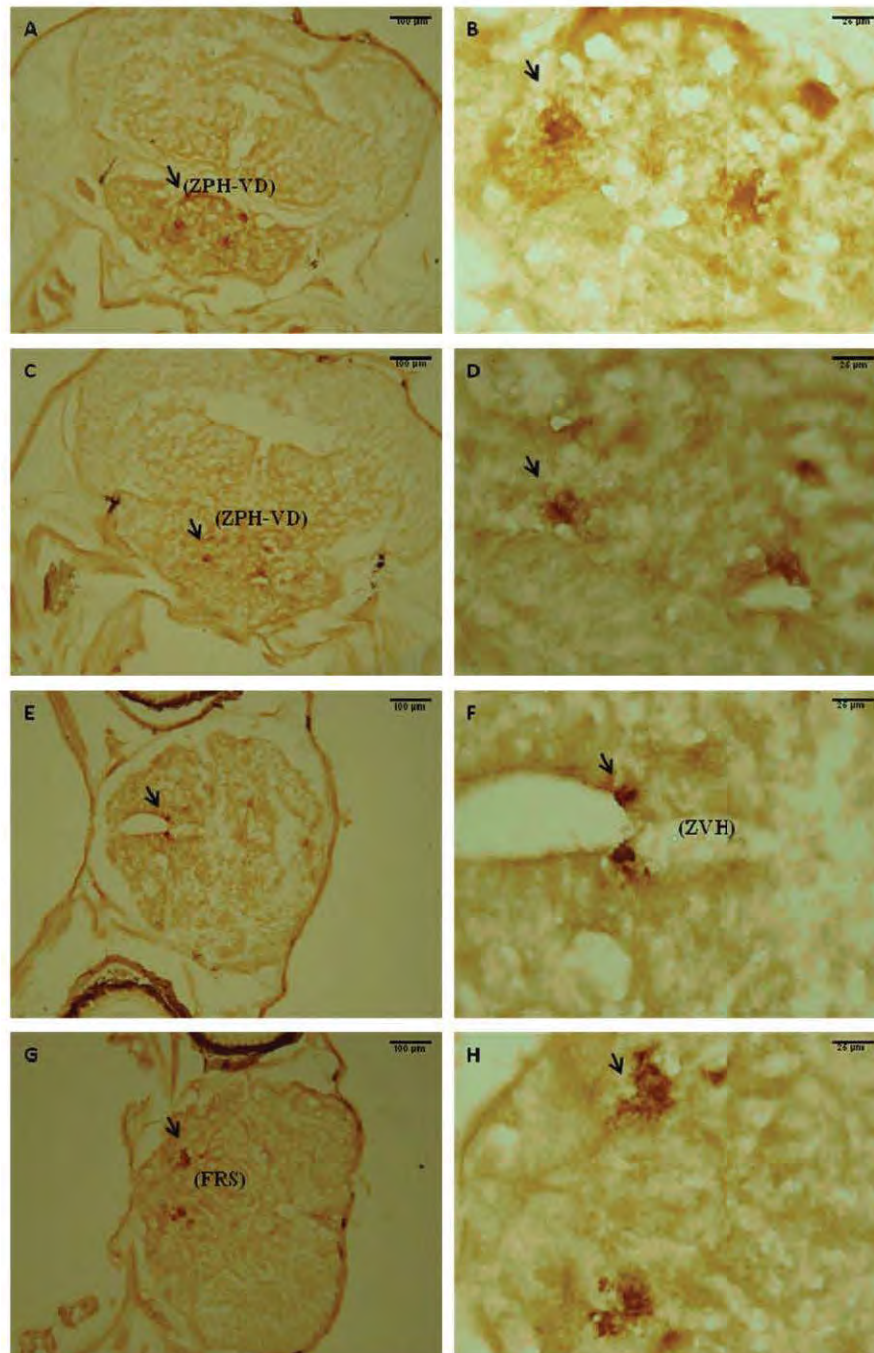


FIGURA 3 - Fotomicrografias de seções de encéfalos de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) destacando neurônios serotoninérgicos imunorreativos. As setas destacam as células 5-HTir. Aumento: 10x (A,C,E,G) e 40x (B,D,F,H). (A e B) Região próxima a zona periventricular do hipotálamo e região do recesso do ventrículo diencefálico (ZPH-VD); (C e D) Região próxima a zona periventricular do hipotálamo e região do recesso do ventrículo diencefálico (ZPH-VD); (E e F) Região da zona ventricular do hipotálamo (ZVH); (G e H); Região próxima a formação reticular superior (FRS).

