



CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

**EFEITO DA HOMOGENEIDADE DE
TAMANHO SOBRE O COMPORTAMENTO
AGRESSIVO E O ESTRESSE SOCIAL NA
TILÁPIA-DO-NILO (*OREOCHROMIS
NILOTICUS*), LINHAGEM TAILANDESA.**

TATIANA NUNES BARRETO

MESTRADO



PÓS GRADUAÇÃO
EM BIOLOGIA ANIMAL

2011

Universidade Estadual Paulista
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

TATIANA NUNES BARRETO
BIÓLOGA

**EFEITO DA HOMOGENEIDADE DE TAMANHO SOBRE O
COMPORTAMENTO AGRESSIVO E O ESTRESSE SOCIAL NA
TILÁPIA-DO-NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*), LINHAGEM
TAILANDESA.**

Orientadora: PROFA. DRA. ELIANE GONÇALVES-DE-FREITAS

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, área de Ecologia e Comportamento, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

-2011-

Barreto, Tatiana Nunes.

Efeito da homogeneidade de tamanho sobre o comportamento agressivo e o estresse social na tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem tailandesa / Tatiana Nunes Barreto. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2011.

37 f. ; 30 cm.

Orientador: Eliane Gonçalves de Freitas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biologia animal. 2. Comportamento social dos animais. 3. Tilápia (Peixe) - Comportamento. 4. Hierarquia de Dominância. I. Gonçalves-de-Freitas, Eliane. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 597.5

Data da Defesa: 28/02/2011

Banca Examinadora

Titulares:

Prof^a. Dr^a. Eliane Gonçalves-de-Freitas
(Orientadora) UNESP/São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati
UNESP/Jaboticabal

Prof. Dr. Bernardo Baldisserotto
UFSM/Santa Maria

Suplentes:

Prof(a). Dr(a). Silvia Mitiko Nishida,
UNESP/Botucatu

Dr(a). Giovani Sampaio Gonçalves
Instituto de Pesca/São José do Rio Preto

Dedico

Aos meus pais Pérola e José Barreto pela vida, amor, educação, exemplo, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu irmão Thiago pela amizade, atenção e companheirismo.

Aos meus avós Zulmira e Zinho pela ajuda, preocupação, presença e afeto.

Amo Vocês!

"O homem erudito é um descobridor de fatos que já existem. Mas o homem sábio é um criador de valores que não existem e que ele faz existir".

Albert Einstein

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo e principalmente para a minha formação pessoal e profissional. Em especial:

- À **Prof^ª. Dr^a. Eliane Gonçalves de Freitas**, pela oportunidade, confiança e ensinamentos embasados em uma orientação profissional e ética;
- Aos **Docentes** do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, bem como a todos os professores que tive ao longo destes anos;
- Ao **Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo** e ao pesquisador **Dr. Giovani Sampaio Gonçalves** pelas críticas e sugestões proferidas no exame geral de qualificação;
- À **MSc. Roselene S. Costa Ferreira** e ao **bioterista Carlos Eduardo de Souza** pela amizade e disposição em auxiliar nos procedimentos técnicos do laboratório;
- À **Prof^a. Dr^a. Rosana Nogueira de Moraes** do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Reprodutiva da Universidade Federal do Paraná (UFPR) pela colaboração nas análises hormonais;
- Ao CAUNESP pela doação dos peixes, especialmente ao **Prof. Dr. Dalton José Carneiro** do Departamento de Zootecnia e não-ruminantes;

- Aos novos e antigos amigos do Laboratório de Comportamento Animal: **André, Angelo, Camila, Fábio, Fabrício, Francine, Marcela, Manoela, Maristela e Thaís** pela amizade, ensinamentos e discussões. Em especial ao Angelo, Fábio e Maristela pelo auxílio na coleta de dados e manutenção dos experimentos, e à Camila pelo auxílio no transporte dos animais de Jaboticabal para São José do Rio Preto;

- Aos **Amigos** que fiz ao longo da minha vida acadêmica e que, independentemente da proximidade ou distância atual, com seu companheirismo e amizade tornaram esse longo caminho mais agradável, contribuindo para o meu crescimento e formação profissional, mas principalmente pessoal. Em especial aos inseparáveis companheiros de trabalhos, noites de estudos, discussões e também muita diversão: **Adriana, André, Fernando, Gisele, Marcelo, Natalia, Paula e Raduan**;

- Ao grupo **PET** 2007-2008 e ao nosso tutor **Prof. Dr. Classius de Oliveira** pela oportunidade de fazer parte dessa família e viver momentos e experiências únicos;

- À toda minha **Família** pelo exemplo, incentivo, força e torcida ao longo destes anos;

- À **Deus** pela vida e livre arbítrio.

Trabalho Financiado pelo CNPq (proc. 479600/2008-2) e pela FAPESP (proc. 2009/04690-6)

Sumário

RESUMO.....	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1 Estoque e manutenção dos peixes	14
2.2 Estratégia experimental	14
2.2.1 Interação agressiva	15
2.2.2 Estabilidade da hierarquia de dominância	16
2.2.3 Indicadores de estresse social	16
2.3 Análise estatística.....	17
2.4 Nota ética	18
3. RESULTADOS	18
3.1 Interação agressiva	18
3.2 Estabilidade da hierarquia de dominância	18
3.3 Indicadores de estresse social	19
4. DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÕES.....	24
6. REFERÊNCIAS	25
TABELAS.	31
FIGURAS	33

O presente trabalho será submetido para publicação na revista

Applied Animal Behaviour Science

(ISSN: 0168-1591)

RESUMO

O manejo da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* (L.)) seleciona animais de tamanhos similares gerando uma simetria na habilidade de luta, o que pode levar a intensas interações agressivas e à instabilidade social. Tais condições podem induzir, também, um aumento do estresse social devido ao aumento das lutas, probabilidade de injúrias e intenso gasto energético. Assim, este estudo testou a hipótese de que a homogeneidade de tamanho dos animais aumenta a frequência das interações agressivas, causando instabilidade social e maior estresse social em machos revertidos de tilápia-do-nilo, linhagem tailandesa. Foram comparados dois tratamentos: 1. Grupo homogêneo (HO, n = 12) – formado por cinco machos de tamanhos similares e 2. Grupo heterogêneo (HE, n = 12) - formado por cinco machos de tamanhos diferentes. Os grupos foram mantidos por 05 dias e filmados diariamente (10 minutos/dia), exceto no primeiro dia de agrupamento, para registro e quantificação das interações agonísticas e para determinar a posição social (*rank*) dos animais. O nível de cortisol plasmático foi utilizado para inferir o nível de estresse dos animais. As frequências de ataques totais (média $\pm$ E.P.: HE = $367,8 \pm 24,22 \cdot 40 \text{ min}^{-1}$; HO = $446,4 \pm 20,36 \cdot 40 \text{ min}^{-1}$) e de ataques de alta intensidade (média $\pm$ E.P.: HE = $83,33 \pm 5,6 \cdot 40 \text{ min}^{-1}$; HO = $109,0 \pm 8,88 \cdot 40 \text{ min}^{-1}$) foram maiores no tratamento HO. A estabilidade da hierarquia não apresentou diferença estatística entre os tratamentos, sendo ambos considerados estáveis (Teste t, P = 0,12). No entanto, a hierarquia demorou mais tempo para ser estabelecida no tratamento HO. A concentração de cortisol plasmático (média $\pm$ E.P.: HE = $36,93 \pm 3,51 \text{ ng.ml}^{-1}$; HO = $38,38 \pm 2,66 \text{ ng.ml}^{-1}$) não diferiu entre os tratamentos. Assim, concluiu-se que uma maior frequência de interações agressivas não aumenta o estresse nos animais e não causa instabilidade da hierarquia de dominância, embora retarde o estabelecimento da mesma. No entanto, o agrupamento homogêneo não é uma boa estratégia porque as chances de injúrias são maiores que no agrupamento heterogêneo, reduzindo o bem-estar do animal. Embora não tenha sido encontrada diferença no nível de cortisol considerando-se o grupo, no tratamento HE os dominantes apresentaram cortisol mais elevado, demonstrando que o estresse social é concentrado nos dominantes nessas condições, enquanto manifesta-se de maneira similar entre os animais em grupos homogêneos.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, Agressividade, Hierarquia de dominância, Instabilidade social, Estresse social.