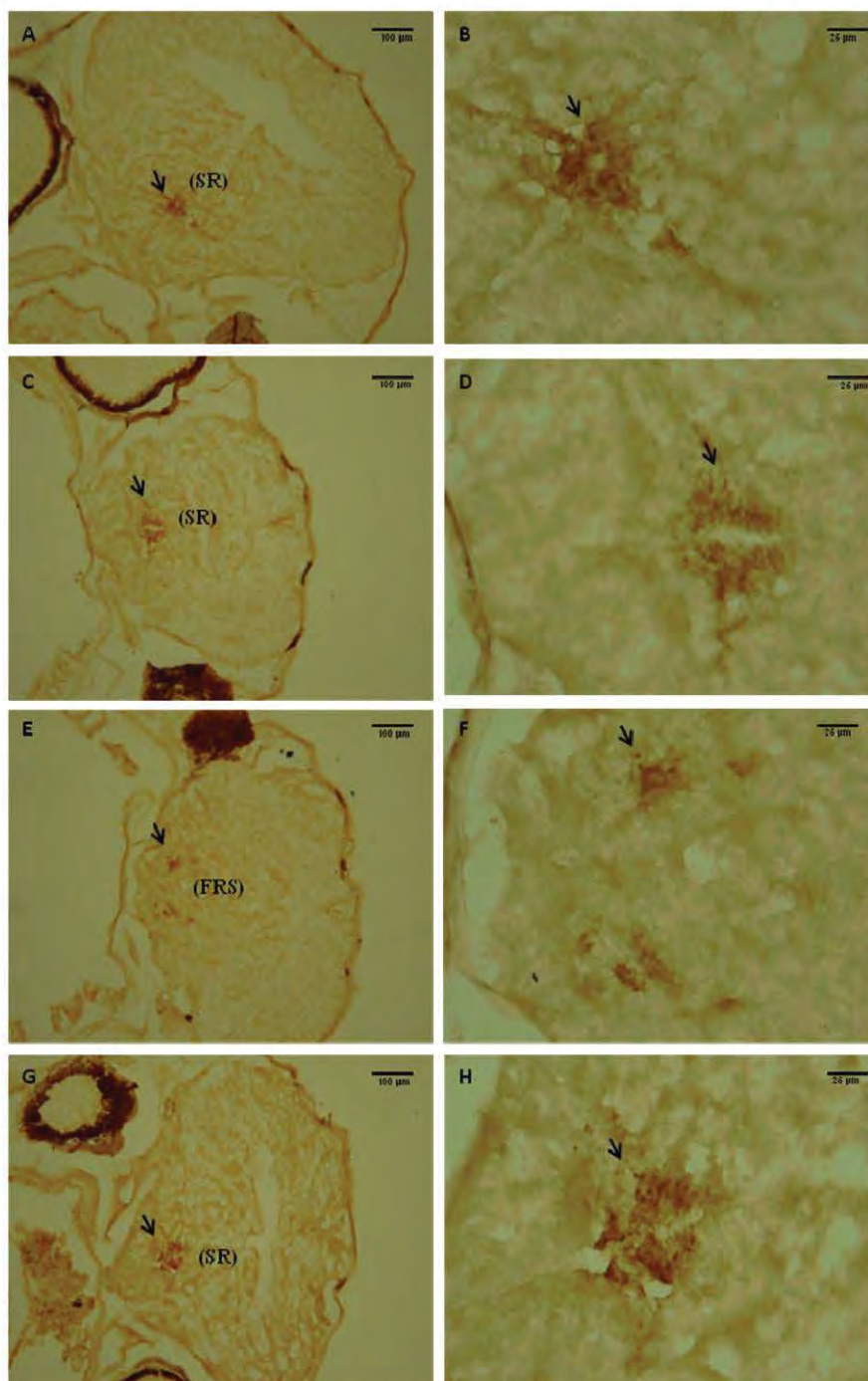


FIGURA 4 - Fotomicrografias de secções de encéfalos de larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) destacando neurônios serotoninérgicos imunorreativos. As setas destacam as células 5-HTir. Aumento: 10x (A,C,E,G) e 40x (B,D,F,H). (A e B) Região superior da rafe (SR); (C e D) Região superior da rafe (SR); (E e F) Região da formação reticular superior (FRS); (G e H) Região superior da rafe (SR)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALO, X.M.; VILLAR-CHEDA, B.; MELÉNDEZ-FERRO, M.; PÉREZ-COSTAS, E.; ANADÓN, R.; RODICIO, M.C. Development of the serotonergic system in the central nervous system of the sea lamprey. **J. Chemic. Neuroanat.**, v.34, p.29-46, 2007.

ADAMS, C. F.; LILEY, N. R.; GORZALKA, B. B. PCPA increases aggression in male firemouth cichlids. **Pharmacol.**, v.53, p.328–330, 1996.

ADRIO, F.; ANADÓN, R.; RODRIGUÉZ-MOLDES, I. Distribution of serotonin (5HT). Immunoreactive structures in the central nervous system of two chondrosteian species (*Acipenser baeri* and *Huso huso*). **J. Comp. Neurol.**, v.407, p.333-348, 1999.

AMIN, A. H.; CRAWFORD, T. B. B.; GADDUM, J. H. The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. **J. Physiol.**, v.126, p.596, 1954.

BARNES, N. M.; T. SHARP. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacol.**, v.38, n.8, p.1083-152, 1999.

BERNARDINO, G.; SENHORINI, J.A.; FONTES, N.A.; BOCK, C.L.; MENDONÇA, J.O.J. Propagação artificial do matrinchã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), (Teleostei, Characidae). **B. Tec. CEPTA**, v.6, p.1-9, 1993.

CHIBA, A. Immunohistochemical mapping of serotonin-containing neurons in the brain of the Senegal bichir, *Polypterus senegalus* (Brachiopterygii, Osteichthyes). **Zool. Sci.**, v.16, p.395-399, 1999.

COCCARO, E. F.; KAVOUSSI, R.J.; HAUGER, R. L.; COOPER, T. B.; FERRIS, C. F. Cerebrospinal fluid vasopressin levels. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.55; p.708-714, 1998.

EKSTRÖN, P.; VAN VEEN, T. Distribution of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the brain of the teleost *Gasterosteus aculeatus* L. **J. Comp. Neurol.**, v.226, p.307-320, 1984.

ERSPAMER, V.; ASERO, B. Identification of enteramine, specific hormone of enterochromaffin cells, as 5-hydroxytryptamine. **Nature**, v.169, p.800–801, 1952.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.71, p.533–554, 2002.

KAH, O.; ANGLADE, I.; LEPERTE, E.; DUBOURG, P.; MONBRISON, D. **Fish Physiol. Biochem.**, v.11, p.85–98, 1993.

KHAN, I. A.; THOMAS, P. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v.91, p.167–180, 1993.

LEPAGE, O.; LARSON, E. T.; MAYER, I.; WINBERG, S. Tryptophan affects both gastrointestinal melatonin production and interrenal activity in stressed and nonstressed rainbow trout. **J. Pineal Res.**, v.38, p.264–271, 2005.

LORENZI, V.; CARPENTER, R. E.; SUMMERS, C. H.; EARLEY, R. L.; GROBER, M. S. Serotonin, social status and sex change in the bluebanded goby *Lythrypnus dalli*. **Physiology & Behavior**, v.97, p.476–483, 2009.

LYNN, S. E.; EGAR, J. M.; WALKER, B. G.; SPERRY, T. S.; RAMENOFESKY, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. **Adv. Physiol. Educ.**, v.31, p.358-363, 2007.

MICHAEL, S.; WHITTAKER V. P. The distribution of hydroxytryptamine in brain fractions. **Biochem Pharmacol.**, v.1, p.505–506, 1963.