1. INTRODUÇÃO

Uma grande gama de estímulos desafia os peixes o tempo todo, tanto em cativeiro quanto em ambiente natural (Galhardo e Oliveira, 2009). Sob condições de aquicultura, os desafios naturais se somam àqueles impostos pela atividade como, por exemplo, práticas de manejo, transporte, tratamentos e altas densidades de estocagem. Desse modo, os animais apresentam meios de lidar com os desafios a fim de confrontá-los e de superá-los para garantir sua sobrevivência (Lima et al., 2006). Via de regra, a maior parte dos desafios ambientais é acompanhada por ajustes que fazem parte do estresse.

Segundo Moberg (2000), estresse é definido como uma resposta biológica gerada quando um indivíduo percebe alguma ameaça ao equilíbrio dinâmico do organismo (homeostase), em decorrência da ação de estímulos intrínsecos ou extrínsecos denominados estressores. Tais estressores também provocam um conjunto de respostas comportamentais e fisiológicas como ação compensatória e/ou adaptativa, habilitando o animal a superar os desafios ambientais (Wendelaar-Bonga, 1997).

A resposta estressora em peixes é muito similar àquela observada em outros vertebrados e pode ser descrita em três estágios, referidos como resposta primária, secundária e terciária (Barton, 2002; Galhardo e Oliveira, 2009; Lima et al., 2006). A resposta primária inclui mudanças hormonais, particularmente em relação aos níveis de cortisol e catecolaminas circulantes. A resposta secundária envolve ajustes comportamentais e uma ampla variedade de mudanças na bioquímica hematológica, nos batimentos cardíacos, na absorção de oxigênio, na mobilização de substratos de energia e, ainda, no balanço hidromineral. A resposta terciária está relacionada com a longa exposição ao estressor e manifesta-se pela inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune.

As técnicas de manejo utilizadas em diversos sistemas de criação da piscicultura sempre provocam algum tipo de estresse, situação que pode ser intensificada quando o manejo envolve peixes sociais. Nessas espécies, os animais são organizados em territórios e uma hierarquia de dominância é estabelecida (Zayan, 1991). Tal hierarquia freqüentemente se desenvolve com o indivíduo dominante tendo acesso prioritário a importantes recursos ambientais tais como alimento, território e parceiro sexual. Assim, quando há variação no tamanho do grupo e/ou no ambiente, a hierarquia tem que ser redefinida por meio de brigas, afetando os níveis de estresse social do grupo (Huntingford e Chellappa, 2006; Johnsson et al., 2006).

Zayan (1991) destacou que o estresse social é uma resposta fisiológica, refletindo estressores físicos, como densidade e interação agonística, e psicológicos, como instabilidade hierárquica e submissão. Um exemplo da influência de tais estressores no comportamento dos animais é a seleção por tamanho, onde os indivíduos de tamanhos semelhantes são agrupados, o que pode aumentar a intensidade das interações agressivas (Beeching, 1992; Koops e Grant, 1993) e, conseqüentemente, os níveis de estresse social no grupo.

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), uma espécie amplamente utilizada na piscicultura brasileira (Marengoni, 2006), define hierarquia de dominância por meio de confrontos agressivos e os animais ficam sujeitos ao estresse social, sendo os submissos mais estressados que os dominantes (Corrêa et al., 2003). Uma das conseqüências do estresse social para tal espécie é a redução do crescimento do submisso devido ao aumento da taxa metabólica (Fernandes e Volpato, 1993; Volpato e Fernandes, 1994), causando diferenças de tamanho na população, ou crescimento heterogêneo (Volpato et al., 1989). Mesmo tal diferença não sendo desejável para os produtores, ela tem um papel importante na sobrevivência da espécie, pois reduz os confrontos agressivos e a duração das lutas (Koops e Grant, 1993). Quando ciclídeos de tamanhos semelhantes se encontram, as brigas são mais

prolongadas (Beeching, 1992) e o nível de estresse pode ser maior para dominantes e submissos (Fox et al., 1997). Dessa forma, quando os animais são agrupados por similaridade de tamanho durante o manejo, a instabilidade social gerada pode aumentar o estresse social no grupo, aumentando as chances de mortalidade pelo gasto excessivo de energia ou injúrias físicas decorrentes das interações agressivas prolongadas (Koops e Grant, 1993; Turnbull et al., 1998).

Embora se conheça o efeito de agrupamentos simétricos sobre os confrontos e o estresse social para salmonídeos (Overli et al., 2004; Yue et al., 2006) e algumas espécies de ciclídeos (Fox et al., 1997; Oliveira e Almada, 1996), nada foi ainda estudado para a tilápia-do-nilo e suas diferentes linhagens. Quando determinadas características são selecionadas artificialmente, alguns comportamentos podem ser alterados em função dessa seleção, como os níveis de agressividade ou de estresse social (Schjolden e Winberg, 2007). Além disso, o bem-estar em peixes vem sendo considerado sob vários aspectos (Volpato et al., 2007; Volpato et al., 2009) e todas as informações sobre o comportamento dos animais utilizados na piscicultura são de grande valia para propor técnicas mais adequadas de manejo e criação (Huntingford et al., 2006), incluindo as influências das interações sociais sobre o bem-estar (Adam et al., 2007). Assim, este estudo teve por **OBJETIVO** testar o efeito de grupos de tamanho homogêneo e heterogêneo sobre o comportamento agressivo de machos revertidos da tilápia-do-nilo, linhagem tailandesa, por meio da avaliação das interações agonísticas, da estabilidade social e do estresse social em machos revertidos. De acordo com o exposto, testou-se a hipótese de que grupos compostos por animais de tamanho homogêneo apresentam uma maior frequência de interações agonísticas do que grupos heterogêneos, além de apresentarem instabilidade social e níveis mais elevados de cortisol plasmático devido ao aumento do estresse social.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Estoque e manutenção dos peixes

Foram utilizados machos revertidos de tilápia-do-nilo, *O niloticus* (L.), linhagem tailandesa, provenientes do Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP, de Jaboticabal, São Paulo - Brasil. Os animais foram mantidos por 20 dias, para aclimação, em caixas de polietileno de 500 L (1 peixe / 5L), no Laboratório de Comportamento Animal do IBILCE, UNESP de São José do Rio Preto, São Paulo - Brasil (Laboratório associado ao CAUNESP). Nesse período a temperatura da água foi mantida em $27 \pm 2^\circ \text{C}$, o fotoperíodo foi de 12 horas de luz (das 7:00 h às 19:00 h) e os animais foram alimentados com ração comercial (36% P.B.), em excesso, duas vezes ao dia. As caixas de água eram equipadas com filtros externos tipo canister para manutenção de uma boa qualidade da água; além disso, eram sifonadas uma vez por semana, com renovação de $\frac{1}{4}$ da água, para retirada de fezes e restos de alimentos.