OLIVERI, D.; CANDIANI, S.; PARODI, M.; BERTINI, E.; PESTARINO, M. A serotonergic system in the brain of the Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. **Polar Biol.**, v.28, p.366-371, 2005.

PARENT, A. Functional anatomy and evolution of monoaminergic systems. **Americ. Zool.**, v.24, p.783-790, 1984.

REID, G.; RAND, M. Pharmacological actions of synthetic 5- hydroxytryptamine. **Nature**, v.169, p.801–802, 1952.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F. J.; RENDÓN-UNCETA, M. C.; SARASQUETE, C.; MUÑOZ-CUETO, J.A. Distribution of serotonin in the brain of the Senegalese sole *Solea senegalensis*: na immunohistochemical study. **J. Chemic. Neuroanat.**, v.18, p.103-115, 2000.

STUESSE, S. L.; CRUCE, W. L. R.; NORTHCUTT, R. G. Serotonergic and Enkephalinergic cell groups in the reticular formation of the bat ray and two skates. **Brain and Behav. Evol.**, v.38, p.39-52, 1991.

STUESSE, S. L.; STUESSE, D. C.; CRUCE, W. L. R. Raphe nuclei in three cartilaginous fishes, *Hydrogalus colliei*, *Heterodontus francisci*, and *Squalus acanthias*. **J. Comp. neurol.**, v.358, p.414-427, 1995.

TWAROG, B.M.; PAGE, I.H. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. **Am. J. Physiol.** v.175, p.157–161, 1953.

WOLKERS, C.P.B. **Controle neuroendócrino do comportamento agressivo de juvenis de matrinxã (*brycon amazonicus*)**. 2010. 115 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Área de concentração em Aquicultura de Águas Continentais.Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, 2010.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Tradução Vera Lucia Mixtra Chama. Brasília: FAO/CODECAS/CNPq, 1983, 220p

WILLIMAN, M.F.; RUPP, B.; REICHERT, H. **Neuroanatomy of the zebrafish brain: a topological atlas.** Basel: Birkhäuser Verlag, 1996.

YOSHIDA, M.; NAGATSU, I.; KAWAKAMI-KONDO, Y.; KARASAWA, N.; SPATZ, M.; NAGATSU, T. Monoaminergic neurons in the brain of goldfish as observed by Immunohistochemical techniques. **Experientia**, v.39, 1983.

ZIEHER, L.; DE ROBERTIS, E. Subcellular localization of 5- hydroxytryptamine in rat brain. **Bioch. Pharmacol.**, v.12, p.596–598, 1963.

ZIGMOND, M. J.; BLOOM, F. E.; LANDIS, S. C.; ROBERTS, J. L.; SQUIRE, L. R. 1999. **Fund. Neuroc.**, Academic Press., p.1444.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo abordou um gargalo importante na piscicultura que é a fase inicial da vida dos peixes, a larvicultura, para a qual se demanda o desenvolvimento de tecnologia. A piscicultura brasileira, em anos recentes, vem apresentando um expressivo crescimento e muitos estudos estão sendo realizados para garantir o desenvolvimento de tecnologias que permitam o cultivo de diversas espécies nativas brasileiras. Dentre essas espécies, algumas do gênero *Brycon* se destacam pelo seu alto potencial zootécnico e a preocupação pela redução dos estoques naturais (ZANIBONI FILHO et al., 2006). Destaca-se entre estas espécies, o matrinxã (*Brycon amazonicus*, Spix & Agassiz, 1829), originário da região norte do Brasil, que perde em importância comercial, naquela região, somente para o tambaqui. A taxa de crescimento acelerado, a facilidade de aceitação de ração artificial e a carne de alta qualidade do matrinxã (WOYNAROVICH & HORVATH, 1983; CASTAGNOLLI, 1992) são fatores que ajudaram a alavancar sua produção em sistema de criação.

Entretanto, sua criação ainda encontra dificuldades, entre as quais se destaca a baixa sobrevivência na fase larval, decorrente de alta incidência de canibalismo nesta fase (CECCARELLI, 1997). Esse comportamento pode se agravar em condições de escassez de alimento, luminosidade e temperatura inadequadas, crescimento heterogêneo e altas densidades de estocagem (HECHT e PIENAAR, 1991; FOLKVORD e OTTERA, 1993; GOMES et al., 2000; GREAVES e TUENE, 2001; BRANNAS et al., 2002). A elevada agressividade das larvas prejudica o processo produtivo e alguns estudos mostram que a sobrevivência da espécie varia em torno de 10 a 15% (BERNARDINO et al., 1993). A baixa sobrevivência encarece e compromete a criação da espécie, ocasionando em baixa produtividade e rentabilidade.

Dentro desse contexto, pesquisas têm sido desenvolvidas buscando soluções para otimizar a fase da larvicultura, com uso de metodologias para aumentar a sobrevivência inicial de espécies do gênero *Brycon*. Destacam-se estudos sobre o uso de hormônios tireoidianos e aminoácidos precursores destes hormônios na fase inicial de vida dos

peixes (SOARES et al., 2003; URBINATI et al., 2003; HOSHIBA, 2007; LEONARDO, 2008; LANDINES et al., 2010).

Nos últimos anos, pesquisas que enfocam o controle neuroendócrino do comportamento agressivo em peixes têm sido desenvolvidas e podem ser úteis no estabelecimento de ferramentas que ajudem na redução das perdas provenientes deste comportamento (WINBERG et al., 1991, 1992, 1993, 1996, 1997, 2001; LEPAGE et al., 2003; AHMED e KHAN, 2005). Destaca-se, nestas pesquisas, o papel da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), um neurotransmissor que media uma ampla variedade de comportamentos (agressão, medo e estresse em várias espécies, assim como na relação das interações sociais em muitos animais) por ação no sistema nervoso central e periférico (FERRIS et al., 1997; WINBERG et al., 1997; LARSON e SUMMERS, 2001; LEPAGE et al., 2005). Uma forma de avaliação da participação da serotonina nesse processo é o uso do triptofano, um aminoácido precursor da serotonina, cujo aumento no plasma promove aumento dos níveis desse aminoácido no encéfalo (WEINBERG et al., 2001; HSEU et al., 2003; HOGLUD et al., 2005; HOSHIBA, 2007). Da mesma forma, algumas substâncias têm sido investigadas por interferirem nas vias fisiológicas de produção e atuação da serotonina, como, por exemplo, fármacos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (fluoxetina, paroxetina, sertralina, entre outros) (PERREAULT et al., 2003; LYNN et al., 2007) e bloqueadores de síntese, como o paraclorofenilalanina (PCPA) (ADAMS et al., 1996).

Assim, o presente estudo testou o uso do triptofano na dieta, a fluoxetina e o PCPA, para verificar seu papel na mediação do comportamento agressivo e no desenvolvimento e sobrevivência larval de matrinxã. Esse estudo foi realizado em duas condições de temperatura de cultivo, ou seja, com temperatura controlada em uma faixa de variação estreita (26-28°C) e outro com temperaturas variando de 19 a 31 °C.

Os resultados obtidos permitiram concluir que:

- 1) o uso de triptofano, como suplemento na ração, pode ser uma alternativa viável na criação de matrinxã, pois aumentou o crescimento e a sobrevivência da prole, exceto na concentração mais alta testada (2,96g/100g ração). De modo geral, as larvas alimentadas com triptofano suplementar apresentaram redução do canibalismo. Os

resultados sugerem a ação direta do triptofano na estimulação do crescimento e indireta, via síntese aumentada de serotonina, na redução do comportamento agressivo das larvas.

2) o uso de fluoxetina aumentou a sobrevivência da prole, com redução do canibalismo, e confirma a aparente ação da serotonina observada no experimento com suplementação de triptofano. O crescimento não foi afetado, exceto nas larvas tratadas com a concentração mais alta testada (5000 ppb de fluoxetina/L), em que houve uma redução do crescimento.

3) o estudo imunohistoquímico mostrou que o sistema serotoninérgico já está desenvolvido nas larvas de matrinxã e se assemelha ao de indivíduos jovens, confirmando a atividade deste sistema nas larvas estudadas.

4) o controle da temperatura no sistema de criação é necessário para um melhor desempenho das larvas. A instabilidade e variação da temperatura prejudicaram as respostas biológicas testadas neste estudo, sugerindo ser um estressor a mais para a homeostase das reações fisiológicas do animal.