2.2 Estratégia experimental

Para testar o efeito da homogeneidade de tamanho sobre o comportamento agressivo de machos revertidos da tilápia-do-nilo, linhagem tailandesa foram realizadas 12 réplicas para cada um de dois tratamentos, denominados homogêneo (HO) e heterogêneo (HE). No tratamento HO foram agrupados cinco machos revertidos de tamanhos semelhantes, de modo que os animais apresentaram comprimento ao redor de 10 cm e a variação entre os tamanhos, dentro de cada réplica, não excedeu 0,5 cm (Tab. 1). Já no tratamento HE, os grupos foram formados por cinco machos revertidos de tamanhos diferentes, que apresentavam entre 8 cm e 12 cm e cuja variação foi $\geq 0,8$ cm (Tab. 1). Além das interações sociais, foi avaliada a concentração de cortisol plasmático como indicador de estresse (Wendelaar-Bonga, 1997).

Os animais permaneceram agrupados por 05 dias, durante os quais foram mantidos em aquários de vidro (60 x 60 x 40 cm, 144 L) com as paredes laterais e posteriores cobertas com plástico azul para evitar a comunicação visual entre peixes de aquários adjacentes. A cor foi escolhida por reduzir o estresse na tilápia-do-nilo (Volpato e Barreto, 2001). A temperatura da água foi controlada para $27 \pm 2^\circ \text{C}$ por termostatos individuais e o fotoperíodo foi de 12 horas de luz, tendo início às 7:00 h. Os animais foram alimentados com ração comercial (36% P.B.), na proporção de 2% da biomassa, oferecida duas vezes ao dia, com exceção do dia 1 em que os animais não eram alimentados na parte da manhã. Um filtro biológico foi utilizado em cada aquário para a oxigenação e manutenção da qualidade da água.

2.2.1 Interação agressiva

Cada réplica foi filmada diariamente, exceto no dia da montagem do experimento, durante 10 minutos para registro das interações agonísticas do grupo e para acessar a posição social (*rank*) dos indivíduos. Os animais foram identificados individualmente por pequenos cortes na nadadeira caudal, como realizado por Fernandes e Volpato (1993). De acordo com Roques et al. (2010), o corte da nadadeira é um procedimento doloroso que reduz o bem-estar do animal. No entanto, esse método é realizado com o animal anestesiado e não afeta o comportamento ou a locomoção, como já verificado em experimentos anteriores em nosso laboratório (observação pessoal).

Os comportamentos registrados foram analisados e quantificados com base nos etogramas de Falter (1983) e Alvarenga e Volpato (1995) para a tilápia-do-nilo, sendo eles: ameaça, confronto frontal, confronto paralelo, confronto lateral, ondulação e perseguição (Tab. 2). Segundo Nelissen (1986), há uma tendência dos animais apresentarem comportamentos de alta intensidade com maior frequência no início do agrupamento, indicando que há instabilidade social. Depois do estabelecimento da hierarquia predominam

os confrontos de baixa intensidade, que são sinalizações. Assim, para uma melhor análise dos resultados, os comportamentos foram divididos em ataques de alta e baixa intensidade, como segue:

- Alta Intensidade: comportamentos de ataque (golpes) que envolvem contato físico direto ou indireto, tais como confrontos frontal, paralelo, lateral e ondulação.
- Baixa Intensidade: comportamentos agonísticos que não envolvem contato físico (*displays*), como perseguição e ameaça.

2.2.2 Estabilidade da hierarquia de dominância

Para acessar o *rank* (ou posição social) foi utilizado o Índice de Dominância (ID = número de ataques emitidos pelo indivíduo / número de ataques totais do grupo), de acordo com Lehner (1996) e Gonçalves-de-Freitas et al. (2008). Com base no Índice de Dominância Médio dos animais (ID_{médio} = soma dos ID's do animal / número de filmagens) foi estabelecido um ranqueamento de 1 a 5, para cada réplica, em ambos os tratamentos estudados. De acordo com tal ranqueamento o animal 1 era o dominante e o animal 5 o submisso, sendo os animais 2, 3 e 4 os intermediários.

Para definir se a hierarquia era estável, foi utilizado o teste de correlação de *Spearman*, comparando o ID de cada um dos animais entre os dias de agrupamento. A hierarquia do grupo foi considerada estável quando o R entre os dias de agrupamento era $\geq 0,70$, de acordo com os critérios de Oliveira e Almada (1996) para *Oreochromis mossambicus*.

2.2.3 Indicadores de estresse social

No início e ao final do período de agrupamento, os animais foram anestesiados com benzocaína (0,35g/5L) para biometria e coleta de sangue. Para reduzir possíveis efeitos da variação circadiana sobre as concentrações de glicocorticóides, as amostras sanguíneas foram

coletadas sempre entre 09:00 h e 10:30 h. Foram retirados $0,3 \pm 0,1$ ml de sangue pela veia caudal, utilizando-se seringas heparinizadas para evitar coagulação sanguínea. O sangue foi centrifugado a 3.000 rpm/10 min, o plasma foi separado e congelado a -20°C . Após a coleta de sangue no último dia de agrupamento, os animais foram mortos por dose letal de anestésico (0,90g/5L) para confirmação do sexo. A concentração de cortisol plasmático foi medida pelo método ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) de acordo com a metodologia descrita por Brown et al. (2004). Antes de iniciar os ensaios, foi realizada a validação do método para o plasma da linhagem tailandesa da tilápia-do-nilo por teste de similaridade imunogênica entre o antígeno utilizado como padrão no ensaio e o antígeno a ser dosado na amostra.

2.3 Análise estatística

Inicialmente os valores discrepantes (*outliers*) foram retirados dos dados brutos e substituídos pelas medianas. Em seguida, a normalidade dos dados foi avaliada pelos valores de Skewness e Kurtosis e a homocedasticidade pelo teste F Max (Ha e Ha, 2007). Quando necessário, os dados foram transformados segundo a fórmula $\text{Log}_{10}(x+1)$ (Quinn e Keough, 2002). Foi considerado $p \leq 0,05$ como referência para se atribuir significância estatística.