4) a alimentação das larvas pode ser iniciada após o 1º dia de criação, diferentemente do preconizado.

5) o uso do fármaco PCPA apresentou resultados que não permitiram um padrão claro de respostas.

Os resultados são promissores e encorajam a continuidade das pesquisas nesta linha de investigação.

Do ponto de vista prático, para se avaliar se o uso do triptofano poderia melhorar a produtividade de uma piscicultura comercial, alguns dados foram simulados, a partir dos resultados obtidos. Dentre os custos de produção numa larvicultura, a ração representa somente 0,58% dos gastos, demonstrando como a suplementação da ração possui um baixo custo e um retorno econômico muito vantajoso (BARROS & MARTINS, 2005).

De acordo com as Tabelas 1 e 2, verifica-se que se uma piscicultura trabalhasse com a desova de 50 fêmeas e utilizasse a suplementação com 0,74 g ou 1,48 g/100 g ração conseguiria aumentar a sua produtividade final de 214 milheiros de matrinxã, para 307 e 385, respectivamente, o que poderia gerar um aumento no valor total de R\$ 4666,67 e R\$ 8556,11, respectivamente. Se superestimar-se e considerar como 1% o custo da ração já suplementada ainda haveria um lucro de R\$ 4620,00 e R\$ 8470,00 respectivamente. Dessa forma, conclui-se que a suplementação da ração com o triptofano pode ser promissora para o desenvolvimento da criação de matrinxã

Tabela 1- Simulando a produção de 1, 10 e 50 fêmeas de matrinxã de acordo com os tratamentos (Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74 g / 100 g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração).

Nº fêmeas	Produção/milheiro		
	Trat 1	Trat 2	Trat 3
1	4,29	6,16	7,71
10	42,89	61,56	77,11
50	214,44	307,78	385,57

Tabela 2 - Simulando a venda de alevinos de matrinxã de acordo com os tratamentos obtidos da desova de 50 fêmeas (Trat.1 – ração controle; Trat.2 – ração suplementada com 0,74g / 100g ração; Trat.3 - ração suplementada com 1,48g / 100g ração).

Tratamento	Valor milheiro em reais	Quantidade (milheiro)	Valor total (Reais)
Trat. 1	250	214,44	10722,22
Trat. 2	250	307,78	15388,89
Trat. 3	250	385,57	19278,33

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. F.; LILEY, N. R.; GORZALKA, B. B. PCPA increases aggression in male firemouth cichlids. **Pharmacology**, v.53, p.328–330, 1996.

AHMED, I.; KHAN, M. A. Dietary tryptophan requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquac. Res.**, v.36, p.685-697, 2005.

BARROS, A.F.; MARTINS, M.I.E.G. Análise econômica de um sistema comercial de larvicultura e alevinagem de Peixes. **Anais... ZOOTEC'2005 - Campo Grande-MS**, 2005

BERNARDINO, G.; SENHORINI, J. A.; FONTES, N. A.; BOCK, C. L.; MENDONÇA, J. O. J. Propagação artificial do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), (*Teleostei*, *Characidae*). **B. Tec. CEPTA**, v.6, p.1-9, 1993.

BRÄNNÄS, E.; LINNÉR, J.; ERIKSSON, O. Aggression and grown as an effect of size composition in groups of artic charr. **J. Fish Biol.**, v.60, p.1331-1334, 2002.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP. 1992.189p.

CECCARELLI, P. S. **Canibalismo em larvas de matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869)**. 1997. 92f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

FERRIS, C. F.; MELLONI, R. H.; KOPPEL, G.; PERRY, K. W.; FULLER, R. W.; DELVILLE, Y. Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. **J. Neurosci.**, v.17, p.4331– 4340, 1997.

FOLKVORD, A.; OTTERA, H. Effects of initial size distribution, day length, and feeding frequency on growth, survival, and cannibalism in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Aquacult.**, v.114, p.243-260, 1993.

GOMES, L. C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J. A. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquacult.**, v.183, p.73-81, 2000.

GREAVES, K.; TUENE, S. The form and context of aggressive behaviour in farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). **Aquacult.**, v.193, p.139-147, 2001.