A frequência de ataques totais do grupo e a estabilidade da hierarquia foram comparadas entre os tratamentos por Teste-t de Student não pareado (Ha e Ha, 2007). A proporção de grupos estáveis dentro de cada tratamento foi comparada por teste Binomial (Goodman, 1956), sendo considerados estáveis os grupos que apresentaram estabilidade em 70% ou mais dos dias amostrados, de acordo com Carvalho e Gonçalves-de-Freitas (2011, in press) para a tilápia-do-nilo. Para comparar a frequência de ataques de alta e baixa intensidade, a concentração inicial e final de cortisol plasmático entre os tratamentos e a estabilidade social entre as filmagens utilizou-se Análise de Variância Multifatorial (2-way

ANOVA) para medidas repetidas. A concentração final de cortisol plasmático foi comparada entre as posições hierárquicas em cada tratamento por *one-way* ANOVA. Foi utilizado teste de Mínima Diferença Significativa (LSD) para as comparações posteriores (Zar, 1999).

2.4 Nota ética

Os procedimentos adotados neste trabalho estão de acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa) da UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo - Brasil (protocolo 008/09).

3. RESULTADOS

3.1 Interação agressiva

A frequência de ataques totais emitidos foi maior no tratamento HO ($t = -2,45$, $P = 0,022$; Fig. 1A). Quando tais ataques foram separados em alta e baixa intensidade, a frequência de ataques de alta intensidade também foi maior no tratamento HO (2-way ANOVA para medidas repetidas; $F_{(1,22)} = 7,21$, $P = 0,013$ seguido de teste LSD, $P = 0,018$), enquanto a frequência de ataques de baixa intensidade não apresentou diferença entre os tratamentos (LSD, $P = 0,081$; Fig. 1B).

3.2 Estabilidade da hierarquia de dominância

A estabilidade da hierarquia, calculada pelo R de *Spearman*, não apresentou diferença estatística entre os tratamentos, sendo ambos considerados estáveis (média $\pm$ E.P.: HE = $0,84 \pm 0,03$; HO = $0,75 \pm 0,04$; $t = 1,62$, $P = 0,12$). No entanto, analisando-se a porcentagem de réplicas instáveis ($R < 0,7$) e estáveis ($R \geq 0,7$) em cada tratamento, ao longo do tempo de

agrupamento, observa-se que o tratamento HE se manteve estável desde a primeira comparação (Teste Binomial; HE $P > 0,05$; Fig. 2A); enquanto HO tornou-se estável apenas na última comparação, ou seja, entre o 4º e o 5º dia de agrupamento (Teste Binomial; HO $P < 0,05$; Fig. 2B).

3.3 Indicadores de estresse social

A concentração de cortisol plasmático não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (2-way ANOVA para medidas repetidas; $F_{(1,108)} = 0,59$, $P = 0,44$; Fig. 3). No entanto, a concentração inicial foi maior do que a final em ambos os tratamentos (2-way ANOVA para medidas repetidas; $F_{(1,108)} = 70,63$, $P < 0,01$ seguido de teste LSD, $P < 0,05$; Fig. 3).

Analizando o cortisol plasmático final dos cinco animais, em cada tratamento, verificou-se uma diferença na concentração deste hormônio entre os animais do tratamento HE, no qual os machos de maior posição no *rank* (dominantes) apresentaram maior concentração em relação aos de posição inferior (submissos) (*one-way* ANOVA; $F_{(4,55)} = 2,94$, $P = 0,028$ seguido de teste LSD, $P < 0,05$; Fig. 4A). Já os animais do tratamento HO não apresentaram diferença na concentração de cortisol plasmático entre si (*one-way* ANOVA; $F_{(4,45)} = 0,18$, $P = 0,94$; Fig. 4B).

4. DISCUSSÃO

No presente estudo foi observado que a homogeneidade de tamanho aumenta a frequência das interações agressivas entre os animais e retarda a estabilidade da hierarquia de dominância, corroborando parte da hipótese. No entanto, não foram encontradas diferenças nos níveis de cortisol do grupo, indicando semelhança nos níveis de estresse social entre os

tratamentos. Diferenças nos níveis de cortisol plasmático entre as posições sociais foram encontradas apenas no tratamento HE.

O tamanho relativo dos animais influencia o comportamento durante as lutas, sendo as maiores intensidades correlacionadas negativamente com a assimetria de tamanho (Chellapa et al., 1999; Earley et al., 2006). A maior frequência de ataques totais emitidos no tratamento HO indica que para a linhagem tailandesa da tilápia-do-nilo o agrupamento de animais de tamanhos semelhantes aumenta a motivação agressiva. Resultados semelhantes foram observados em outro ciclídeo, *Astronotus ocellatus*, espécie capaz de avaliar visualmente o tamanho de réplicas de animais e ajustar a intensidade da sua resposta agressiva em função da assimetria no tamanho do corpo, atacando de maneira mais intensa as réplicas de tamanho similar (Beeching, 1992).

A reduzida diferença de tamanho entre os membros de um grupo faz com que os animais apresentem habilidade de luta e capacidade de exploração de recursos semelhantes, tornando as competições mais agressivas (Johnsson et al., 2006). Quando os peixes são agrupados, as interações começam a ocorrer após um tempo, e são caracterizadas por *displays* (Ros et al., 2006). Essas interações vão se tornando mais frequentes e agressivas até o estabelecimento da hierarquia de dominância (Nelissen, 1985), quando então, os confrontos agressivos são novamente substituídos por *displays*, indicando o reconhecimento da relação hierárquica (Volpato e Fernandes, 1994). Dessa forma, a maior frequência de confrontos de alta intensidade no tratamento HO pode ser considerada como consequência da semelhança na habilidade de luta dos animais agrupados (Enquist e Jakobsson, 1986), o que retarda o estabelecimento da hierarquia de dominância no grupo. A habilidade de formar ou estabelecer hierarquias estáveis é uma solução evolutiva para a competição por recursos (Sneddon et al., 2006) e, uma vez que são estabelecidas, os confrontos de alta intensidade podem não ser necessários. Tais confrontos representam um alto custo energético para o animal (Vollestad e

Quinn, 2003), além de um maior risco de injúrias graves e até mesmo morte. Assim, quanto menor a frequência de confrontos de alta intensidade emitidos pelo animal maior a sua disponibilidade energética para investir em crescimento e outras funções metabólicas.

Estudos já comprovaram que a similaridade no tamanho dos indivíduos de um grupo pode gerar instabilidade da hierarquia (Koops e Grant, 1993). No entanto, tal resultado não foi observado no presente estudo, onde ambos os tratamentos apresentaram hierarquia estável ao final do agrupamento. Os elementos que tornam o membro de um grupo mais ou menos dominante incluem sexo e idade, assim como fatores morfológicos, fisiológicos e etológicos (Nelissen e Andries, 1988). Além disso, assimetrias na habilidade de luta podem afetar o resultado dos confrontos (Maynard-Smith e Parker, 1976).

A assimetria na habilidade de luta ou poder de exploração de recursos entre indivíduos pode ser definida pelo tamanho e peso (Turner, 1994), mas também pela residência prévia no território (Johnsson e Forser, 2002), experiência prévia de dominância ou submissão (Nelissen e Andries, 1988), níveis circulantes de andrógenos (Oliveira, 2009) e outros fatores que interferem nos níveis de agressividade do indivíduo. O efeito dessas assimetrias varia entre as espécies de ciclídeos estudadas, e sua importância pode ter diferentes valores no estabelecimento hierárquico em diferentes espécies, afetando os resultados das lutas. No entanto, uma vez que a hierarquia tenha sido estabelecida, diferentes sinalizações podem demonstrar a posição hierárquica do animal (Gonçalves-de-Freitas et al., 2008) como, por exemplo, sinais visuais (Volpato et al., 2003) e químicos (Giaquinto e Volpato, 1997), reduzindo assim os confrontos e permitindo a manutenção da estabilidade.

Apesar de ambos os tratamentos apresentarem hierarquia estável, ao analisar a porcentagem de grupos estáveis e instáveis ao longo do período de agrupamento pode-se verificar que no tratamento HE a hierarquia já havia sido estabelecida no primeiro dia, enquanto no tratamento HO o estabelecimento ocorreu apenas no quarto dia de agrupamento.

A simetria de tamanho dos animais no tratamento HO levou a uma competição pela dominância hierárquica mais intensa e, conseqüentemente, mais duradoura. No entanto, como a habilidade de luta de um animal não depende apenas do seu tamanho corporal, outros fatores podem ter influenciado as interações e determinado a estabilidade hierárquica.

Embora alguns estudos relatem uma associação positiva entre os níveis de cortisol plasmático e a frequência de interações agressivas em outras espécies de ciclídeos (Barcellos et al., 1999; Overli et al., 1999), na linhagem tailandesa da tilápia-do-nilo tal relação não foi confirmada. Apesar da frequência de interações agressivas ter sido maior no tratamento HO, a concentração de cortisol plasmático não apresentou diferença entre os tratamentos estudados.

Analisando a concentração de cortisol antes e após o agrupamento verificou-se um nível final menor do que o inicial, e a diferença de densidade a que os animais foram submetidos pode ter sido o principal fator responsável por tal resultado. Estudos recentes têm dedicado atenção à densidade de estocagem como um dos fatores responsáveis pelos níveis perceptivos de estresse em peixes (Ellis et al., 2002; North et al., 2006) e indicam níveis elevados de cortisol plasmático em animais mantidos em grupos quando comparados com animais isolados ou em duplas (Lupatsch et al., 2010; Uglem et al., 2009).

Neste estudo, durante o período de aclimação os animais permaneceram em caixas de polietileno de 500 litros na proporção aproximada de 1 peixe a cada 5 litros. Tal proporção não é considerada elevada, sendo o valor médio utilizado na realização de experimentos em laboratório. No entanto, quando os animais foram transferidos para o aquário a densidade diminuiu para 1 peixe a cada 28 litros. A maior chance de encontros entre coespecíficos devido à maior densidade, como no período de aclimação, aumenta o estresse social nos animais (Barcellos et al., 1999) e pode ter resultado no maior nível de cortisol plasmático inicial.

Além disso, grande parte dos trabalhos publicados foram realizados com apenas uma ou algumas horas de pareamento (Earley et al., 2006; Yue, Duncan e Moccia, 2006), enquanto neste estudo os animais permaneceram agrupados por 05 dias, sugerindo uma possível diferença na resposta do cortisol em relação ao estresse agudo e crônico. O menor nível de cortisol plasmático ao final do pareamento também pode ser devido à exaustão do eixo pituitária-interrenal, como resultado de uma hiperatividade prolongada do sistema e inabilidade na compensação do distúrbio fisiológico do estresse (Fagundes e Urbinati, 2008).

A maioria dos trabalhos relacionados a estresse social avalia interações agressivas em duplas, situação em que os ataques do dominante são direcionados exclusivamente ao animal submisso, que apresenta respostas fisiológicas de estresse social mais acentuadas (Corrêa et al., 2003; Zayan, 1991). Quando os animais são mantidos em grupos maiores, os ataques do dominante são mais distribuídos e não se direcionam a um único indivíduo. Isso poderia explicar a maior concentração de cortisol plasmático final apresentada pelos animais dominantes no tratamento HE. Um animal tem a maior parte de suas interações com o seu vizinho no *rank* hierárquico (Nelissen, 1985), uma vez que os animais em posição intermediária desafiam o dominante de maneira mais constante. Já os indivíduos de menor posição tendem a evitar envolvimento em interações agonísticas (Oliveira e Almada, 1996) e apresentam níveis de cortisol plasmático mais baixos. De acordo com estudos realizados com truta, há diferença nos níveis de cortisol plasmático de dominantes e submissos em relação a diferenças no tamanho do grupo, bem como local de realização do experimento (Overli et al., 1999; Sloman et al., 2000; Sloman et al., 2008).

Segundo Zayan (1991), os futuros dominantes estão sob condição de estresse tanto quanto os futuros submissos enquanto a competição não for decidida. Assim, respostas equivalentes de estresse são esperadas nos membros de um grupo enquanto eles continuarem lutando pela dominância e enquanto as relações hierárquicas permanecerem incertas ou

provisórias (Zayan, 1991). Tal situação pode ser observada no tratamento HO, no qual a hierarquia começou a se estabilizar nas duas últimas filmagens, levando a um nível similar de cortisol plasmático em todos os animais do grupo.

5. CONCLUSÕES

Concluiu-se que uma maior frequência de interações agressivas não aumenta o estresse nos animais e não leva à instabilidade da hierarquia de dominância, embora retarde a definição da mesma. No entanto, tal agrupamento não seria a melhor estratégia de produção animal, pois peixes mais agressivos lutam por um período prolongado intensificando as consequências das interações sociais, o que pode resultar na redução do bem-estar dos animais envolvidos. Além disso, o cortisol mais elevado para os dominantes do tratamento HE demonstra que o estresse social é concentrado nos dominantes nessas condições, enquanto é similar entre as diferentes posições hierárquicas em agrupamentos homogêneos. Níveis de cortisol aumentados para os dominantes é uma interessante novidade, já que na maioria dos casos relatados os submissos é que se apresentam mais estressados.

6. REFERÊNCIAS

- Alvarenga, C.M.D., Volpato, G.L., 1995. Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiol. Behav.* 57, 75-80.
- Barcellos, L.J.G. Nocolaiewsky, S., Souza, S.M.G., Lulhier, F., 1999. The effect of stocking density and social interactions on acute stress response in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquac. Res.* 30, 887-892.
- Barton, B.A., 2002. Stress in Fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.* 42, 517-525.
- Beeching, S.C., 1992. Visual assessment of body size in a cichlid fish, the Oscar, *Astronotus ocellatus*. *Ethology* 90, 177-186.
- Brown, J., Walker, S.E., Steinmain, K., 2004. Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestics species. Virginia, EUA.
- Carvalho, T.B., Gonçalves-de-Freitas, E., 2011. Social stability related to sex group composition in the cichlid Nile tilapia. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology* 5(1), in press.
- Chellappa, S., Yamamoto, M.E., Cacho, M., Huntingford, F.A., 1999. Prior residence, body size and the dynamics of territorial disputes between male freshwater angelfish. *J. Fish Biol.* 55, 1163-1170.
- Corrêa, S.A., Fernandes, M.O., Iseki, K.K., Negrão, J.A., 2003. Effect of the establishment of dominance relationships on cortisol and other metabolic parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Braz. J. Med. Biol. Res.* 36, 1725-1731.
- Earley, R.L., Edwards, J.T., Aseem, O., Felton, K., Blumer, L.S., Karom, M., Grober, M.S., 2006. Social interactions tune aggression and stress responsiveness in a territorial cichlid fish (*Archocentrus nigrofasciatus*). *Physiol. Behav.* 88, 353-363.

- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D., 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J. Fish Biol.* 61, 493–531.
- Enquist, M., Jakobsson, S., 1986. Decision making and assessment in the fighting behaviour of *Nannacara anomala* (Cichlidae, Pisces). *Ethology* 72, 143-153
- Fagundes, M., Urbinati, E.C., 2008. Stress in pintado (*Pseudoplatystomas corruscans*) during farming procedures. *Aquaculture* 276, 112-119.
- Falter, U., 1983. Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l'incubation buccale. *Bull. Cl. Sci.* 69, 566-593.
- Fernandes, M.O, Volpato, G.L., 1993. Heterogeneous growth in Nile tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. *Physiol. Behav.* 54, 319-323.
- Fernandes-de-Castilho, M., Pottinger, T.G, Volpato, G.L., 2008. Chronic social stress in rainbow trout: Does it promote physiological habituation? *Gen. Comp. Endocrinol.* 155, 141 – 147.
- Fox, H.E., White, S.A., Kao, M.H.F., Fernald, R.D., 1997. Stress and dominance in a social fish. *J. Neurosci.* 17, 6463-6469.
- Galhardo, L., Oliveira, R.F., 2009. Psychological stress and welfare in fish. *Ann. Rev. Biomed. Sci.* 11, 1-20.
- Giaquinto, P.C., Volpato, G.L., 1997. Chemical communication, aggression and conspecific recognition in the fish Nile Tilapia. *Physiol. Behav.* 62, 1333-1338.
- Gonçalves-de-Freitas, E., Teresa, F.B., Gomes, F.S., Giaquinto, P.C., 2008. Effect of water renewal on dominance hierarchy of juvenile Nile tilapia. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 112, 187-195.

- Goodman, L.A., 1965. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. *Techometrics* 7 (2), 247-254.
- Ha, R.R., Ha, J.C., 2007. Integrative Statistics for the Behavioral Sciences. Pearson Custom Publishing, USA.
- Huntingford, F.A., Chellappa, S., 2006. Agressão, in: Yamamoto, M.E., Volpato, G.L. (Eds.), *Comportamento animal*. EDUFERN, Natal, pp. 157-173.
- Huntingford, F.A., Adams, C., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T.G., Sandoe, P., Turnbull, J.F., 2006. Current issues in fish welfare. *J. Fish Biol.* 68, 332-372.
- Johnsson, J.I., Forser, A., 2002. Residence duration influences the outcome of territorial conflicts in brown trout (*Salmo trutta*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 51, 282 – 286.
- Johnsson, J.I., Winberg, S., Sloman, K.A., 2006. Social interactions, in: Sloman, K.A., Wilson, R.W., Balshine, S. (Eds.), *Behaviour and Physiology of Fish (Fish Physiology)*. Elsevier, San Diego, pp. 151–196.
- Koops, M., Grant, J.W.A., 1993. Weight asymmetry and sequential assessment in convict cichlid contests. *Can. J. Zool.* 71, 475-479.
- Lehner, P.N. (1996). *Handbook of Ethological Methods*. Cambridge University Press, United Kingdom, 672p.
- Lima, L.C., Ribeiro, L.P., Leite, R.C, Melo, D.C, 2006. Estresse em peixes. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 30, 113-117.
- Lupatsch, I., Santos, G.A., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2010. Effect of stocking density level on energy expenditure and stress responsiveness in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 298, 245-250.
- Marengoni, N.G., 2006. Produção de tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Arch. Zootec.* 55 (210), 127-138.

- Maynard-Smith, J., Parker, G.A., 1976. The logic of asymmetric contests. *Anim. Behav.* 24, 159 – 175.
- Moberg, G.P., 2000. Biological response to stress: Implications for animal welfare, in: Moberg, G.P, Mench, J.A. (Eds.), *The Biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International, British Library, London, pp. 1-21.
- Nelissen, M.H.J., 1985. Structure of the dominance hierarchy and dominance determining "group factors" in *Melanochromis auratus* (Pisces, Cichlidae). *Behaviour* 94, 85-107.
- Nelissen, M.H.J., 1986. The development of a dominance hierarchy in *Melanochromis auratus* (Pisces, Cichlidae). *Ann. Kon. Mus. Mid. Afr., Zool Wetensch* 251, 17-20
- Nelissen, M.H.J., Andries, S., 1988. Does previous experience affect the ranking of cichlid fish in a dominance hierarchy. *Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique* 118, 41-50.
- North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J., Bromage, N.R., 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 255, 466–479.
- Oliveira, R.F., Almada, V.C., 1996. On the (in)stability of dominance hierarchies in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Aggress. Behav.* 22, 37-45.
- Oliveira, R.F., 2009. Social behavior in context: Hormonal modulation of behavioral plasticity and social competence. *Integr. Comp. Biol.* 49 (4), 423 – 440.
- Overli, O., Olsen R.E., Lovik F., Ringo E., 1999. Dominance hierarchies in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.: differential cortisol profiles of dominant and subordinate individuals after handling stress. *Aqua. Res.* 30, 259–64.
- Overli, O., Korzan, W.J., Hoglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Overli, E., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004. Stress coping style

- predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Horm. Behav.* 45 (4), 235-241.
- Quin, G.P., Keough, M.J., 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Roques, J.A.C., Abbink, W., Geurds, F., Van de Vis, H., Flik, G., 2010. Tailfin clipping, a painful procedure: Studies on Nile tilapia and common carp. *Physiol. Behav.* 101, 533-540.
- Ros, A.F.H, Becker, K., Oliveira, R.F., 2006. Aggressive behaviour and energy metabolism in a cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*. *Physiol. Behav.* 89, 164 – 170.
- Schjolden, J., Winberg, S., 2007. Genetically determined variation in stress responsiveness in rainbow trout: Behavior and neurobiology. *Brain Behav. Evol.* 70, 227-238.
- Sloman, K.A., Gilmour, K.M., Taylor, A.C., Metcalfe, N.B., 2000. Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout held under simulated natural conditions. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 11 - 20.
- Sloman, K.A., Baker, D., Winberg, S., Wilson, R.W., 2008. Are there physiological correlates of dominance in natural trout populations? *Anim. Behav.* 76, 1279-1287.
- Sneddon, L.U., Hawkesworth, S., Braithwaite, V.A., Yerbury, J., 2006. Impact of environmental disturbance on the stability and benefits of individual status within dominance hierarchies. *Ethology* 122 (5), 437 – 447.
- Turnbull, J.F., Adams, C.E., Richards, R.H., Robertson, D.A., 1998. Attack site and resultant damage during aggressive encounters in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Aquaculture* 159, 345-353.
- Turner, G.F., 1994. The fighting of male mouthbrooding cichlids: the effects of size and residency. *Anim. Behav.* 47, 655-662.