HETCH, T.; PIENAAR, A. G. Cannibalism: the hidden mortality in larviculture. In Larvi'91- Fish & Crustacean Larviculture Symposium. **Europ. Aquacult. Soc.** Special Publication, v.15, p.277, 1991.

HÖGLUND, E.; BAKKE, M. J.; ØVERLI, Ø.; WINBERG, S.; NILSSON, G. E. Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. **Aquacult.**, v.249, p.525-531, 2005.

HOSHIBA, M.A. **Enriquecimento da alimentação das larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) com aminoácidos. Influência no crescimento inicial e sobrevivência das larvas.** 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

HSEU, J. R.; LU F. I.; SU, H. M.; WANG, L. S.; TSAI, C. L.; HWANG, P. P. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. **Aquacult.**, v.1, p.1-12, 2003.

LANDINES, M. A.; SANABRIA, A. I.; SENHORINI, J. A.; URBINATI, E. C. The influence of triiodothyronine (T_3) on the early development and survival of piracanjuba (*Brycon orbignyianus*). **Fish Physiol. Biochem.**, v.36, p.1291-1296, 2010.

LARSON, E. T.; SUMMERS, C. H. Serotonin reverses dominant social status. **Behav. Brain Res.**, v.121, p.95– 102, 2001.

LEPAGE, O.; LARSON, E. T.; MAYER, I.; WINBERG, S. Tryptophan affects both gastrointestinal melatonin production and interrenal activity in stressed and non stressed rainbow trout. **J. Pineal Res.**, v.38, p.264–271, 2005.

LEPAGE, O.; VILCHEZ, I. M.; POTTINGER, T. G.; WINBERG, S. Timecourse of the effect of dietary l-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p.3589– 3599, 2003.

LYNN, S. E.; EGAR, J. M.; WALKER, B. G. ; SPERRY, T. S.; RAMENOFISKY, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. **Adv. Physiol. Educ.**, v.31, p.358-363, 2007.

PERREAULT, H. A. N.; SEMSAR, K; GODWIN, J. Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. **Physiol. Behav.**, v.79, p.719– 724, 2003.

SOARES, M. C. F.; URBINATI, E. C.; SENHORINI, J. A. Variação Periódica da triiodotironina (T_3) plasmática e sua ação na reprodução induzida do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro. **R. Bras. Zootec.**, v.32, n.6, p.1825-1834, 2003.

URBINATI, E. C.; SOARES, M. F.; SENHORINI, J. A. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). **J. Aquac. Trop.**, v.18, p.217-224, 2003.

WINBERG, S.; MYRBERG, A. A.; NILSSON, G. E. Agonistic interactions affect brain serotonergic activity in an acanthopterygian fish: the bicolor damselfish (*Pomacentrus partitus*). **Brain Behav. Evol.**, v.48, p.213– 220, 1996.

WINBERG, S.; NILSSON, G. E. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. **Comp. Bioch. and Physiology**, v.106C, p.597–614, 1993.

WINBERG, S.; NILSSON, G. E.; OLSEN, K. H. Changes in brain serotonergic activity during hierarchical behavior in arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) are socially induced. **J. Comp. Physiol. A Sens. Neural Behav. Physiol.**, v. 170, p. 93– 99, 1992.

WINBERG, S.; NILSSON, G. E.; OLSEN, K. H. Social rank and brain levels of monoamines and monoamine metabolites in arctic charr, *Salvelinus alpinus*. **J. Comp. Physiol. A Sens. Neural Behav. Physiol.**, v.168, p.241– 246, 1991.

WINBERG, S.; ØVERLI, Ø.; LEPAGE, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. **J. Exp. Biol.**, v.204, p.3867–3886, 2001.

WINBERG, S.; WINBERG, Y.; FERNALD, R. D. Effect of social rank on brain monoaminergic activity in a cichlid fish. **Brain Behav. Evol.**, v.49, p.230– 236, 1997.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Tradução Vera Lucia Mixtra Chama. Brasília: FAO/CODECAS/CNPq, 1983, 220p.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. **Rev. Colom. Cienc. Pec.**, v.19, n.2, 2006.