- Uglen, I., Kjorsvik, E., Gruven, K., Lamberg, A., 2009. Behavioural variation in cultivated juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in relation to stocking density and size disparity. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 117, 201 – 209.
- Vollestad, L.A., Quinn, T.P., 2003. Trade-off between growth rate and aggression in juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Anim. Behav.* 66, 261 – 268.
- Volpato, G.L., Frioli, P.M.A., Carrieri, M.P., 1989. Heterogeneous growth in fishes: some new data in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and a general view about the causal mechanism. *Boletim de Fisiologia Animal* 13, 7–22.
- Volpato, G.L., Fernandes, M.O., 1994. Social control of growth in fish. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 27, 797-810.
- Volpato, G.L., Barreto, R.E., 2001. Environmental blue light prevents stress in Nile tilapia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34, 104-1045.
- Volpato, G.L., Gonçalves-de-Freitas, E., Castilho, M.F., 2007. Insights into the concept of fish welfare. *Dis. Aquat. Org.* 75, 165-171.
- Volpato, G.L., Giaquinto, P.C., Castilho, M.F., Barreto, R.E., Gonçalves-de-Freitas, E., 2009. Animal Welfare: from concepts to reality. *Oecol. Bras.* 13, 05-15.
- Volpato, G.L., Luchiari, A.C., Duarte, C.R.A., Barreto, R.E., Ramanzini, G.C., 2003. Eye color as an indicator of social rank in the fish Nile tilapia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 36, 1659-1663.
- Wendeelar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77, 591-625.
- Yue, S., Duncan, I.J.H., Moccia, R.D., 2006. Do differences in conspecific body size induce social stress in domestic rainbow trout? *Environ. Biol. Fish.* 76, 425-431.
- Zar, J., 1999. *Biostatistical Analyses*. Printice Hall, New Jersey.
- Zayan, R., 1991. The specificity of social stress. *Behav. Process.* 25, 81-93.

Tabela 1. Comprimento padrão e peso (Média $\pm$ DP) dos peixes dos tratamentos homogêneo e heterogêneo.

	Homogêneo	Heterogêneo
Comprimento padrão (cm)	10,59 $\pm$ 0,59	10,42 $\pm$ 1,33
Peso (g)	36,78 $\pm$ 6,25	35,86 $\pm$ 14,34
Coefficiente de Variação (%)	1,73 $\pm$ 0,46	13,49 $\pm$ 2,01

Tabela 2. Breve descrição dos padrões comportamentais de interação agonística.

Comportamento agonístico	Descrição
Ameaça	O animal se aproxima do oponente com a boca aberta, preparando-se para uma mordida lateral, mas seu oponente foge antes de ser atacado.
Confronto Frontal	Dois animais se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo.
Confronto Paralelo	Dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam simultaneamente o corpo, sem que ocorra contato físico direto.
Confronto Lateral	Um animal se aproxima de outro e ataca a região lateral do oponente com mordidas ou golpes com a boca aberta.
Ondulação	Um animal ondula vigorosamente o corpo no sentido antero-posterior. Este padrão é semelhante ao confronto paralelo, mas é emitido por apenas um indivíduo.
Perserquição	Um animal nada em direção ao outro, acompanhando sua trajetória. Pode culminar em ataques ao perseguidor ou numa natação mais rápida do animal perseguido, distanciando-se do oponente.
Total de confrontos	Soma de todas as unidades agonísticas analisadas.

Legenda das Figuras

Figura 1. Média ($\pm$ erro-padrão) da frequência de ataques totais (A) e da frequência de ataques de alta e baixa intensidade (B) em 04 filmagens, de 10 minutos cada ($n = 12$, para cada tratamento). * indica diferença significativa em relação ao tratamento homogêneo.

Figura 2. Comparação da porcentagem de réplicas instáveis e estáveis nos tratamentos heterogêneo (A) e homogêneo (B) ao longo dos 05 dias de agrupamento ($n = 12$, para cada tratamento). As letras comparam as porcentagens instáveis e estáveis dentro de cada grupo. Valores seguidos de mesma letra não apresentam diferença significativa.

Figura 3. Média ($\pm$ erro-padrão) da concentração de cortisol plasmático inicial (antes do agrupamento) e final (após 05 dias de agrupamento). Letras diferentes indicam significância estatística entre as fases de coleta (heterogêneo, $n = 12$; homogêneo, $n = 10$).

Figura 4. Média ($\pm$ erro-padrão) da concentração final de cortisol plasmático dos cinco animais agrupados nos tratamentos heterogêneo (A, $n = 12$) e homogêneo (B, $n = 10$). Letras diferentes indicam significância estatística entre os *ranks*.

Figura 1.

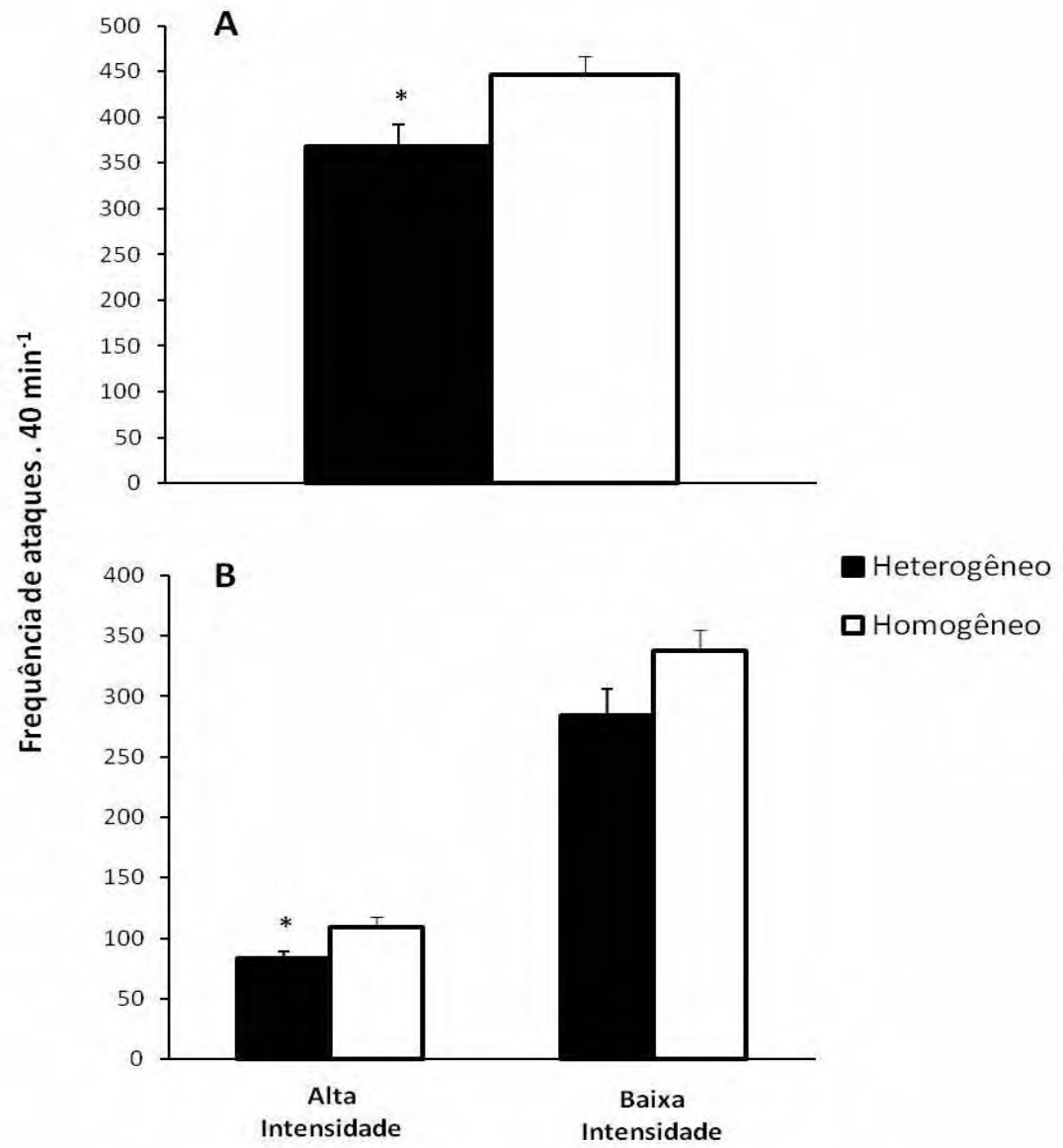


Figura 2.

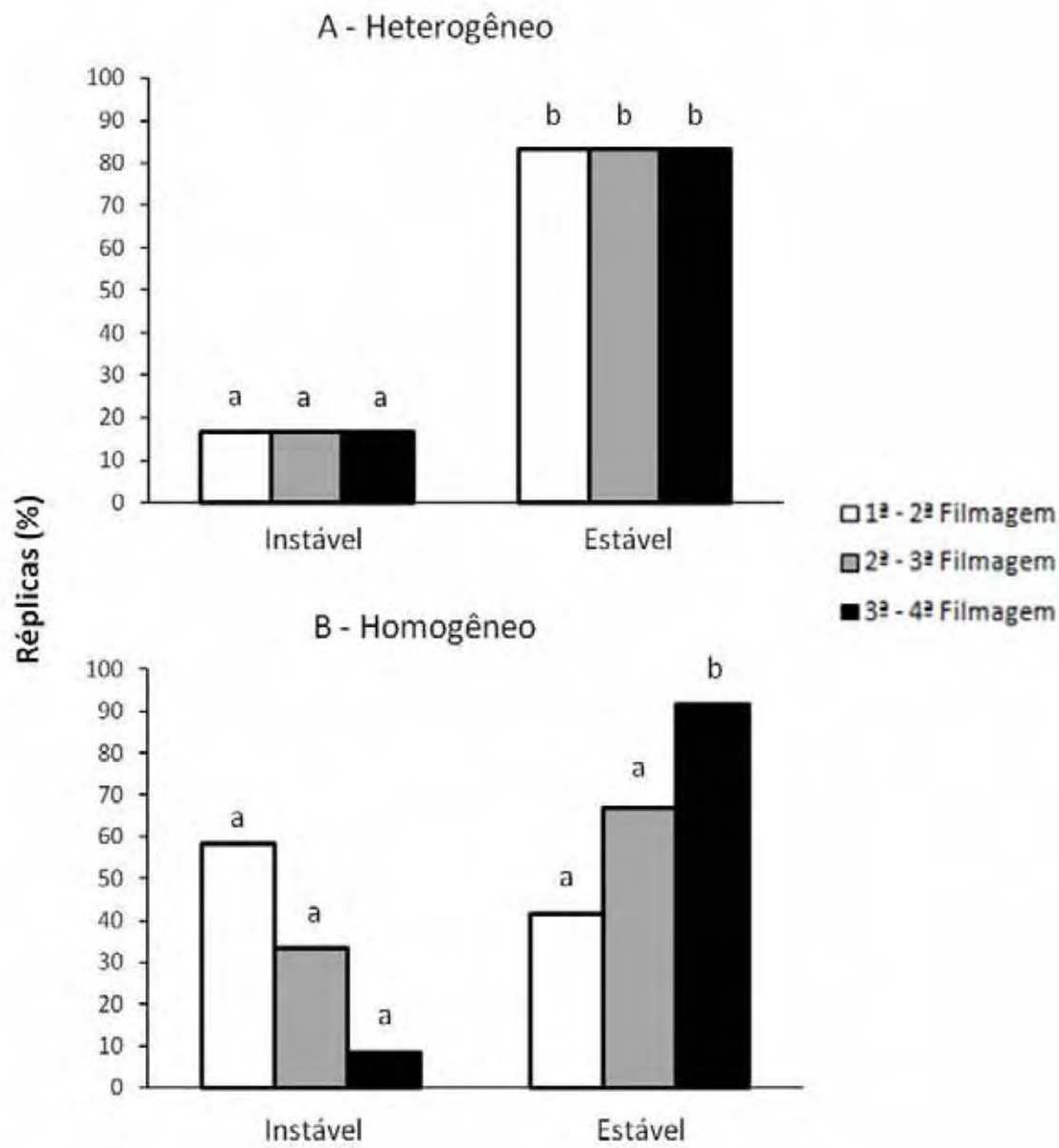


Figura 3.

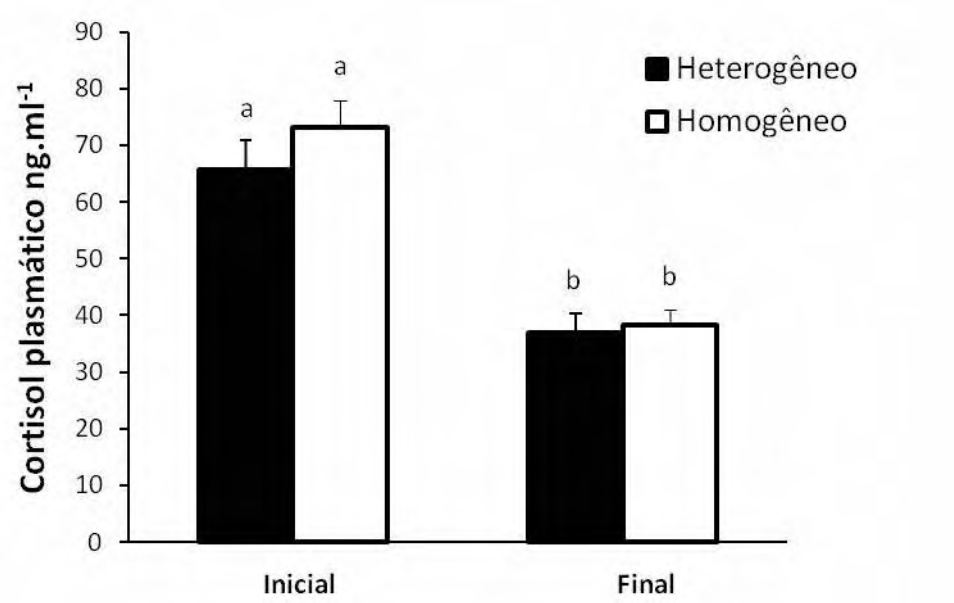


Figura 4.

